

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

Gabriel Alexander Barboza Prates

**ESTABELECIMENTO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE
AGROTÓXICOS EM ÁGUA PARA AVALIAÇÃO DA POTABILIDADE**

Santa Maria, RS

2024

Gabriel Alexsander Barboza Prates

**ESTABELECIMENTO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM
ÁGUA PARA AVALIAÇÃO DA POTABILIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso/Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella
Co-orientador: Prof. Dr. Osmar Damian Prestes

Santa Maria, RS
2024

Prates, Gabriel Alessander Barboza

Estabelecimento de método multirresíduo de agrotóxicos em água para avaliação da potabilidade / Gabriel Alessander Barboza Prates. - 2024.

103 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientador: Osmar Damian Prestes

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, RS, 2024

1. água 2. SPE 3. UHPLC-MS/MS 4. validação I. Zanella, Renato II. Damian Prestes, Osmar III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, GABRIEL ALEXSANDER BARBOZA PRATES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Gabriel Alexsander Barboza Prates

**ESTABELECIMENTO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM
ÁGUA PARA AVALIAÇÃO DA POTABILIDADE**

Dissertação apresentada ao Curso/Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2024

Prof. Dr. Renato Zanella (Orientador)

Dra. Lenise Guimarães de Oliveira (FURG)

Prof. Dr. Filipe Fagan Donato (UFSM)

Santa Maria, RS

2024

DEDICATÓRIA

Desejo que este projeto e título conquistados, possam servir de inspiração para minhas sobrinhas e sobrinhos. Não deixem de batalhar por seus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Dr. Renato Zanella pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade de fazer parte da história do LARP-UFSM.

Agradeço aos Professores Drs. Osmar Prestes, Martha Adaime e Carla Sirtori, pelos valiosos ensinamentos, e orientações ao longo deste percurso.

Agradeço a equipe LARP, que na execução de um trabalho de excelência, garante a manutenção das atividades de pesquisa e desenvolvimento da ciência.

Agradeço aos Professores Drs. Lenise Guimarães de Oliveira e Filipe Fagan Donato pela disposição e auxílio durante a defesa e pelas considerações no desenvolvimento da escrita desse trabalho.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da UFSM que auxiliaram na minha formação acadêmica e aos secretários do PPGQ, Ademir e Miguel pela atenção e dedicação.

Agradeço aos amigos Diogo Marchesan, Dylan Hoffman, Igor de Souza e José Dilson pelo companheirismo e apoio inestimáveis durante o desenvolvimento deste trabalho. Vocês são pessoas incríveis que, em pouco tempo de convívio, se tornaram pilares essenciais em meu cotidiano.

Agradeço aos amigos José Fernando e Flávia pelas conversas acalentadoras e por sua amizade. Em grandes momentos de tensão, até mesmo uma conversa sobre um assunto banal, tem o poder de acalmar o espírito do aflito.

Agradeço à minha mãezinha, Marlise Kautzmann, por toda a sua dedicação comigo e com meus irmãos. Minha mãe me ensinou a nunca abaixar a cabeça, me ensinou que o esforço e o trabalho duro sempre compensam e que mesmo as falhas são um grande aprendizado. Obrigado mãezinha por puxar minha orelha e me incentivar a estudar, mesmo quando eu não via a importância disso.

Agradeço aos meus irmãos pelo incentivo de sempre estudar, vocês me mostraram a importância que a família, amizades verdadeiras e o amor incondicional têm no desenvolvimento de um ser humano, espero ser para seus filhos, ao menos metade do que vocês foram para mim.

Agradeço aos amigos Guilherme Balem (Poter), Mateus Bueno (Nelore) e William Backes (Pere), por todos esses anos de amizade, por todo seu companheirismo, por estarem presentes nos momentos difíceis, por realmente, desejarem meu sucesso e festejarem minhas conquistas como se fossem as suas próprias. Vocês são mais que amigos, vocês são meus irmãos.

Agradeço profundamente à minha amada Giséle Prado da Rosa. Assim que você entrou em minha vida, tudo ao meu redor se tornou mais colorido, desde 2016 você está comigo nos momentos de alegria e de tristeza. Você, sendo uma das mulheres mais forte que eu conheço, me ensinou também a ter força para superar obstáculos que antes pareciam intransponíveis. Você, por quem eu tenho tanta admiração, carinho e respeito, é a minha musa inspiradora. É por você que eu batalho todos os dias. Te amo infinitamente.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Maria pelas oportunidades e pelo ensino gratuito e de qualidade.

Agradeço aos órgãos de fomento pelo investimento em pesquisa e desenvolvimento. É através desse apoio que podemos construir um futuro mais próspero e sustentável para todos.

Agradeço às adversidades, que tanto me ensinaram durante esta jornada.

Agradeço a todos aqueles que cruzaram por meu caminho, sem a existência de cada um de vocês, eu não seria quem eu sou hoje, e a execução deste trabalho e as experiências obtidas pelo caminho, não teriam sido as mesmas.

EPÍGRAFE

“A coragem não é apenas não se sentir assustado, sabe. É estar assustado, mas mesmo assim fazer o que tem que ser feito.” – O terceiro Doutor.

(Doctor Who, 10ª temporada, arco: O planeta dos Daleks)

RESUMO

ESTABELECIMENTO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA PARA AVALIAÇÃO DA POTABILIDADE

AUTOR: Gabriel Alexsander Barboza Prates

ORIENTADOR: Prof. Dr. Renato Zanella

A água é um recurso essencial para a vida, desempenhando um papel fundamental no controle da temperatura dos organismos, na dissolução de substâncias essenciais e na facilitação de processos fisiológicos e bioquímicos, como o transporte de nutrientes e as reações metabólicas. Impulsionado pela necessidade de atender à crescente demanda global por alimentos, os agrotóxicos são amplamente utilizados na agricultura moderna. No entanto, o uso de agrotóxicos traz consigo riscos significativos para a saúde humana e o ambiente. Esses produtos químicos podem contaminar não apenas os solos, mas também a atmosfera, as águas superficiais e subterrâneas, assim como os alimentos. Essa contaminação afeta negativamente organismos terrestres e aquáticos, aumentando o risco de intoxicação humana e ocupacional. Como medida de segurança para a população, os governos estabelecem parâmetros de controle e vigilância da qualidade das águas, determinando valores máximos permitidos para substâncias que possam representar fonte de contaminação. Dessa forma, o presente trabalho teve como foco, estabelecer um método para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água utilizando cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS) após o preparo de amostras por extração em fase sólida (SPE). O preparo de amostras consistiu na percolação de 100 mL de amostra com pH ajustado em 6,0 por um cartucho Oasis[®] HLB 60 mg/3 mL. O condicionamento do cartucho foi efetuado com 3 mL metanol seguido por 3 mL de água ultrapura, e eluição com 2 mL de solução metanol:acetonitrila 1:1 contendo 1% (v/v) ácido acético. Os extratos foram diluídos 1:1 em fase móvel e analisado por UHPLC-MS/MS com fonte de ionização por eletronebulização (ESI). Para a separação cromatográfica empregou-se uma coluna Acquity BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 µm) com fase móvel composta por (A) H₂O:metanol 98:2 (v/v) e (B) metanol:H₂O 98:2 (v/v), ambas contendo 0,1% (v/v) ácido fórmico e formiato de amônio a 5 mmol L⁻¹. Os resultados de exatidão e precisão foram satisfatórios para 51 compostos, com limite de quantificação para a maioria dos compostos de 0,02 µg L⁻¹. O método foi aplicado em 31 amostras de água coletadas em diferentes municípios do estado do Rio Grande do Sul. Com base nos resultados obtidos, o método proposto se mostrou adequado para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em água para consumo humano e pode ser aplicado em análises de rotina.

Palavras-chave: água, SPE, UHPLC-MS/MS, validação.

ABSTRACT

ESTABLISHMENT OF A MULTIRESIDUE METHOD OF PESTICIDES IN WATER TO ASSESS THE POTABILITY

AUTHOR: Gabriel Alexsander Barboza Prates

ADVISOR: Prof. Dr. Renato Zanella

Water is an essential resource for life, playing a fundamental role in controlling organism temperature, dissolving essential substances, and facilitating physiological and biochemical processes such as nutrient transportation and metabolic reactions. Driven by the need to meet the growing global demand for food, pesticides are widely used in modern agriculture. However, pesticide use carries significant risks to human health and the environment. These chemicals can contaminate not only soils but also the atmosphere, surface waters, groundwater, and even food. This contamination negatively affects terrestrial and aquatic organisms, increasing the risk of human and occupational poisoning. As a safety measure for the population, governments establish parameters for controlling and monitoring water quality, determining maximum permissible values for substances that may pose contamination risks. Thus, the present study aimed to establish a method for determining pesticide residues in water using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) after the sample preparation by solid-phase extraction (SPE). Sample preparation involved the percolation of 100 mL of sample adjusted to pH 6.0, through the Oasis® HLB 60 mg/3 mL cartridge. The cartridge conditioning was performed with 3 mL methanol followed by 3 mL of ultrapure water, and elution with 2 mL of methanol:acetonitrile 1:1 containing 1% (v/v) acetic acid. The extracts were diluted 1:1 with mobile phase and analyzed by UHPLC-MS/MS using electrospray ionization (ESI). For the chromatographic separation an Acquity BEH C18 column (50 x 2.1 mm, 1.7 μm) was used with a mobile phase composed of (A) H₂O:methanol 98:2 (v/v) and (B) methanol:H₂O 98:2 (v/v), both containing 0.1% (v/v) formic acid and ammonium formate at 5 mmol L⁻¹. The accuracy and precision results were satisfactory for 51 compounds, with a limit of quantification for most compounds of 0.02 $\mu\text{g L}^{-1}$. The method was applied to 31 water samples collected in the state of Rio Grande do Sul. Based on the obtained results, the proposed method proved suitable for the multi-residue determination of pesticides in water for human consumption and can be applied in routine analyses.

Keywords: Water, SPE, UHPLC-MS/MS, validation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Figura 1 – Mapa do Brasil, divisão política	24
Figura 2 – Comportamento e destino ambiental dos agrotóxicos	28
Figura 3 – Sequência analítica.....	34
Figura 4 – Cartucho de SPE construído em corpo de seringa	36
Figura 5 – Procedimentos de extração em fase sólida	38
Figura 6 – Configuração típica de um sistema de massas do tipo triplo quadrupolo....	47
Figura 7 – Sistema de filtração das amostras	60
Figura 8 – Sistema de SPE utilizado no desenvolvimento do trabalho	61
Figura 9 – Sistema UHPLC-MS/MS Xevo-TQ (Waters).....	67
Figura 10 – Cromatograma de íons totais.....	72
Figura 11 – Resultados de recuperação de compostos para o teste dos cartuchos ...	73
Figura 12 – Resultados de recuperação de compostos para o teste de pH dos cartuchos.....	74
Figura 13 – Resultados de recuperação dos compostos para o teste de volume de eluição.....	75
Figura 14 – Esquemática do método aplicado	76
Figura 15 – Cromatograma de íons totais para atrazina no branco, na fortificação 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para a amostra 12.....	77
Figura 16 – Curvas analíticas para os analitos atrazina, clorpirifós e triciclazol.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação de toxicidade de compostos	27
Tabela 2 – Padrão de potabilidade para agrotóxicos e metabólitos em água que representem risco à saúde	29
Tabela 3 – Aplicações recentes de SPE em amostras de água	39
Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.....	53
Tabela 5 – Gradiente da fase móvel.....	59
Tabela 6 – Ensaio realizados para a otimização do preparo de amostras.	63
Tabela 7 – Tempo de retenção (t_R), modo de ionização, energia do cone (CV), Ion Precursor, Íons produto e energias de colisão (CE) para os analitos.	68
Tabela 8 – Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.....	79
Tabela 10 – Concentrações de agrotóxicos encontradas nas amostras analisadas....	85

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Equação da reta.....	64
Equação 2 – Recuperação	65
Equação 3 - Desvio padrão relativo.....	65
Equação 4 - Limite de detecção (LOD).....	65

LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS

2,4-D	Ácido diclorofenoxiacético
a	Coeficiente angular
ACN	Acetonitrila
API	<i>Atmospheric pressure ionization</i> , ionização à pressão atmosférica
b	Coeficiente linear
C18	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18, octadecilsilano
C8	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C8, octilsilano
CE	<i>Collision Energy</i> , energia de colisão
CTS	Curva de trabalho no solvente
DAD	<i>Diode array detection</i> , detecção por arranjo de diodos
DQ	Departamento de Química
ECD	<i>Electron capture detector</i> , detector por captura de elétrons
EI	<i>Electron ionization</i> , ionização por elétrons
ESI	<i>Electrospray ionization</i> , Ionização por eletronebulização
eV	Elétrons volt
FAO	<i>Food and agriculture organization</i> , organização das nações unidas para alimentação e agricultura
GC	<i>Gas chromatography</i> , Cromatografia Gasosa
GC-MS	<i>Gas chromatography coupled to mass spectrometry</i> , cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GC-MS/MS	<i>Gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry</i> , Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série
GHS	<i>Globally harmonized system</i> , Sistema globalmente harmonizado
HLB	<i>Hydrophilic-lipophilic-balanced</i> , Equilíbrio hidrofílico-lipofílico
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> , Cromatografia líquida de alta eficiência
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LARP	Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas
LC	<i>Liquid chromatography</i> , cromatografia líquida

LC-MS	<i>Liquid chromatography coupled to mass spectrometry,</i> cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LC-MS/MS	<i>Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry,</i> Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LOD	<i>Limit of detection,</i> limite de detecção
LOQ	<i>Limit of quantification,</i> limite de quantificação
MeOH	Metanol
RSD	<i>Relative standard deviation,</i> desvio padrão relativo
SD	Desvio padrão, do inglês <i>standard deviation</i>
t _R	Tempo de retenção
UHPLC	<i>Ultra-high performance liquid chromatography,</i> cromatografia líquida de ultra-alta eficiência
VMP	Valores máximos permitidos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1 ÁGUA.....	22
3.2 AGRICULTURA NO BRASIL	23
3.3 AGROTÓXICOS	25
3.4 CONTAMINAÇÃO.....	27
3.5 LEGISLAÇÃO	29
3.6 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	33
3.6.1 Preparo de amostras.....	34
3.6.2 SPE	35
3.6.3 Aplicações recentes na análise de resíduos de agrotóxicos em água por SPE.....	38
3.7 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	43
3.7.1 Cromatografia líquida de alta eficiência	43
3.7.2 Espectrometria de massas em série (acoplada à cromatografia líquida) ..	45
3.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS	48
4. MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 INSTRUMENTAÇÃO	51
4.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS.....	51
4.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS.....	52
4.4 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE	58
4.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS	58

4.6	SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA	58
4.6.1	Escolha da fase móvel	58
4.6.2	Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS	59
4.7	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	60
4.8	ESCOLHA DO SORVENTE E FAIXA DE PH PARA A ETAPA DE CONCENTRAÇÃO	61
4.9	ESCOLHA DO VOLUME DE ELUIÇÃO DAS AMOSTRAS	62
4.10	VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA	64
4.10.1	Seletividade.....	64
4.10.2	Curva analítica e linearidade	64
4.10.3	Exatidão e precisão	64
4.10.4	Limites de detecção e de quantificação	65
4.11	APLICAÇÃO DO MÉTODO	66
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	67
5.1	CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS EMPREGADO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA	67
5.2	ESCOLHA DO CARTUCHO DE SPE	72
5.3	ESCOLHA DO pH DA AMOSTRA	73
5.4	ESCOLHA DO VOLUME DE ELUIÇÃO.....	75
5.5	VALIDAÇÃO DO MÉTODO	76
5.5.1	Seletividade	76
5.5.2	Linearidade	77
5.5.3	Exatidão, precisão e precisão intermediária.....	78
5.5.4	Limites de detecção e de quantificação.....	83

5.6 APLICAÇÃO DO MÉTODO.....	84
6. CONCLUSÕES.....	89
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	90
REFERÊNCIAS.....	91
ANEXO A - TABELA COMPLETA DAS CONCENTRAÇÕES DE AGROTÓXICOS ENCONTRADAS NAS AMOSTRAS.....	98

1. INTRODUÇÃO

A água é uma das substâncias puras naturais mais cruciais da crosta terrestre, desempenhando um papel fundamental nos processos vitais e físico-químicos. Nas formas líquida e sólida, ela abrange mais de dois terços da superfície do nosso planeta, enquanto na forma gasosa, constitui parte essencial da atmosfera, encontrando-se presente em todos os lugares (REICHARDT *et al.*, 2016). Segundo a Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA, 2022), estima-se que, de toda a água existente no mundo, 97,5% é salgada, portanto, não adequada ao consumo, seja este direto ou para uso em atividades agrícolas. O restante, 2,5%, compreende a parcela de água doce, deste total, 69% é considerada de difícil acesso, pois compõe as geleiras, enquanto 30% representam as águas subterrâneas e apenas 1% são águas superficiais de fácil acesso, como rios e lagos.

No cenário nacional, é possível definir com clareza os setores de utilização dos recursos hídricos nacionais. De acordo com dados disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) no ano de 2020, o setor econômico que mais consome água no país é a agropecuária. Somente para o cultivo do solo, considerando tanto a agricultura irrigada quanto a de sequeiro, o consumo médio de água para esta atividade é de cerca de 10 mil m³ por segundo. Onde, 92,5% é proveniente do ciclo natural da água, e o restante, 7,5% equivale à irrigação por meio da captação de mananciais superficiais e subterrâneos (IBGE, 2020).

A relevância do agronegócio para o Brasil é inquestionável, conforme evidenciam os dados fornecidos pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – CEPEA-Esalq/USP. No ano de 2023, o agronegócio desempenhou um papel significativo, representando cerca de 24% do Produto Interno Bruto (PIB) do país. Essa expressiva contribuição destaca não apenas a importância econômica do setor, mas também sua influência vital no panorama nacional, abrangendo desde a produção agropecuária até a cadeia logística e comercialização de produtos agrícolas. Este desempenho robusto reafirma o agronegócio como um pilar fundamental para a estabilidade e crescimento econômico nacional (CEPEA, 2024). Na estimativa de dezembro de 2023, a safra nacional de cereais, leguminosas e oleaginosas alcançou

315,4 milhões de toneladas, contando com área plantada de 77,8 milhões de hectares (IBGE, 2023).

Para manter a produção nacional, o setor do agronegócio faz uso de sementes transgênicas e insumos químicos, incluindo fertilizantes e agrotóxicos. O extenso território dedicado ao plantio no Brasil e o clima favorável, fizeram com que o país assumisse a posição de maior consumidor global de agrotóxicos (PIGNATI et al., 2017), chegando a ultrapassar a marca de 300 mil toneladas de produtos comerciais por ano (EMBRAPA, 2021). A implementação da Política da Revolução Verde, a adoção de cultivos transgênicos, o aumento de "pragas" nas lavouras, concessões de créditos agrícolas subsidiados e a isenção de tributos fiscais são fatores que contribuem para esse aumento no uso de agrotóxicos (PIGNATI et al., 2017).

Embora o crescimento no uso de agrotóxicos no Brasil tenha conferido uma vantagem competitiva, a frágil regulação, que persistiu por um longo período, resultou em impactos ambientais e humanos que ainda estão sendo revelados. A utilização do ingrediente ativo clordano, por exemplo, proporcionou ganhos de produtividade, mas a um custo elevado, aumentando a probabilidade de incidência de câncer de mama e próstata em indivíduos expostos, um problema agravado pela sua persistência no solo. Este cenário destaca a necessidade premente de abordagens regulatórias mais robustas e sustentáveis para mitigar os riscos associados ao uso indiscriminado de agrotóxicos, visando proteger tanto o meio ambiente quanto a saúde humana (IPEA, 2019).

A contaminação ambiental causada por agrotóxicos decorre de uma complexa interação de processos que abrangem a retenção, transformação e transporte desses compostos. Condições topográficas, meteorológicas e práticas de manejo agrícola exercem considerável influência sobre o destino dos agrotóxicos no ambiente. A intensidade e frequência das chuvas, em particular, desempenham um papel significativo no transporte e na perda desses compostos. O escoamento superficial e a percolação da água pelo solo são diretamente afetados por esses fatores, destacando a importância de compreender e monitorar esses processos para mitigar os impactos ambientais associados ao uso de agrotóxicos (SPADOTTO, 2006).

A contaminação do ambiente aquático é motivo de ainda maior preocupação, uma vez que esse meio desempenha um papel crucial no abastecimento de água,

além de ser utilizado para fins de irrigação e servir como fonte de equilíbrio para os ecossistemas. A preservação da qualidade desse recurso é vital não apenas para a saúde dos biomas, mas também para garantir o fornecimento seguro de água para consumo humano e atividades agrícolas. Portanto, é imperativo adotar medidas eficazes de gestão e controle da contaminação desse recurso (BARSANO, 2017).

No Brasil e no estado do Rio Grande do Sul, as leis que estabelecem os Valores Máximos Permitidos (VMP) de agrotóxicos na água potável são, respectivamente, a Portaria GM/MS nº 888 de maio de 2021 e a Portaria nº 320/2014. A Portaria GM/MS nº 888 regula os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água destinada ao consumo humano, estabelecendo seu padrão de potabilidade. Por sua vez, a Portaria nº 320/2014 adiciona parâmetros específicos de agrotóxicos ao padrão de potabilidade, dentro do grupo de substâncias químicas definidas para o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no Rio Grande do Sul.

Ambas as portarias dispõem sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Essas regulamentações desempenham um papel crucial na proteção da saúde pública, assegurando a qualidade e segurança da água consumida pela população brasileira. (MS, 2021; SES/RS 2014).

Diante da complexidade da problemática, é essencial contar com metodologias que permitam a determinação precisa não apenas dos agrotóxicos, mas também de outros contaminantes presentes em soluções aquosas e corpos hídricos, garantindo a conformidade com os limites estabelecidos pela legislação. Para alcançar esse objetivo, são requeridas técnicas analíticas sensíveis e seletivas, além de equipamentos de laboratório apropriados, protocolos padronizados, manutenção e calibração rigorosas dos instrumentos, bem como profissionais capacitados para conduzir e aprimorar essas metodologias. Este aprimoramento contínuo é crucial para acompanhar a evolução de novas substâncias e garantir a constante melhoria da precisão e eficiência das análises.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O propósito central deste estudo foi desenvolver e validar um método multirresíduo destinado à determinação de agrotóxicos em água, utilizando a técnica de extração em fase sólida (SPE) para o preparo de amostra seguido da análise por cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS), visando atender às exigências de controle do parâmetro de potabilidade da água.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar distintos sorventes em cartuchos de extração em fase sólida (SPE) disponíveis comercialmente;
- Analisar a influência do pH da água na retenção dos analitos no sorvente escolhido;
- Avaliar o efeito de diferentes volumes de solvente de eluição para a remoção dos analitos nos sorventes.

Esses objetivos específicos foram delineados de maneira a abranger diferentes aspectos do método proposto, visando alcançar os parâmetros de validação propostos pelo INMETRO e a otimização dos processos de extração e análise, com o intuito de aprimorar a eficiência e sustentabilidade do método desenvolvido para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ÁGUA

A hidrosfera é formada pela presença da água nos seus estados gasoso, líquido e sólido na Terra. Os oceanos correspondem a 97,40% da totalidade de água no planeta, enquanto o restante está distribuído em diversos reservatórios de água doce na hidrosfera. A maior parte dessa água doce terrestre permanece geralmente inacessível para uso direto pela humanidade, seja retida no gelo ou localizada em aquíferos profundos. A porção disponível para uso humano inclui a água subterrânea superficial, bem como corpos d'água como lagos, reservatórios artificiais, rios e outros cursos d'água, totalizando aproximadamente 12% da água doce na hidrosfera. (BOYD, 2015)

A água é uma substância essencial, sem a qual a vida não pode subsistir. Ela constitui um componente vital nos seres vivos; os seres humanos são compostos por cerca de dois terços de água, e a maioria dos outros animais apresenta proporções iguais ou até mesmo superiores. As plantas lenhosas consistem em, no mínimo, 50% de água, enquanto o teor de água das plantas herbáceas geralmente varia entre 80 e 90%. Bactérias e outros microrganismos comumente possuem entre 90 e 95% de água. Do ponto de vista fisiológico, a água desempenha um papel crucial no controle da temperatura dos organismos. Além disso, ela age como solvente, permitindo a dissolução de gases, minerais, nutrientes orgânicos e resíduos metabólicos. Substâncias movem-se entre células e dentro dos corpos dos organismos por meio de fluidos compostos predominantemente de água. A água atua como reagente em reações bioquímicas, e sua presença é essencial para as funções excretoras (BOYD, 2015).

Desde os primórdios, as comunidades humanas se estabeleceram próximas a fontes confiáveis de água, como lagos e rios, dada a importância crucial desse recurso. Esse vínculo ancestral evidencia como a água não apenas sustenta a vida, mas também molda a trajetória das civilizações. Os assentamentos humanos primitivos floresceram em regiões com acesso garantido à água, que servia não apenas para as necessidades diárias, mas também como elemento essencial para a produção de alimentos. Mesmo nos dias atuais, o crescimento populacional de uma

região continua intrinsecamente ligado à disponibilidade de água. As sociedades contemporâneas, ao buscarem garantir uma distribuição equitativa e sustentável desse recurso vital, reconhecem a água não apenas como um elemento essencial para as atividades diárias, mas também como o alicerce que possibilita a produção agrícola em larga escala (CHAMBERLAIN, 2008).

3.2 AGRICULTURA NO BRASIL.

A modernização da agricultura no cenário nacional teve seu despoite na década de 1960, sendo fundamentada na Revolução Verde, a qual consistiu de uma movimentação em escala global para favorecer a modernização da agricultura, sendo efetivada por meio da incorporação de inovações tecnológicas na produção e que teve como fonte, a utilização de sementes geneticamente modificadas, maquinários agrícolas e insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos. O propósito inicial desta movimentação, era a expansão da produção de alimentos em escala global, onde a finalidade era a garantia da segurança alimentar (CAMPAGNOLLA, *et al.* 2022).

A Revolução Verde desempenhou um papel crucial no desenvolvimento das cadeias agroalimentares, gerando empregos em diversos setores da economia e impulsionando a industrialização de alimentos, tornando-os mais acessíveis ao público em geral. No entanto, sua ênfase em monocultivos estritamente produtivistas resultou na simplificação excessiva dos processos produtivos. Isso levou à exclusão de pequenos agricultores descapitalizados e negligenciou o aprimoramento tecnológico dos sistemas tradicionais, que se baseiam na diversificação produtiva e na prática sustentável do uso e conservação dos recursos naturais (CAMPAGNOLLA, *et al.* 2022).

Claro que, não somente a Revolução Verde foi a responsável pelo aumento da produtividade nacional, favorecendo o país a se tornar um grande exportador de gêneros alimentícios, mas também, as suas características geográficas naturais, foram um fator determinante no sucesso da “aplicação” deste movimento (CAMPAGNOLLA, *et al.* 2022). O Brasil é um dos maiores países do mundo, contando com uma área superior a 8.510.000 km² e uma extensão territorial de mais de 4.300 km, de norte a sul, o que faz com que o país possua uma grande diversidade

geográfica e climática, possibilitando o cultivo de diferentes gêneros alimentícios em toda a sua extensão, a Figura 1 apresenta a divisão política do Brasil, possibilitando mensurar suas dimensões (IBGE, 2022).

Figura 1 – Mapa do Brasil, divisão política.



Fonte: Retirado de IBGE (2022).

A produção agrícola no Brasil desempenha um papel fundamental para a economia do país, contribuindo significativamente para o PIB e desempenhando um papel crucial na geração de empregos e no abastecimento tanto do mercado interno quanto das exportações. Quando se observam os dados, fica fácil de perceber que o país se tornou uma potência na produção de alimentos. Somente em 2021, o país exportou cerca de 130 milhões de toneladas de grãos, o que equivale a 19,3% do total exportado mundialmente, enquanto que a produção de açúcar nacional, garantiu ao país o primeiro lugar nas exportações, com cerca de 25 milhões de toneladas, representando 33,1% do total mundial (RIBEIRO, *et al.* 2022; EMBRAPA, 2018).

Atualmente, a produção agrícola no país apresenta uma certa dependência da utilização de agrotóxicos para assegurar a produtividade, garantindo, assim, o lucro e a redução dos riscos associados ao cultivo. Essa dependência se estabeleceu como uma prática comum na busca por altos rendimentos, visando enfrentar desafios como

pragas e doenças que ameaçam as colheitas. A utilização de agroquímicos tem sido vista como uma estratégia eficaz para proteger as plantações e assegurar a estabilidade econômica dos produtores. No entanto, é importante ressaltar que essa dependência levanta preocupações ambientais e de saúde pública, destacando a necessidade de equilibrar a busca por produtividade com práticas agrícolas mais sustentáveis e seguras a longo prazo (SILVEIRA, *et al.* 2020).

3.3 AGROTÓXICOS

De acordo com o Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, o termo "agrotóxico" é utilizado para definir:

“[...] 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 de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores de crescimento.”

O conceito abrange todos os compostos químicos usados na agricultura, excluindo os destinados ao uso domissanitário, pecuária, controle de plantas aquáticas, entre outros (LARINI, 1999).

Por outro lado, os termos "pesticida" e "defensivo agrícola" frequentemente são erroneamente utilizados como sinônimos para se referir aos agrotóxicos. A denominação "pesticida", amplamente difundida em língua portuguesa e inglesa, é inadequada por seu significado literal de algo com poder de destruir uma peste, ou seja, uma doença epidêmica grave (LARINI, 1999). A International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) define "pesticidas" como substâncias utilizadas para controlar, prevenir ou destruir pragas animais, vegetais ou microbiológicas (IUPAC, 2019).

O termo "defensivo" carrega o significado de algo utilizado para defender ou resistir a um ataque de um inimigo. Sua abordagem é mais preventiva, não especificando claramente o alvo do processo. Vale ressaltar que o verbo "defender" indica uma ação ou processo com um sujeito agente, diferentemente dos verbos "destruir" e "combater", que indicam ação-processo, mas são construídos com sujeito agente/causativo (LARINI, 1999).

Os agrotóxicos podem ser categorizados com base no organismo alvo de sua ação e em sua estrutura química. Quanto à sua ação específica, os agrotóxicos desempenham papéis distintos no controle de diferentes organismos. Essa classificação abrange uma diversidade de propósitos, incluindo a ação sobre insetos (Inseticida), fungos (Fungicida), plantas daninhas (Herbicida), roedores (Raticida), ácaros (Acaricida), além de agentes desfolhantes, entre outros. Já para classificar os agrotóxicos de acordo com sua estrutura, é possível considerar os heteroátomos presentes nas moléculas destes compostos, bem como grupos funcionais, neste caso, têm-se como exemplo, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides uréicos, benzonitrílicos, fluorados, entre outros. (LARINI, 1999).

Atualmente, a classificação dos agrotóxicos é realizada pelo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS, do inglês *Globally Harmonized system of Classification and Labelling of Chemicals*). Esse sistema estabelece critérios uniformes para categorizar substâncias quanto aos perigos físicos, à saúde e ao meio ambiente. Além disso, o GHS define elementos essenciais para comunicar esses riscos, incluindo requisitos detalhados para rotulagem, uso de pictogramas e elaboração de fichas de segurança. O propósito principal é garantir uma abordagem consistente e global na comunicação dos perigos associados aos produtos químicos. Sob esse sistema de classificação, os agrotóxicos são agrupados em cinco categorias distintas, levando em consideração as vias de contaminação, associando uma cor específica a cada categoria, conforme indicado na Tabela 1 (INCA, 2022; UNITED UNION, 2021).

O contato e a contaminação por agrotóxicos podem se dar por: via cutânea, respiratória, ou por meio de ingestão. Muitos dos princípios ativos utilizados atualmente no mundo possuem efeitos carcinogênicos, teratogênicos, bem como efeitos locais e sistêmicos, em todos os casos, podendo levar à morte do indivíduo

contaminado, tanto em aspectos de contaminação crônica quanto aguda (SALIMOV, 2021).

Tabela 1 – Classificação de toxicidade de compostos

CATEGORIA	TOXICIDADE	COR DA FAIXA
1	EXTREMAMENTE TÓXICO	Red
2	ALTAMENTE TÓXICO	Red
3	MODERADAMENTE TÓXICO	Yellow
4	POUCO TÓXICO	Blue
5	IMPROVÁVEL DE CAUSAR DANO AGUDO	Blue
NÃO CLASSIFICADO	NÃO CLASSIFICADO	Green

Fonte: Adaptado de INCA, 2022.

Somente no ano de 2022, foram registrados um total de 800.652 toneladas de ingredientes ativos vendidos classificados como “Químicos e Bioquímicos”, representando um aumento de cerca de 11% ao ano anterior. Dentre os 3.749 produtos formulados registrados, apenas 2211 declararam dados de comercialização, enquanto os outros 1.538 não foram movimentados, indicando que nem todos os produtos registrados são de fato comercializados. Os dez ingredientes ativos mais vendidos no país, em toneladas, foram: glifosato e seus sais, 2,4-D, atrazina, mancozebe, acefato, clorotalonil, dibrometo de diquat, glufosinato – sal de amônio, clorpirifós e metomil (IBAMA, 2022).

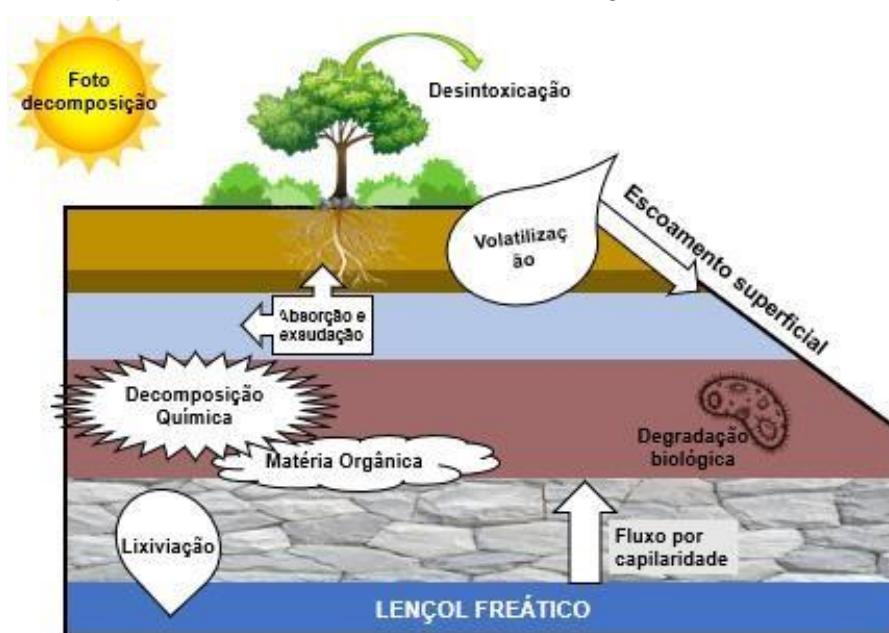
3.4 CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

O uso de agrotóxicos, embora essencial para proteger as culturas agrícolas contra pragas e doenças, apresenta riscos significativos para a saúde humana e o ambiente. O uso inadequado dessas substâncias pode resultar na contaminação de solos, atmosfera, águas superficiais e subterrâneas, bem como nos alimentos. Essa contaminação tem impactos negativos em organismos terrestres e aquáticos, levando à intoxicação humana através do consumo de água e alimentos contaminados, e aumentando o risco de intoxicação ocupacional para trabalhadores rurais. Além dos perigos diretos para os seres humanos, a introdução de agrotóxicos no ambiente pode desencadear efeitos indesejáveis, como a alteração da dinâmica bioquímica natural e

mudanças no funcionamento dos ecossistemas afetados (SPADOTTO, 2006; SALIMOV, 2021).

De acordo com Spadotto (2006), a contaminação do meio ambiente por meio de agrotóxicos ocorre por meio de uma série de processos, os quais envolvem a retenção (sorção, absorção), transformação (degradação química e biológica), e o transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carregamento superficial) destes compostos, onde condições topográficas, meteorológicas e as práticas de manejo agrícola tem forte influência sobre o destino dos agrotóxicos no ambiente, onde, a intensidade e frequência das chuvas influencia diretamente no transporte e na perda de agrotóxicos através do escoamento superficial e da percolação da água através do solo. Esses processos também auxiliam na formação de novos compostos, com toxicidades, normalmente, divergentes dos compostos originais. (SPADOTTO, 2006; TAN *et al.* 2020). Na Figura 2 é possível observar o comportamento e destino ambiental dos agrotóxicos.

Figura 2 – Comportamento e destino ambiental dos agrotóxicos



Fonte: Adaptado de SPADOTTO, 2006.

Ao considerar a toxicidade dos agrotóxicos e seus impactos ambientais, fica evidente a importância de determinar e quantificar a presença dessas substâncias em corpos d'água. Esses compostos não apenas apresentam riscos à saúde humana, mas também afetam a fauna e a flora silvestres, desencadeando efeitos de

bioacumulação e biomagnificação na natureza, impactando diversos níveis da cadeia trófica. A análise de amostras biológicas e ambientais é crucial para estabelecer uma rede de conscientização e mitigação dos danos causados por esses compostos no meio ambiente (SPADOTTO, 2006; GANAIE, *et al.* 2020; IBRAHIM, *et al.* 2023).

3.5 LEGISLAÇÃO

No que diz respeito ao controle da contaminação da água destinada ao consumo humano por meio de agrotóxicos, destaca-se, em âmbito federal, a Portaria GM/MS nº 888, de maio de 2021. Esta, “[...] dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade [...]”. E ainda, estabelece os Valores Máximos Permitidos (VMP) para uma série de compostos orgânicos, o que inclui os agrotóxicos. Já em âmbito estadual, a portaria nº 320 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”. As substâncias agrotóxicas regulamentadas em ambas portarias para definir o padrão de potabilidade da água estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Padrão de potabilidade para agrotóxicos e metabólitos em água que representem risco à saúde.

(continua)

PARÂMETRO	CAS	VMP 888 (µg/L)	VMP 320 (µg/L)
2.4 D	94-75-7	30	-
Abamectina	71751-41-2	-	12
Acefato + Metamidofós	30560-19-1 (acefato)	7	4,8
	10265-92-6 (metamidofós)		
Alacloro	15972-60-8	20	-
Aldicarbe + Aldicarbesulfona + Aldicarbesulfóxido	116-06-3 (aldicarbe)	10	-
	1646-88-4 (aldicarbesulfona)		
	1646-87-3 (aldicarbe sulfóxido)		
Aldrin + Dieldrin	309-00-2 (aldrin)	0,03	-
	60-57-1 (dieldrin)		
Ametrina	0834-12-8	60	-

Tabela 2 – Padrão de potabilidade para agrotóxicos e metabólitos em água que representem risco à saúde.

(continuação)

PARÂMETRO	CAS	VMP 888 (µg/L)	VMP 320 (µg/L)
Atrazina + S-Clorotriazinas	1912-24-9 (Atrazina)		
(Deetil-Atrazina - Dea.	6190-65-4 (Dea)	2,0	-
Deisopropil - Atrazina - Dia e	1007-28-9 (Dia)		
Diaminoclorotriazina - Dact)	3397-62-4 (Dact)		
Bifentrina	82657-04-03	-	120
Carbaril	63-25-2	-	18
Carbendazim	10605-21-7	120	-
Carbofurano	1563-66-2	7	-
Cianamida	0420-04-02	-	12
Cipermetrina	52315-07-08	-	300
Ciproconazol	94361-06-05	30	60
Cletodim	99129-21-2	-	60
Clordano	5103-74-2	0,2	-
Clorimurrom-etílico	90982-32-4	-	120
Clorotalonil	1897-45-6	45	180
Clorpirifós + clorpirifós-oxon	2921-88-2 (clorpirifós) 5598-15-2 (clorpirifósoxon)	30,0	-
Cresoxim-metil	143390-89-0	-	2400
Diazinona	333-41-5	-	12
DDT+DDD+DDE	50-29-3 (p,p'-DDT) 72-54-8 (p,p'-DDD) 72-55-9 (p,p'-DDE)	1	-
Difenoconazol	119446-68-3	30	60
Diflubenzuron	35367-38-5	-	120
Dimetoato + ometoato	60-51-5 (Dimetoato) 1113-02-6 (Ometoato)	1,2	12*
Ditianona	3347-22-6	-	60
Diuron	330-54-1	20	-
Epoxiconazol	135319-73-2	60	18
Etoxisulfuron	126801-58-9	-	240

Tabela 2 – Padrão de potabilidade para agrotóxicos e metabólitos em água que representem risco à saúde.

(continuação)

PARÂMETRO	CAS	VMP 888 (µg/L)	VMP 320 (µg/L)
Fenitrotiona	122-14-5	-	30
Fenoxaprop-p-etílico	71283-80-2	-	15
Fentiona	55-38-9	-	42
Fipronil	120068-37-3	1,2	1,2
Flutriafol	76674-21-0	30	60
Folpet	0133-07-03	-	600
Fomesafem	72178-02-0	-	18
Gama-cialotrina	76703-62-3	-	6
Glifosato + AMPA	1071-83-6 (glifosato)	500	-
	1066-51-9 (AMPA)		
Hidrazida maleica	123-33-1	-	1800
Hidroxi-Atrazina	2163-68-0	120,0	-
Imazetapir	81335-77-5	-	1500
Imidacloprido	138261-41-3	-	300
Indoxacarbe	173584-44-6	-	60
Iodosulfurom-metílico	144550-06-1	-	180
Ioxinil octanoato	3861-47-0	-	30
Lambda-cialotrina	91465-08-06	-	30
Lindano (gama HCH)	58-89-9	2	-
Malationa	121-75-5	60	-
Mancozebe + ETU	8018-01-7 (Mancozebe)	8	-
	96-45-7 (ETU)		
Mesotriona	104206-82-8	-	30
Metalaxil-m (Mefenoxam)	70630-17-0	-	480
Metamitrona	41394-05-02	-	150
Metidationa	950-37-8	-	6
Metiram + Mancozebe (expresso em CS2)	9006-42-2 (metiram)	-	180
	8018-01-7 (mancozebe)		
Metolacloro	51218-45-2	10	-
Metribuzim	21087-64-9	25	-

Tabela 2 – Padrão de potabilidade para agrotóxicos e metabólitos em água que representem risco à saúde.

(conclusão)

PARÂMETRO	CAS	VMP 888 (µg/L)	VMP 320 (µg/L)
Metsulfuron metil	74223-64-6	-	60
Molinato	2212-67-1	6	-
Paraquate	4685-14-7	13	-
Picoxistrobina	117428-22-5	-	258
Picloram	01/02/1918	60	-
Profenofós	41198-08-07	0,3	-
Propargito	2312-35-8	30	-
Protioconazol + ProticonazolDestio	178928-70-6 (Protioconazol) 120983-64-4 (ProticonazolDestio)	3	-
Simazina	122-34-9	2	-
Tebuconazol	107534-96-3	180	-
Tembotriona	335104-84-2	-	2,4
Terbufós	13071-79-9	1,2	-
Tetraconazol	112281-77-3	-	30
Tiametoxam	153719-23-4	36	120
Tiodicarbe	59669-26-0	90	180
Tiofanato-metílico + Carbendazim + Benomil (expresso em carbendazim)	23564-05-8 (tiofanato-metílico) 10605-21-7 (carbendazim) 17804-35-2 (benomil)	-	120
Tiram	137-26-8	6	-
Triciclazol	41814-78-2	-	180
Trifluralina	1582-09-08	20	-

*Refere-se somente a Dimetoato

Fonte: Adaptado de SES/RS, 2014 e MS, 2021.

As regulamentações implementadas pelos órgãos governamentais desempenham um papel fundamental na salvaguarda da saúde pública, garantindo a qualidade e segurança da água consumida pela população brasileira (CÍCERO, 2021).

3.6 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

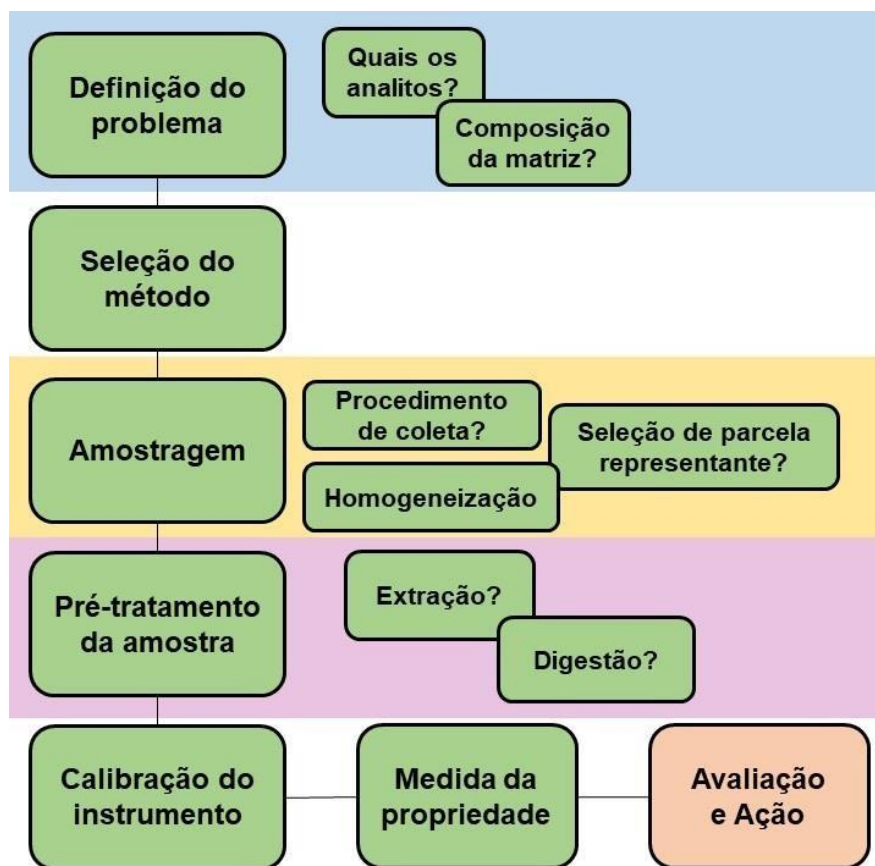
A intervenção humana no meio ambiente ao longo do tempo resultou na dispersão de diversos contaminantes, afetando significativamente a qualidade desses recursos naturais tão fundamentais para a manutenção da vida. A contaminação da água é caracterizada por alterações em suas propriedades naturais devido a poluentes antropogênicos, levando-a a se tornar imprópria para o consumo humano ou incapaz de sustentar os ecossistemas naturais (BOYD, 2015; CHAMBERLAIN, 2008; MOJIRI et al., 2020).

Com o crescimento da população mundial, é imperativo intensificar a produção de alimentos para assegurar a segurança alimentar das comunidades. O uso de agrotóxicos emerge como uma das estratégias mais adotadas para potencializar o rendimento das plantações; no entanto, seu uso indiscriminado pode ocasionar a contaminação dos recursos naturais, resultando em impactos prejudiciais à saúde humana ao longo da cadeia alimentar. Portanto, é crucial buscar métodos de análise que não apenas avaliem os níveis de contaminação, mas também identifiquem as espécies de compostos que afetam o ambiente (SOUSA, *et al.* 2021).

Diante dessa necessidade, a pesquisa e implementação de técnicas analíticas avançadas tornam-se indispensáveis. Essas abordagens permitirão uma avaliação mais precisa e abrangente dos agrotóxicos presentes no ambiente, contribuindo para a compreensão dos riscos associados à sua presença. Além disso, a identificação específica das espécies de compostos químicos facilitará a adoção de medidas mais eficazes e direcionadas para minimizar os impactos negativos na saúde humana e no ecossistema como um todo. Essa abordagem mais refinada é essencial para promover a segurança alimentar de maneira sustentável e preservar a qualidade dos recursos naturais (YUAN, *et al.* 2020; SOUSA, *et al.* 2021).

Uma análise química quantitativa típica envolve uma série de passos, conhecidos coletivamente como sequência analítica ou marcha analítica. Para realizar a análise de uma amostra, seja em serviços prestados ou em pesquisas, é fundamental aderir a parâmetros específicos. Conforme destacado na Figura 3, a primeira etapa é a definição do problema, é nela que se identifica a necessidade e a motivação por trás de determinada pesquisa (SKOOG, 2014; BORGES, *et al.* 2015; KRUG, *et al.* 2019).

Figura 3 – Sequência analítica



Fonte: Adaptado de SKOOG, 2014.

3.6.1 Preparo de amostras

O preparo de amostras consiste em encontrar meios de isolar ou concentrar os analitos de uma determinada matriz, a fim de que a amostra seja convertida a uma forma adequada para que os compostos de interesse possam ser determinados facilmente. De forma ideal, a técnica de preparo de amostras deve ser rápida, barata, fácil de executar e totalmente compatível com o instrumento a ser utilizado para sua determinação. Há ainda alguns casos em que esta etapa pode ser desprezada, sendo mais comum para amostras em estado líquido ou gasoso. O preparo de amostras é uma etapa fundamental da sequência analítica e que pode afetar diretamente os resultados das análises, visto que é nesse momento em que a amostra sofre a maior intervenção por parte do analista e, portanto, contaminações e modificações na concentração dos compostos presentes na matriz são alguns dos riscos atrelados à etapa (SKOOG, 2014; BORGES, *et al.* 2015, KRUG, *et al.* 2019).

Além da metodologia de preparo de amostras escolhida ser compatível tanto com os analitos de interesse quanto com a matriz da amostra, ela também deve fundamentar-se nos princípios que regem a transferência de massa dos alvos e nas propriedades físico-químicas dos constituintes da amostra, prevendo a interação dentro do sistema matriz-analito-método. Dado que diferentes matrizes apresentam composições distintas, um método de preparo de amostras utilizado para processar uma amostra de bananas pode não ser tão eficiente para uma amostra de solo ou mesmo para outros alimentos (SKOOG, 2014).

Sendo assim, no que se refere à análise de compostos orgânicos, o preparo de amostras adequado é fundamental para que os analitos estejam disponíveis para serem detectados e quantificados pelo instrumento a ser utilizado. A etapa de preparação das amostras pode, de fato, proporcionar um considerável fator de enriquecimento dos analitos, concentrando-os a partir de concentrações muito baixas e permitindo a determinação de níveis traço de contaminação. No entanto, além disso, a totalidade do processamento das amostras também pode viabilizar a limpeza da matriz, assegurando que interferentes composicionais não causem perturbações durante a etapa de medida. Isso, por fim, garante um resultado "limpo" e confiável (SKOOG, 2014; BORGES, *et al.* 2015, KRUG, *et al.* 2019).

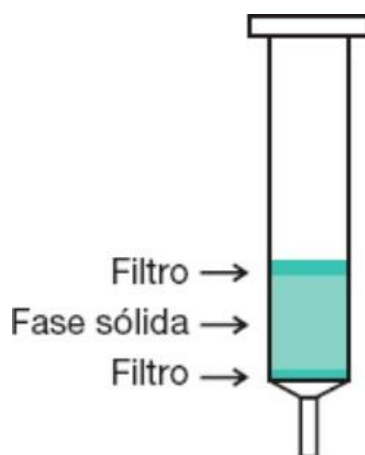
Por mais que amostras em estado líquido possuam amostragem facilitada, isto é, dispensando etapas como moagem e homogeneização excessiva, ainda assim, exigem alguns cuidados, como isolamento do contato com o ambiente. Caso uma amostra líquida seja deixada em um frasco aberto, ela está sujeita a contaminações, perda (volatilização do analito) ou concentração (volatilização da matriz/extrato) de analitos. Desta forma, é imperativo que a amostra tenha o mínimo contato possível com o ambiente e com outros materiais de forma desnecessária (SKOOG, 2014).

3.6.2 SPE

A técnica de extração em fase sólida, conhecida pelo termo em inglês "*solid phase extraction*" (SPE), é uma das técnicas mais utilizadas para o preparo de amostras em estado líquido, seja em matrizes líquidas ou em extratos obtidos a partir de amostras sólidas. Essa técnica está disponível comercialmente desde 1978, sendo comumente comercializada na forma de cartuchos descartáveis, a Figura 4 apresenta

a forma mais difundida de comercialização de sorventes para SPE. Atualmente, a SPE se tornou uma das principais metodologias para o preparo de amostras aquosas, devido à sua versatilidade de utilização. Sendo que, em uma única execução, é possível concentrar os analitos, extraí-los da matriz e ainda remover interferentes que possam estar presentes na amostra (AGILENT, 2013; BORGES, *et al.* 2015; BARCELÓ, *et al.* 2003).

Figura 4 – Cartucho de SPE construído em corpo de seringa.



Fonte: Adaptado de BORGES, *et al.* 2015

Em sua forma mais simples, a SPE emprega pequenas colunas descartáveis, as quais lembram muito as colunas cromatográficas de sílica, que são utilizadas até hoje para a separação de compostos orgânicos. Os chamados cartuchos de SPE normalmente consistem de um corpo de seringa, preenchido com um material sorvente, podendo ser polimérico ou não, e dois discos porosos, que mantêm o sorvente retido no interior do cartucho, impedindo que este seja escoado junto da amostra a ser percolada e ainda, dificultando a compactação do mesmo pelo impacto do fluxo de amostra que incide sobre o material, mantendo a uniformidade do preenchimento do cartucho. Dos cartuchos disponibilizados comercialmente, tanto a composição da fase estacionária, sua massa empacotada, quanto o formato do cartucho, variam, gerando uma elevada gama de produtos disponíveis para atender às diversas necessidades e aplicações analíticas (AGILENT, 2013; BORGES, *et al.* 2015; BARCELÓ, *et al.* 2003).

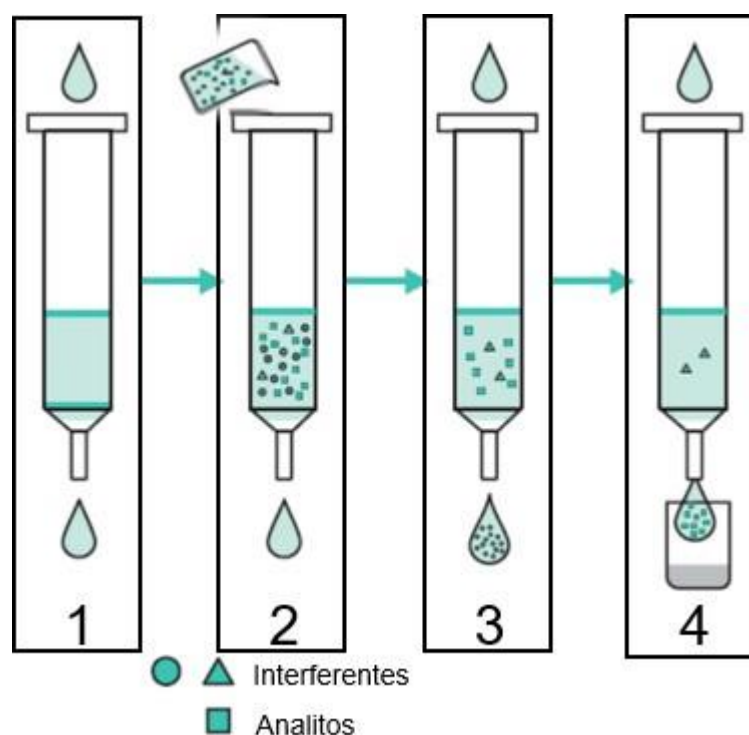
Para executar o procedimento de SPE, é indispensável considerar os parâmetros a serem adotados durante a utilização do método. A escolha da

composição e quantidade adequada de sorvente, a composição e o volume da amostra, bem como os solventes para condicionamento, eliminação de interferentes e eluição dos analitos do cartucho, devem ser avaliados criteriosamente. As interações e propriedades físico-químicas entre os analitos, o sorvente e a matriz da amostra desempenham um papel crucial nesse processo, influenciando diretamente na eficiência e seletividade da extração. Dessa forma, uma abordagem cuidadosa na seleção e otimização desses parâmetros contribui para a obtenção de resultados analíticos mais precisos e confiáveis (LANÇAS, 2004; BORGES, *et al.* 2015; BARCELÓ, *et al.* 2003).

Em sua forma mais comum de operação, a técnica de SPE envolve basicamente quatro etapas, conforme apresentado na Figura 5. (LANÇAS, 2004; BORGES, *et al.* 2015; BARCELÓ, *et al.* 2003).

- 1) Condicionamento/estabilização do sorvente: neste momento o cartucho é preparado para receber a amostra a ser percolada. Nesta etapa, uma sequência de solventes pode ser utilizada para que o equilíbrio do cartucho seja alcançado, mantendo o sorvente com parâmetros iguais ou semelhantes da amostra (composição, pH, entre outros).
- 2) Percolação da amostra: a amostra é carregada, passando integralmente pelo material sorvente, fazendo com que os analitos que interagem sejam retidos nesta fase estacionária.
- 3) Limpeza da coluna: Os interferentes presentes na matriz são removidos do cartucho. Nesse momento, é comum realizar a secagem do cartucho após a eluição dos interferentes. Em amostras de água, a remoção máxima de umidade é efetuada antes de avançar para a próxima etapa. Em alguns casos, a aplicação da SPE pode ser executada até a etapa de limpeza, neste caso, após a secagem do cartucho, ocorre a facilitação de armazenamento e transporte do material para extrações e análises futuras. Caso a estabilidade dos analitos seja garantida, esta prática se torna uma boa opção na redução dos custos de transporte e armazenamento de amostras.
- 4) Eluição dos analitos: Através do uso de um solvente apropriado, é possível realizar a eluição quantitativa dos compostos de interesse do material sorvente, permitindo sua coleta para análises.

Figura 5 – Procedimentos de extração em fase sólida.



Fonte: Adaptado de Borges, 2015.

3.6.3 Aplicações recentes na análise de resíduos de agrotóxicos em água por SPE

Na literatura é possível encontrar algumas possibilidades quanto ao preparo de amostras, sorventes, instrumentos e formas de extração em fase sólida que podem ser empregadas para a determinação de agrotóxicos em amostras de água. Na tabela 3 está evidenciado um condensado de algumas das publicações mais recentes abordando esta temática.

Tabela 3 – Aplicações recentes de SPE em amostras de água.

(continua)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Flusilazol, tebuconazol, triadimefon	Compósito magnético Fe ₃ O ₄ @PPy@MIL-53(Fe)	50 mL centrifugado a 11.000 r/min; filtragem do sobrenadante com filtro de membrana 0,22 µm; 20 mL de amostra pH 6,0 + 30 mg compósito	-	1 mL MeOH (2x); Secagem em fluxo de N ₂ a 60 °C, dissolução em 1 mL MeOH, filtrado em membrana 0,22 µm	HPLC-DAD	GANG, Zheng et al. 2024.
Acetamiprido, sulfoxaflor, flupiradifurona, ácido 6-cloronicotínico	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	200 mL pH 4,6 (ácido clorídrico)	5 mL MeOH; 5 mL Água Ultrapura	5 mL ACN 0,03% HCOOH (v/v); secagem em fluxo de N ₂ ; dissolução 1 mL 15:85, ACN: H ₂ O 0.1% HCOOH, v/v	LC-MS/MS	ŁUKASZEWICZ, 2022.

Tabela 3 – Aplicações recentes de SPE em amostras de água.

(continuação)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
2,4-D, atrazina, fenitrotiona, malationa e paration.	Supelclean™ ENVI™-18 (500 mg, 6 mL)	1L pré-filtrado em membrana de nitrocelulose 0,45 µm	5 mL ACN, 5 mL Água ultrapura	2 mL ACN (2x); Secagem em fluxo de N ₂ a 40 °C; dissolução 1 mL ACN:H ₂ O 1:1 (v/v); filtro de seringa 0,45 µm	HPLC-UV-VIS	VELKOSKA-MARKOVSKA, <i>et al.</i> 2022.
106 agrotóxicos	Oasis HLB 200mg	500 mL pré-filtrado em papel filtro de fibra de vidro 0,45 µm	6 mL MeOH, 6 mL água ultrapura	2 mL diclorometano/acetato de etila 1:1 (v/v) (3x); Secagem em fluxo de N ₂ ; dissolução em 1 mL MeOH (HPLC), 1 mL n-Hexano (GC)	HPLC-MS/MS; GC-MS/MS	LI, <i>et al.</i> 2023.
Fenpiroximato	100 mg de MIP (ácido metacrílico, dimetacrilato de etilenoglicol, α,α'-azoisobutironitrila	500 mL, pH 8 (NaOH 20%)	2 mL água ultrapura, 2 mL MeOH	2 mL MeOH/ácido acético 9:1 (v/v)	HPLC-DAD	GERAMIZADEGAN, <i>et al.</i> 2023.

Tabela 3 – Aplicações recentes de SPE em amostras de água.

(continuação)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Linurom, malationa, clorpirifos	C18	1L pré-filtrado em papel filtro de fibra de vidro 0,45 µm, acidificada a pH <1 (ácido clorídrico 4 M)	4 mL MeOH, 4 mL água ultrapura	10 mL acetato de etila; secagem fluxo de N ₂ ; dissolução 500 µL acetato de etila	GC-MS	NECIBI, <i>et al.</i> 2023.
20 agrotóxicos	Sílica mesoporosa com nanopartículas de ouro (Au/Ti50-UVM-7)	100 mL pH 6-7	6 mL MeOH, 6 mL água ultrapura	6 mL diclorometano/acetato de etila 1:1; evaporação sob fluxo de N ₂ a 30 °C; dissolução com 250 µL de acetona	GC-ECD	PELLINCER-CASTELL, <i>et al.</i> 2021.
22 agrotóxicos	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	200 mL filtragem com membrana de nitrocelulose 0,45 µm	10 mL ACN, 10 mL água ultrapura	4mL ACN 5% ácido fórmico (v/v); concentrado até 1 mL sob fluxo de nitrogênio a 40 °C; filtro de teflon 0,2 µm	LC-MS/MS	CHEN, <i>et al.</i> 2022.

Tabela 3 – Aplicações recentes de SPE em amostras de água.

(continuação)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Atrazina	200 mg carbono altamente nanoporoso derivado de polibenzoxazina à base de melamina (NPC-PBZ-m)	300 mL filtragem com membrana acetato de celulose 0,20 µm	5 mL MeOH, 10 mL MeOH/água 1:1	3 mL MeOH	Reação de Konig, espectrofotômetro UV-VIS	PRUKJAREONCHOOK, <i>et al.</i> 2022.
Atrazina, hidroxiatrazina, desetil-atrazina, desisopropil-atrazina, desetil-desisopropil atrazina, topramezona	Cleanert-PEP	300 mL, filtrado com filtro de membrana 0,45 µm	4 mL n-hexano, 6 mL MeOH, 5 mL água ultrapura	6 mL MeOH; filtro de membrana orgânico 0,22 µm.	UPLC-MS/MS	FU, <i>et al.</i> 2022.

Fonte: Autor, 2024.

3.7 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

Ao longo do tempo, foram desenvolvidas técnicas analíticas para possibilitar a determinação de quantidades cada vez menores de analitos em diversas classes de amostras. No contexto da determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras aquosas, destacam-se principalmente os ensaios cromatográficos (SKOOG, 2014; MANDAL, *et al.* 2023).

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura. A separação dos compostos se dá por meio da interação e distribuição destes com duas fases diferentes, sendo uma fase fixa, chamada de fase estacionária, e a outra, um fluido, chamado de fase móvel, o qual percola a fase estacionária. Dentre os métodos modernos de análise, a cromatografia destaca-se significativamente devido à sua eficácia na separação, identificação e quantificação das espécies químicas. Essa técnica é frequentemente empregada de maneira independente ou em combinação com outras ferramentas instrumentais de análise, como a espectrofotometria ou a espectrometria de massas (SKOOG, 2014; COLLINS, *et al.* 2006; LANÇAS, 2016).

A cromatografia moderna, frente à cromatografia tradicional, apresenta melhores separações, utilizando menor volume de amostra, sendo mais eficientes e demandando menor tempo de percolação para as amostras, ao mesmo tempo em que garante eficiência na separação de um grande número de compostos simultaneamente. Na cromatografia moderna, duas técnicas que se destacam são, a cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) e a cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) (COLLINS, *et al.* 2006; LANÇAS, 2016).

3.7.1 Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) é empregada na separação e determinação de espécies em diversos materiais, destacando-se como uma técnica crucial devido à sua capacidade de separar misturas altamente complexas. Essa capacidade é especialmente valiosa em situações que envolvem um grande número de compostos similares. Sua aplicação em laboratórios de pesquisa e serviços é considerada indispensável. A

HPLC é comumente aplicada para compostos de polaridade média a alta, de baixa volatilidade e/ou baixa estabilidade térmica (COLLINS, *et al.* 2006; LANÇAS, 2016).

O processo de percolação da fase móvel através da fase estacionária pode ocorrer de duas formas distintas, conhecidas como fase normal (NP, do inglês normal phase) e fase reversa (RP, do inglês reverse phase). Na fase normal, a fase estacionária é constituída por um material altamente polar, enquanto a fase móvel possui polaridade média ou baixa, normalmente utilizando solventes como hexano e diclorometano. Nesta fase, a eluição dos compostos ocorre com a saída primeiro dos compostos menos polares. Já na fase reversa, a fase estacionária possui baixa polaridade, sendo mais comum encontrar colunas preenchidas com octadecilsilano (C18) ou octilsilano (C8). Por outro lado, a fase móvel empregada possui elevada polaridade, podendo utilizar um ou mais solventes. Os solventes mais comuns para cromatografia líquida de fase reversa são água, metanol e acetonitrila. Em ambos os casos (NP e RP), a eluição dos compostos através da coluna pode ser efetuada de duas maneiras: eluição isocrática ou eluição por gradiente. Na eluição isocrática, a concentração da fase móvel permanece constante durante todo o processo cromatográfico, enquanto na eluição por gradiente, a concentração da fase móvel varia ao longo do tempo. Geralmente, a eluição por gradiente apresenta melhor eficiência de separação (COLLINS, *et al.* 2006; LANÇAS, 2016).

Não existe um sorvente universal para colunas cromatográficas em que seja possível separar todas as classes de compostos, neste caso, para a determinação de resíduos de agrotóxicos, a coluna cromatográfica com fase estacionária C18 é amplamente utilizada em análises de rotina e pesquisa, sendo também aplicada no desenvolvimento do presente estudo (LANÇAS, 2023).

Embora a cromatografia líquida de alta eficiência possibilite a separação de misturas extremamente complexas, por si só, ela não é capaz de proporcionar uma compreensão completa dos compostos presentes em uma mistura. Em muitos casos, se torna quase impossível diferenciar os compostos apenas pelo tempo de retenção. Quando compostos apresentam interações extremamente semelhantes entre si e, conseqüentemente, exibem o mesmo tempo de retenção, neste caso, é imperativo buscar uma forma de detecção capaz de distinguir esses compostos com base em outras propriedades, tais como fragmentações de suas estruturas, as quais tendem a ser específicas para cada composto (levando em consideração a energia utilizada em

cada caso), ou ainda, propriedades mais específicas e seletivas como a fluorescência (MANDAL, *et al.* 2023; COLLINS, *et al.* 2006).

3.7.2 Espectrometria de massas em série (acoplada à cromatografia líquida)

A espectrometria de massas (MS, do inglês *mass spectrometry*) é uma ferramenta poderosa e versátil na química analítica, permitindo obter informações sobre a identidade de um composto desconhecido. Essa técnica possibilita a determinação da massa molecular, composição elementar e até mesmo da estrutura química do composto em questão, permitindo a identificação a nível elementar ou molecular (SKOOG, 2014). Quando acoplada a técnicas cromatográficas, a espectrometria de massas se torna um instrumento extremamente poderoso na identificação de analitos nos extratos das amostras. Essa combinação proporciona simultaneamente informações como tempo de retenção, razões massa/carga e dados sobre a abundância relativa de cada espécie (SANTE, 2021).

A MS pode ser conceitualizada de forma simples: nela, um composto é ionizado, estes íons são separados a partir da razão massa/carga e, as estruturas que correspondem a cada unidade de massa/carga são registradas na forma de um espectro. São muitos os métodos de ionização e separação dos compostos disponíveis comercialmente. A exemplo, é possível mencionar a técnica de Impacto de Elétrons (EI) onde fonte de ionização bombardeia as moléculas em fase vapor com um feixe de elétrons de alta energia, o sistema então separa e registra os íons gerados de acordo com sua razão massa/carga. Esta fonte de ionização é mais comumente aplicada no interfaceamento das técnicas de espectrometria de massas com a cromatografia gasosa (SILVERSTEIN, *et al.* 2019).

Durante o desenvolvimento da técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS, do inglês *liquid chromatography coupled to mass spectrometry*), encontrou-se um obstáculo de compatibilidade entre as duas técnicas. Enquanto LC opera em pressões elevadas, a MS precisa de condições próximas ao vácuo para operar. O acoplamento entre GC e MS funcionou, pois, a vazão de fase móvel e eluentes da coluna gira em torno de 1 mL min⁻¹ em fase gasosa, enquanto que, para LC, convertendo a vazão de 1 mL min⁻¹ de líquido que percola a coluna para gás, este se transforma em cerca de 500 mL min⁻¹. Dessa forma, é evidente a

necessidade de encontrar um meio para possibilitar o interfaceamento de ambas as técnicas (LC-MS) (LANÇAS, 2019).

O interfaceamento das técnicas de LC e MS foi facilitado com o desenvolvimento de fontes de ionização que operam em pressão atmosférica (API, do inglês *atmospheric pressure ionization*). Nas fontes de ionização em pressão atmosférica, o eluente da coluna de LC é nebulizado, a qual pode ocorrer de forma pneumática, por meio da ação de um campo elétrico, ou por uma combinação de ambos. A Figura 6 mostra um esquema geral da interface entre as técnicas em questão. Neste contexto, a fonte de ionização utilizada neste trabalho foi a ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *electrospray ionization*) (LANÇAS, 2019).

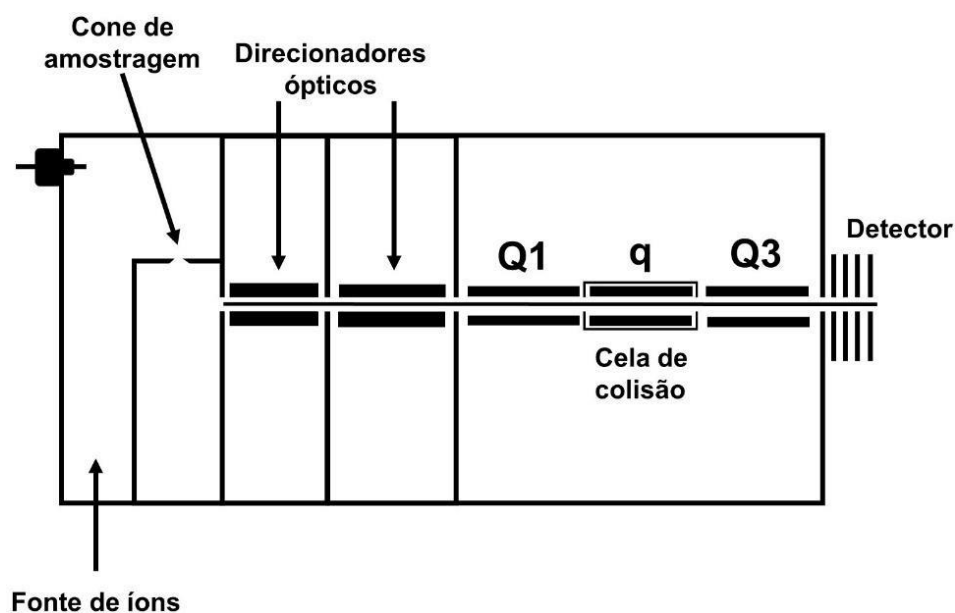
A fonte de ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *electrospray ionization*), é uma fonte do tipo API, nela, o eluente da coluna do HPLC passa por uma agulha capilar metálica e entra em uma câmara aquecida. Um potencial elevado é aplicado entre o capilar e um contra eletrodo, produz um campo elétrico que induz cargas elétricas nas gotículas que saem do capilar (LANÇAS, 2019). Essas gotículas carregadas são evaporadas em um fluxo de gás nitrogênio aquecido (entre 80 e 150 °C), a partir da redução do tamanho das gotas, as cargas presentes nelas se tornam condensadas e o efeito da explosão coulombiana entra em ação, nela, as cargas semelhantes se repelem com tamanha intensidade que as microgotas automaticamente entram em colapso e explodem, liberando assim os íons em fase gasosa (GAMERO-CASTAÑO, *et al.* 2021).

Os íons gerados pela eletronebulização, mediante a aplicação de um potencial elétrico, são conduzidos através de um pequeno orifício para o interior do sistema de massas. Nesse momento, fragmentos neutros e íons com carga contrária àquela aplicada no cone de amostragem (figura 6) são removidos do sistema (VOGEL, 2022).

O sistema de espectrometria de massas em série pode ser entendido como uma forma de se obter um espectro de massas de um espectro de massas, isto é, os íons obtidos no primeiro espectro de massas devem ser posteriormente fragmentados de forma que seja possibilitada a obtenção de um segundo espectro de massas com novas informações sobre os analitos (LANÇAS, 2019). A configuração do sistema de massas do tipo triplo quadrupolo (QqQ), representado na figura 6, é constituído de dois quadrupolos analisadores de massa (Q1 e Q3) e um quadrupolo que atua como

uma cela de colisão, a qual produz novas fragmentações dos analitos, gerando mais informações sobre as estruturas dos mesmos. Os quadrupolos são constituídos de quatro barras, normalmente feitas de metal e dispostas em pares, onde um campo eletromagnético é aplicado de forma alternada e com potencial crescente na medida em que os íons percorrem sua extensão (LANÇAS, 2019; COLLINS, *et al.* 2006; VOGEL, 2022).

Figura 6 – Configuração típica de um sistema de massas do tipo triplo quadrupolo.



Fonte: Adaptado de CHIARADIA, 2008.

O funcionamento da técnica envolve a configuração de alguns modos de seleção e aquisição de íons no equipamento. Algumas das possibilidades são: Varredura completa (full SCAN), monitoramento de íons selecionados (SIM, do inglês *selected ion monitoring*), monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*) e o monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês *multiple reaction monitoring*) (LANÇAS, 2019).

- Full SCAN: a cela de colisão é evacuada, eliminando a fragmentação das moléculas. Dessa forma, os íons gerados pela fonte de ionização fluem livremente pelo sistema de massas, sendo detectados pelo equipamento (LANÇAS, 2019).

- SIM: a cela de colisão é desativada, e um dos analisadores de massa é configurado como um filtro de passagem, enquanto o outro atua como um analisador de massas (LANÇAS, 2019).

- SRM e MRM: na SRM, um íon precursor é selecionado no primeiro analisador de massas e encaminhado à cela de colisão, um único íon é seletivamente filtrado no segundo quadrupolo. A MRM segue o mesmo princípio, mas é usada quando o monitoramento envolve o monitoramento de várias reações, selecionando vários precursores e permitindo o monitoramento de diversas transições durante o mesmo experimento (LANÇAS, 2019).

3.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS

O termo *validação* pode ser entendido no sentido de dar validade a algo, é a confirmação por testes, com fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para determinado uso são atendidos. No que se refere a métodos de ensaio, a validação será conferida por meio de testes (ou parâmetros de validação) aplicados ao método, os quais, normalmente, são avaliados a partir de ferramentas estatísticas (OLIVARES, 2019; ABNT, 2017). A validação dos métodos analíticos é um requisito crucial na prática e no desenvolvimento de metodologias (EURACHEM, 2014). Normalmente, essa validação é fundamentada em diretrizes de referência específicas da área de pesquisa. Os parâmetros de validação e o resultado do estudo destes, será definido e avaliado de acordo com critérios de aceitação definidos por diferentes guias e/ou legislações (OLIVARES, 2014; HERNÁNDEZ, *et al.* 2023).

No Brasil, o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO), por meio da DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos, apresenta parâmetros de desempenho que devem ser avaliados para que um método desenvolvido possa ser validado com o mínimo de qualidade e segurança exigidos. O documento em questão, foi desenvolvido em consonância com diretrizes internacionais para a validação de métodos analíticos (INMETRO, 2021).

Dos parâmetros de desempenho descritos pelo DOQ-CGCRE-008, constam: seletividade, linearidade, limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*), limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*), tendência/recuperação, precisão e robustez. Sendo esta última, um procedimento opcional. O próprio documento define os termos e apresenta maneiras com que estes possam ser avaliados, de acordo como segue:

- Seletividade: grau em que o método tem a capacidade de quantificar o analito de interesse na presença de outros analitos, matrizes, ou outro material ou composto

que possa causar interferência durante uma análise. Métodos que tenham a capacidade de diferenciar a resposta de analitos diferentes passa a ser chamado de seletivo. Caso este parâmetro não for assegurado, a linearidade, a tendência e a precisão estarão comprometidas (INMETRO, 2021).

- Linearidade: habilidade de um procedimento analítico em fornecer resultados, os quais são diretamente proporcionais à concentração de analito na amostra, considerando neste momento, uma faixa linear de trabalho, ou seja, uma faixa concentração de um analito onde os resultados obtidos são proporcionais à concentração do analito. Para inferir esta faixa, é comum utilizar-se de uma curva analítica, onde os limites de linearidade são definidos através dela (INMETRO, 2021; SKOOG, 2014).

- LOD: em um método analítico é o limite mínimo de concentração de analito em uma amostra que um instrumento consegue detectar, indicando sua presença (INMETRO, 2021).

- LOQ: é a menor quantidade de analito na amostra que pode ser quantitativamente determinada com exatidão e precisão aceitáveis, normalmente, correspondendo ao padrão de menor concentração (com exceção do branco) em uma curva analítica (INMETRO, 2014).

- Recuperação: os ensaios de recuperação ajudam a indicar a eficiência da metodologia utilizada para o processamento e análise das amostras. Esses ensaios podem ser conduzidos através da análise de amostras ou matrizes semelhantes, fortificadas com o analito em questão. O valor obtido para a recuperação do analito reflete o quão bem o método é capaz de recuperar o analito. Os critérios de aceitação para a recuperação dos compostos, definidos pela AOAC, são ajustados de acordo com o nível de concentração dos analitos nas amostras, para o presente estudo, estabeleceu-se o limite de variação da recuperação entre 40 e 120%, tendo em vista que estes limites se estabelecem na análise de traço de contaminantes, estando em acordo com o estabelecido nas normas de validação (AOAC, 2016; INMETRO, 2021).

- Precisão: pode ser definida pela repetibilidade e reprodutibilidade do método, indicando a dispersão dos resultados das análises em diferentes ensaios realizados para um mesmo método ou grupo de amostras (SKOOG, 2014; INMETRO, 2021).

- Robustez: é a capacidade do método de não ser afetado por pequenas variações nos parâmetros de execução. Essa característica fornece uma indicação da confiabilidade do método durante aplicações de rotina (INMETRO, 2021).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi conduzido no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP), situado no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os experimentos foram realizados utilizando os recursos e instrumentos disponíveis no local.

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento desse trabalho foram:

- Agitador Vortex – Modelo VX-38 (IONLAB, Brasil);
- Bomba de vácuo (Tecnal, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha e Eppendorf, Canadá);
- Sistema de manifold para SPE (Varian, EUA);
- Sistema de purificação de água Direct-Q® 3UV (Millipore, França);
- Sistema UHPLC-MS/MS equipado com:
 - Cromatógrafo líquido Waters (EUA);
 - Coluna ACQUITY UPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm; 1,7 µm), Waters (EUA);
 - Detector MS triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ;
 - Interface/fonte de ionização por eletronebulização (*electrospray*) (EUA);
 - Sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes de alta pressão;
 - Sistema de injeção;
 - Software de aquisição de dados MassLynx 4.1 (Waters, EUA);
 - Gerador de nitrogênio PEAK NM30L-MS (Peak Scientific, Escócia);

4.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS

Os reagentes, solventes e demais materiais utilizados no desenvolvimento desse estudo estão listados abaixo:

- Acetonitrila, grau HPLC (Supelco, EUA);
- Ácido Acético Glacial (Merck, Alemanha)

- Água ultrapura, purificada em sistema Direct-Q® 3UV®, resistividade de 18,2 MΩ cm⁻¹ (Millipore, França);
- Argônio 5.0;
- Sorvente para SPE Oasis® HLB 60 mg/3 mL (Waters, EUA);
- Sorvente para SPE Oasis® HLB 200 mg/6 mL (Waters, EUA);
- Sorvente para SPE Strata™-X 60 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- Sorvente para SPE Strata™-X 200 mg/6 mL (Phenomenex, EUA);
- Sorvente para SPE Supel®-Select HLB 200 mg/6 mL (Sigma-Aldrich, EUA).
- Sorvente para SPE Sep-Pak® C18 500 mg/3 mL (Waters, EUA);
- Extran® (Supelco, EUA);
- Frascos de vidro (vial) com capacidade de 2 mL (ALWSCI Technologies, China);
- Metanol, grau HPLC (Honeywell, EUA);
- Microtubo, tipo Eppendorf com 2 mL de capacidade (Axygen, EUA);
- Nitrogênio 5.0;
- Padrões sólidos dos compostos em estudo (tabela 4);
- Tubulações de politetrafluoretileno;
- Vidrarias de laboratório.

4.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS

Para o desenvolvimento do método, foram selecionados os agrotóxicos regulamentados pelos órgãos governamentais, conforme as normas de potabilidade da água. Para este estudo, buscou-se manter somente os compostos capazes de se determinar a partir de LC-MS/MS.

Os padrões empregados foram obtidos diretamente dos fabricantes Chem Service INC, LGC Standards e Sigma-Aldrich, os compostos escolhidos para esta pesquisa estão listados na Tabela 4, acompanhados de suas classes, grupos químicos e propriedades físico-químicas correspondentes. As informações sobre a constante de dissociação ácida (pKa), o logaritmo do coeficiente de partição octanol-água (log Kow) e a solubilidade em água foram extraídas de bancos de dados, em específico, Pesticide Properties DataBase - PPDB, PUBCHEM e ChemSpider. O conhecimento das propriedades físico-químicas dos compostos é importante para avaliar o comportamento destes durante todas as etapas que compreendem o processo analítico.

Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.

(continua)

Nº	Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L ⁻¹)
1	2,4-D	Herbicida	Fenoxiacético	99	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	3,4	-0,82	24300
2	Abamectina	Acaricida, inseticida, anti-helmíntico	-	98,1	C ₉₅ H ₁₄₂ O ₂₈	-	-	-
3	Acefato	Inseticida	Organofosforado	98,5	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	8,35	-0,85	790000
4	Alacloro	Herbicida	Cloroacetanilida	99,34	C ₄₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	0,62	3,09	240
5	Aldicarbe	Inseticida	Carbamato	99,08	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	-	1,15	4930
6	Aldicarbe Sulfona	Metabólito	Carbamato	98,34	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	-	-	-
7	Aldicarbesulfóxido	Metabólito	Carbamato	99	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	-	-	-
8	Ametrina	Herbicida	Triazina	98,7	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	10,07	2,63	200
9	Atrazina	Herbicida	Triazina	98,1	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	1,7	2,7	35
10	Benomil	Fungicida	Carbamato	97,5	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	4,48	1,4	2
11	Carbaril	Inseticida	Carbamato	98,9	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	10,4	2,36	9,1
12	Carbendazim	Fungicida	Benzimidazol	98,7	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	4,2	1,48	8
13	Carbofurano	acaricida e nematicida	Carbamato	99	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	-	1,8	322
14	Ciproconazol	Fungicida	Triazol	98,6	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₃ O	-	3,09	93

Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.

(continuação)

Nº	Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L ⁻¹)
15	Cletodim	Herbicida	Ciclohexanodiona	97,2	C ₁₇ H ₂₆ ClNO ₃ S	4,47	4,14	5450
16	Clorimurom-etílico	Herbicida	Sulfonilureia	99,5	C ₁₅ H ₁₅ ClN ₄ O ₆ S	4,2	0,11	1200
17	Clorotalonil	Fungicida	Cloronitrila	98,5	C ₈ Cl ₄ N ₂	-	2,94	0,81
18	Clorpirifós	Inseticida	Organofosforado	99,6	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	-	4,7	1,05
19	Clorpirifós-oxon	Metabólito	Organofosforado	98	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₄ P	-	2,89	25,97
20	Cresoxim-metil	Fungicida	Estrobilurina	99,5	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-	3,4	2
21	Deetil-Atrazina - Dea	Metabólito	Triazina	98,2	C ₆ H ₁₀ ClN ₅	-	1,51	2593
22	Deisopropil - Atrazina - Dia.	Metabólito	Triazina	97,5	C ₅ H ₈ ClN ₅	-	1,15	6160
23	Diaminoclorotriazina - Dact	Metabólito	Triazina	96,98	C ₃ H ₄ ClN ₅	-	-	-
24	Diazinona	Inseticida	Organofosforado	99	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	2,6	3,69	60
25	Difenoconazol	Fungicida	Conazol	99	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	1,07	4,3	15
26	Diflubenzuron	Inseticida	Benzoilfenilureia	98,6	C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂	-	3,89	0,08
27	Dimetoato	Inseticida	Organofosforado	99,4	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	-	0,75	25900
28	Ditianona	Fungicida	Dicarbonitrila	98,8	C ₁₄ H ₄ N ₂ O ₂ S ₂	-	3,2	0,22
29	Diuron	Herbicida	Fenilureia	98,7	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	-	2,87	35,6
30	Epoxiconazol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₇ H ₁₃ ClFN ₃ O	-	3,3	7,1
31	Etoxisulfuron	Herbicida	Sulfonilureia	99,52	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₇ S	5,28	1,01	5000

Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.

(continuação)

Nº	Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L ⁻¹)
32	Fenitrotiona	Inseticida	Organofosforado	98	C ₉ H ₁₄ NO ₅ PS	-	3,32	19
33	Fenoxaprop-p-etílico	Herbicida	Ariloxifenoxipropionato	98,5	C ₁₈ H ₁₆ ClNO ₅	0,18	4,58	0,43
34	Fentiona	Inseticida	Organofosforado	96,8	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	-	4,84	4,2
35	Fipronil	Inseticida	Pirazol	97,12	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	-	3,75	3,78
36	Flutriafol	Fungicida	Triazol	99,5	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	2,3	23	95
37	Fomesafem	Herbicida	Organoclorado	98,2	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₆ S	2,83	-1,2	50
38	Hidroxi-Atrazina	Metabólito	Triazina	97,24	C ₈ H ₁₅ N ₅ O	-	-1,74	1 [^] 6
39	Imazetapir	Herbicida	Imidazolinona	99	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	2,1	1,49	1400
40	Imidacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	99,8	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	-	0,57	610
41	Indoxacarbe	Inseticida	Oxadiazina		C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇	-	4,65	0,2
42	Iodosulfurom-metil-sódio	Herbicida	Sulfonilureia	97,8	C ₁₄ H ₁₃ IN ₅ NaO ₆ S	3,22	-0,7	25000
43	Ioxinil octanoato	Herbicida	Nitrila	99,04	C ₁₅ H ₁₇ I ₂ NO ₂	-	6	0,03
44	Malationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	-	2,75	148
45	Mesotriona	Herbicida	Aroilciclohexanodion	99	C ₄ H ₁₃ NO ₇ S	3,12	0,11	1500
46	Metalaxil-m (Mefenoxam)	Fungicida	Anilida	98,7	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	-	1,71	26000
47	Metamidofós	Inseticida	Organofosforado	98,7	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	-	-0,79	200000

Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.

(continuação)

Nº	Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L ⁻¹)
48	Metamitrona	Herbicida	Triazinona	99,3	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O	-	0,85	1770
49	Metidationa	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98,3	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	-	2,57	240
50	Metolacloro	Herbicida	Cloroacetanilida	98,6	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	-	3,4	530
51	Metribuzim	Herbicida	Triazinona	99,8	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	1,3	1,7	10700
52	Metsulfuron metil	Herbicida	Sulfonilureia	99	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	3,75	-1,87	2790
53	Molinato	Herbicida	Tiocarbamato	99	C ₉ H ₁₇ NOS	-	2,86	1100
54	Ometoato	Inseticida e acaricida	Organofosforado	96,2	C ₅ H ₁₂ NO ₄ PS	-	-0,9	500000
55	Picloram	Herbicida	Piridina	98	C ₆ H ₃ Cl ₃ N ₂ O ₂	1,8	-1,92	488
56	Picoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ NO ₄	-	3,6	3,1
57	Profenofós	Inseticida	Organofosforado	97,91	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	-	1,7	28
58	Propargito	Acaricida	Sulfito de alquila	94,5	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S	-	5,7	0,215
59	Protioconazol	Fungicida	Conazol	98,29	C ₁₄ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ OS	6,9	2	22,5
60	Proticonazol Destio	Metabólito	Organoclorado	98,5	C ₁₄ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ O	-	3,05	25,97
61	Simazina	Herbicida	Triazina	99	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	1,62	2,3	5
62	Tebuconazol	Fungicida	Triazol	98,6	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	5	3,7	36
63	Tembotriona	Herbicida	Aroilciclohexanodiona	98	C ₁₇ H ₁₆ ClF ₃ O ₆ S	3,18	-1,09	71000

Tabela 4 – Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos.

(conclusão)

Nº	Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L⁻¹)
64	Terbufós	Inseticida e nematocida	Organofosforado	99	C ₉ H ₂₁ O ₂ PS ₃	-	4,51	4,5
65	Tetraconazol	Fungicida	Triazol	98,8	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ F ₄ N ₃ O	0,65	3,56	156,6
66	Tiametoxam	Inseticida	Neonicotinóide	99,7	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	-	-0,13	4100
67	Tiodicarbe	Inseticida e moluscicida	Carbamato	97,4	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₄ S ₃	-	1,62	22,2
68	Tiofanato-metílico	Fungicida	Carbamato	98,9	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	7,28	1,4	18,5
69	Triciclazol	Fungicida	Triazolobenzotiazol	98,9	C ₉ H ₇ N ₃ S	-	1,4	596
70	Trifluralina	Herbicida	Dinitroanilina	99,6	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	-	5,27	0,221

Fonte: Autor, 2024.

4.4 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE

A atrazina deuterada (atrazina-d5) foi empregada como padrão de controle com o propósito de avaliar a eficácia do procedimento de extração. Sua adição foi realizada tanto nas amostras branco fortificadas quanto nas amostras analisadas. A concentração aplicada nas amostras branco fortificadas foi de 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Para o padrão interno, utilizou-se o trifenilfosfato na concentração de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas análises por UHPLC-MS/MS, com o objetivo de verificar a resposta do equipamento, sem, no entanto, ser aplicado para fins de quantificação, mas sim, como forma de monitoramento da etapa de preparo e diluição das soluções analíticas e extratos das amostras, das fortificações e do branco.

4.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

Todas as soluções de analitos utilizadas nesse trabalho, foram preparadas primeiramente a partir de padrões sólidos na concentração de 1000 mg L^{-1} . Sendo produzidas em acetonitrila e metanol grau HPLC.

A partir das soluções estoque 1000 mg L^{-1} , preparou-se misturas de todos os compostos na concentração de 10 mg L^{-1} . Todas as soluções analíticas foram armazenadas a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

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

4.6.1 Escolha da fase móvel

Para o desenvolvimento deste trabalho, buscou-se desenvolver um método que pudesse ser utilizado na rotina do laboratório e que compreendesse os padrões de potabilidade da água no que se refere à presença de agrotóxicos, para tanto, o parâmetro de fase móvel estabelecido como uso padrão no LARP foi mantido fixo. Neste caso, utilizou-se uma fase aquosa e outra orgânica, sendo constituída de: A) água ultrapura com 2% (v/v) metanol e B) metanol com 2% (v/v) de água ultrapura, ambas contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico e 5 mmol/L de formiato de amônio. Com vazão constante de 0,225 mL min^{-1} , utilizou-se o gradiente descrito na tabela 5. O tempo total de corrida cromatográfica foi de 10 minutos.

Tabela 5 – Gradiente da fase móvel

Tempo	Vazão (mL/min)	%A	%B
0	0,225	95,0	5,0
0,25	0,225	95,0	5,0
7,75	0,225	0,0	100,0
8,5	0,225	0,0	100,0
8,51	0,225	95,0	5,0
10	0,225	95,0	5,0

Fonte: Autor, 2024.

4.6.2 Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS

Descritas a seguir estão as condições gerais utilizadas no desenvolvimento do método, estas condições foram otimizadas previamente no LARP-UFSM e são utilizadas em análises de rotina para diversos compostos e matrizes.

- Temperatura da coluna 40 °C;
- Voltagem do capilar (ESI+): 0,5 kV;
- Temperatura de dessolvatação: 500 °C;
- Vazão do gás de dessolvatação (N₂ 5.0): 600 mL min⁻¹;
- Vazão do spray: 80 mL min⁻¹;
- Vazão do gás de colisão (Ar 5.0): 0,15 mL min⁻¹;
- Temperatura da fonte: 150 °C;
- Volume de injeção: 10 µL;
- Tempo de residência (*dwel time*): 0,1 s;
- Tempo de aquisição 30 s.

Para otimizar a análise dos compostos em estudo, inicialmente foram realizadas verificações nos métodos existentes no laboratório, em dissertações passadas, em artigos e em bancos de dados, a fim de encontrar os íons característicos para cada um dos compostos utilizados. Em alguns casos foi efetuada a infusão de compostos para verificar as transições dos mesmos. Para verificar o perfil das transições, a intensidade dos sinais e estabelecer o melhor solvente para diluição das amostras, foram injetadas no sistema UHPLC-MS/MS, fortificações de concentração

20 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, cada uma com diluição de duas vezes em diferentes solventes, sendo eles, acetonitrila, água ultrapura e fase móvel.

A partir dos dados obtidos, foi possível desenvolver o método, encontrando os melhores íons de quantificação e de qualificação, bem como a janela de varredura para cada um dos compostos.

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

O pré-tratamento das amostras consistiu na filtração das mesmas por meio de uma membrana de nitrocelulose de 0,45 μm em filtro sinterizado, conforme ilustra a Figura 7. Após filtradas, as amostras foram transferidas para balões volumétricos de 100 mL, seu pH foi corrigido à faixa de 6,0, com solução de ácido fosfórico 1:1 (v/v), ou hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} , de acordo com a necessidade. As fortificações e branco foram confeccionadas com água ultrapura, passando pelo mesmo processo de correção do pH. Assim que o menisco foi aferido, as amostras foram fortificadas com o padrão de controle atrazina-d5 e soluções dos analitos utilizados no desenvolvimento do trabalho. As fortificações foram realizadas de tal modo que a concentração final obtida após a extração e diluição dos extratos, gerou soluções com concentração de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 7 – Sistema de filtração das amostras.



Fonte: Autor, 2024.

O sistema de SPE utilizado para executar a concentração das amostras, do branco e das fortificações pode ser observado na Figura 8. Neste sistema utiliza-se uma câmara resistente que possibilita a manutenção do vácuo gerado por uma bomba de vácuo, no sistema utilizado no desenvolvimento do trabalho, foi possibilitada a utilização simultânea de até 20 cartuchos de SPE.

Tanto para os testes quanto para a validação do método, foram utilizados 100 mL de amostras e água ultrapura.

Figura 8 – Sistema de SPE utilizado no desenvolvimento do trabalho.



Fonte: Autor, 2024.

4.8 ESCOLHA DO SORVENTE E FAIXA DE PH PARA A ETAPA DE CONCENTRAÇÃO

Para avaliar o procedimento de extração em fase sólida, foram selecionados seis sorventes disponíveis comercialmente: Oasis[®] HLB 60 mg, Oasis[®] HLB 200 mg, Strata[™]-X 60 mg, Strata[™]-X 200 mg, Supel[®]-Select HLB 200 mg e Sep-Pak[®] C18 500 mg. O solvente utilizado para condicionar o cartucho e eluir as amostras, foi escolhido com base nas informações fornecidas pelos fabricantes e nas propriedades dos compostos em estudo.

O procedimento da fase de teste dos sorventes ocorreu sem ajuste do pH, realizando uma amostra em branco e três amostras branco fortificadas em 0,4 µg L⁻¹ para cada cartucho. Os sorventes que apresentarem os melhores resultados, ou seja, com potencial para desenvolvimento do método, serão avaliados em diferentes faixas

de pH das amostras (2,0; 4,0 e 6,0), a fim de se determinar o sorvente ideal para a execução do método.

A medição do pH das amostras foi efetuada por meio de potenciômetro e fitas de pH como método de comparação entre estes. Após comprovação visual de que a faixa de pH medida pelas fitas foi semelhante àquela apresentada pelo potenciômetro, escolheu-se a fita de pH como método de verificação, visto a redução de tempo despendido para efetuar tal verificação.

O critério primordial para a escolha do sorvente e do pH da amostra, foi a totalidade de analitos recuperados, considerando a faixa de recuperação aplicada (40 a 120%).

4.9 ESCOLHA DO VOLUME DE ELUIÇÃO DAS AMOSTRAS

Para que fosse possível alcançar níveis ainda menores na determinação de agrotóxicos em amostras de água, foram realizados testes comparativos com o sorvente escolhido, neste foram testados volumes de 1 e 2 mL para a eluição, as amostras foram fortificadas em 0,2 e 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Na Tabela 6, é possível observar um resumo geral de todos os ensaios realizados para a otimização do preparo de amostras.

Tabela 6 – Ensaio realizados para a otimização do preparo de amostras.

Ensaio	Tratamento da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Cartucho
1	Sem ajuste do pH	3 mL MeOH, 6 mL água ultrapura	2 mL MeOH:ACN 1:1, 1% Ácido Acético	Oasis® HLB 60 mg; Strata™-X 60 mg e Sep-Pak® C18 500 mg.
1	Sem ajuste do pH	6 mL MeOH, 12 mL água ultrapura	2 mL MeOH:ACN 1:1, 1% Ácido Acético	Oasis® HLB 200 mg; Strata™-X 200 mg; Supel®-Select HLB 200 mg.
2	pH 2,0; 4,0 e 6,0	3 mL MeOH, 3 mL água ultrapura, 3 mL água ultrapura (pH 2,0; 4,0 e 6,0)	2 mL MeOH:ACN 1:1, 1% Ácido Acético	Oasis® HLB 60 mg; Strata™-X 60 mg
3	pH 6,0	3 mL MeOH, 3 mL água ultrapura, 3 mL água ultrapura (pH 6,0)	2 mL MeOH:ACN 1:1, 1% Ácido Acético; 1 mL MeOH:ACN 1:1, 1% Ácido Acético	Oasis® HLB 60 mg

Fonte: Autor, 2024.

4.10 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

Foram utilizados como parâmetros para a validação do método, aqueles dispostos no documento DOQ-CGCRE-008, sendo eles, seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão.

4.10.1 Seletividade

O parâmetro seletividade do método, foi avaliado a partir da comparação dos cromatogramas gerados a partir das injeções no sistema UHPLC-MS/MS dos extratos das amostras branco e dos extratos fortificados com concentração final de 10 µg L⁻¹.
Curva analítica e linearidade

A linearidade da curva de calibração foi avaliada por meio de injeções de soluções analíticas em triplicata, preparada no solvente de eluição (ACN:MeOH 1:1 com 1% (v/v) de ácido acético), com diluição de duas vezes em fase móvel, nas concentrações 0,5, 1, 2, 5, 10 e 20 µg L⁻¹. As curvas injetadas foram avaliadas a partir do cálculo das médias das áreas de cada ponto da curva de calibração para cada um dos analitos, para que fosse possível obter a regressão linear (equação 1) e o coeficiente de determinação (r²). A partir destes, foi possível inferir a linearidade do método.

$$y = ax + b \quad (1)$$

Onde, y é a resposta medida pelo equipamento, neste caso, a área do pico, x é a concentração dos analitos, a é o coeficiente linear, o qual representa a intersecção com o eixo y , quando x é igual a zero, e b representa o coeficiente angular, indicando a inclinação da curva analítica.

4.10.2 Exatidão e precisão

Os parâmetros exatidão e precisão do método proposto foram avaliados por meio dos valores de recuperação e do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *relative standard deviation*) para cada um dos analitos em cada um dos níveis de fortificação. Os ensaios de recuperação executados a partir da fortificação das amostras branco da matriz água, foram executados nas concentrações 0,02, 0,04, 0,2 e 0,8 µg L⁻¹, que,

no equipamento, se traduz para as concentrações 0,5, 1, 5 e 20 µg L⁻¹, respectivamente, sendo realizadas em septuplicatas. A recuperação foi inferida a partir da equação 2.

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

Onde C₁ representa a concentração do analito na amostra fortificada, C₂ a concentração do analito na amostra branco e C₃, a concentração do analito esperada para a amostra fortificada.

A precisão, expressa através do RSD, é calculada através da Equação 3. Onde, DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada.

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

A precisão intermediária foi inferida a partir da execução dos procedimentos de análise em dias diferentes, avaliando ensaios de fortificação nos níveis de 0,02, 0,04, 0,2 e 0,8 µg L⁻¹, com a utilização de sete replicatas.

Os critérios de aceitação para os parâmetros de exatidão e precisão estão de acordo com as normativas descritas pelo INMETRO a partir do DOQ-CGCRE-008, o qual prevê que as recuperações médias da validação devem estar dentro da faixa de 40-120%, bem como, RSD ≤ 30% para níveis de concentração da ordem de um partes por bilhão (ppb), equivalente a 1 µg L⁻¹.

4.10.3 Limites de detecção e de quantificação

O LOQ foi inferido a partir da fortificação de menor valor onde os analitos puderam ser recuperados com confiança na metodologia, isto é, apresentando boa taxa de recuperação da fortificação, bem como da precisão expressa entre as replicatas. Onde estabeleceu-se a faixa de 40-120% para as recuperações e um RSD ≤ 30%.

A partir do estabelecimento dos valores de LOQ para os compostos, foi possível inferir matematicamente o valor do LOD a partir da equação 4.

$$LOD = \frac{LOQ}{3,33} \quad (4)$$

4.11 APLICAÇÃO DO MÉTODO

As amostras analisadas durante a aplicação do método, tiveram a função única de avaliar a robustez do método desenvolvido, não possuindo caráter de monitoramento da qualidade das águas utilizadas na amostragem.

O método desenvolvido e validado foi aplicado para a determinação de resíduos de agrotóxicos em 30 amostras de água coletadas nas regiões central e metropolitana do estado do Rio Grande do Sul. Sendo 7 amostras de água mineral comercial, 4 amostras de águas potável, 7 amostras de água de poços artesianos, 9 amostras de corpos hídricos superficiais e 3 amostras de fontes (nascentes). A maior parte das coletas foi realizada em frasco âmbar, armazenadas em local protegido da luz e em temperatura média de 10 °C, evitando possíveis alterações nas características das amostras e degradação dos compostos a serem analisados. Quando não houve disponibilidade de frasco âmbar, as amostras foram coletadas em garrafa plástica, lavada 3 vezes com a água de coleta e então armazenadas sob refrigeração. Previamente à análise, as amostras foram filtradas em sistema de vácuo para remover quaisquer sólidos presentes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção, serão apresentados os resultados obtidos durante o desenvolvimento e aplicação do método. Serão detalhadas as observações feitas ao longo do processo, incluindo os resultados das análises realizadas, as etapas do método que foram otimizadas e as conclusões alcançadas a partir dos dados obtidos.

5.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS EMPREGADO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.

Na figura 9 é possível observar o sistema UHPLC-MS/MS, utilizado no modo de aquisição SRM, contando com ionizações negativas e positivas. Os parâmetros de tempo de retenção, transições, energia de cone e energia de fragmentação para cada um dos compostos avaliados no desenvolvimento desse trabalho, podem ser observados na Tabela 7.

Figura 9 – Sistema UHPLC-MS/MS Xevo-TQ (Waters)



Fonte: Autor, 2024

Tabela 7 – Tempo de retenção (t_R), modo de ionização, energia do cone (CV), íon precursor, íons produto e energias de colisão (CE) para os analitos.

(continua)

Nº	Analito	t_R (min)	ESI (+/-)	CV	Íon precursor (m/z)	1ª transi. quantificação		2ª transi. qualificação	
						Íon produto (m/z)	CE (eV)	Íon produto (m/z)	CE (eV)
1	Abamectina	8,34	+	20	890,60	305,20	25	567,40	11
2	Alacloro	6,80	+	20	270,10	238,13	11	162,15	20
3	Aldicarbe	4,53	+	7	208,00	116,00	7	89,00	7
4	Ametrina	5,85	+	32	228,10	186,10	18	68,10	36
5	Atrazina	5,73	+	30	216,10	174,10	18	96,10	23
6	Carbaril	5,35	+	19	202,00	145,00	22	117,00	28
7	Carbendazim	2,90	+	24	192,10	160,10	18	132,10	28
8	Carbofurano	5,14	+	25	222,11	165,10	16	123,00	16
9	Ciproconazol	6,67	+	27	292,20	70,20	18	125,10	24
10	Cletodim	7,53	+	25	360,00	164,00	20	268,10	10
11	Clorimurom-etílico	6,43	+	25	415,10	186,00	15	213,00	17
12	Clorpirifós	7,91	+	27	349,90	97,00	32	198,00	20
13	clorpirifós-oxon	6,88	+	20	334,00	277,90	15	305,90	15
14	Cresoxim-metil	7,03	+	15	314,10	206,00	7	116,00	12
15	Deetil-Atrazina - Dea	4,16	+	35	188,40	146,00	10	104,00	10
16	Deisopropil - Atrazina - Dia.	5,74	+	30	174,00	132,00	18	96,00	23

Tabela 7 – Tempo de retenção (t_R), modo de ionização, energia do cone (CV), Ion Precursor, Íons produto e energias de colisão (CE) para os analitos.

(continuação)

Nº	Analito	t_R (min)	ESI (+/-)	CV	Ion precursor (m/z)	1ª transi. quantificação		2ª transi. qualificação	
						Íon produto (m/z)	CE (eV)	Íon produto (m/z)	CE (eV)
17	Diazinona	7,15	+	20	305,10	169,00	22	96,90	35
18	Difenoconazol	7,39	+	37	406,00	251,10	25	111,10	60
19	Diflubenzuron	6,94	+	20	311,00	158,00	12	141,00	28
20	Dimetoato	3,82	+	12	230,10	199,00	10	125,00	20
21	Diuron	5,90	+	27	233,00	72,10	18	46,30	14
22	Epoxiconazol	6,78	+	25	330,00	141,40	22	101,00	50
23	Etoxisulfuron	6,51	+	25	398,90	261,00	16	218,00	24
24	Fentiona	7,10	+	25	279,00	104,90	25	168,90	18
25	Fipronil	6,96	-	25	435,30	330,20	16	250,10	26
26	Flutriafol	5,77	+	23	302,10	70,20	18	123,10	29
27	Fomesafem	6,45	+	35	437,10	221,80	27	285,90	24
28	Hidroxi-Atrazina	3,40	+	30	198,00	156,00	18	114,00	23
29	Imazetapir	4,78	+	35	290,20	159,10	38	245,20	18
30	Imidacloprido	3,51	+	23	256,10	175,10	20	209,10	15
31	Indoxacarbe	7,42	+	25	528,00	203,00	40	150,00	22
32	Malationa	6,49	+	12	331,00	99,00	24	127,00	12
33	Mesotriona	4,33	+	23	340,10	228,10	18	104,00	32

Tabela 7 – Tempo de retenção (t_R), modo de ionização, energia do cone (CV), Ion Precursor, Íons produto e energias de colisão (CE) para os analitos.

(continuação)

Nº	Analito	t_R (min)	ESI (+/-)	CV	Íon precursor (m/z)	1ª transi. quantificação		2ª transi. qualificação	
						Íon produto (m/z)	CE (eV)	Íon produto (m/z)	CE (eV)
34	Metalaxil-m (Mefenoxam)	5,83	+	15	280,10	220,10	13	192,10	17
35	Metamitrona	3,69	+	28	203,10	104,00	22	175,10	16
36	Metidationa	5,98	+	10	303,00	145,00	10	85,10	20
37	Metolacloro	6,85	+	17	284,10	252,10	15	176,10	25
38	Metribuzim	5,05	+	33	215,00	89,00	20	131,00	18
39	Metsulfuron metil	5,08	+	22	382,00	167,00	16	198,90	22
40	Molinato	6,57	+	17	188,00	126,00	13	55,00	24
41	Picoxistrobina	6,93	+	10	368,00	145,10	22	205,10	10
42	Profenofós	7,63	+	25	372,90	302,60	20	127,90	40
43	Propargito	7,99	+	15	368,00	175,00	15	231,00	15
44	Proticonazol Destio	6,85	+	13	312,10	70,00	26	125,00	46
45	Simazina	5,08	+	34	202	96	22	124	16
46	Tebuconazol	7,11	+	31	308	70,1	2	125	40
47	Terbufós	7,72	+	12	289	103	8	57,2	22
48	Tetraconazol	6,79	+	32	372	159	30	70,1	20

Tabela 7 – Tempo de retenção (t_R), modo de ionização, energia do cone (CV), Ion Precursor, Íons produto e energias de colisão (CE) para os analitos.

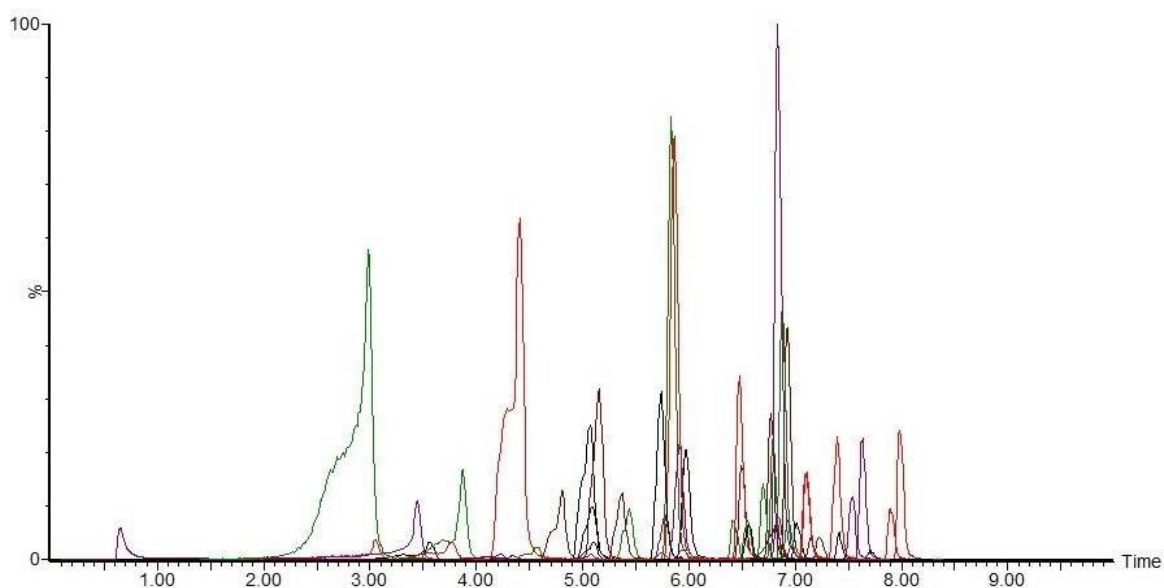
(conclusão)

Nº	Analito	t_R (min)	ESI (+/-)	CV	Íon precursor (m/z)	1ª transi. quantificação		2ª transi. qualificação	
						Íon produto (m/z)	CE (eV)	Íon produto (m/z)	CE (eV)
49	Tiametoxam	3	+	19	292	211,2	12	132	22
50	Tiodicarbe	5,43	+	17	355	87,9	16	107,9	16
51	Triciclazol	4,36	+	32	190	136	27	163	22
52	Atrazina-d5	5,75	+	26	221	179	16	101	23
53	Trifenilfosfato	7,16	+	37	327,2	152,1	37	215,2	28

Fonte: Autor, 2024.

A Figura 10 apresenta um cromatograma de íons totais (TIC, do inglês *Total Ion Chromatogram*), obtido por UHPLC-MS/MS, no modo de aquisição SRM, a partir da injeção de extrato da matriz branco fortificada a $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$, que corresponde a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ no equipamento.

Figura 10 – Cromatograma de íons totais para a fortificação $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$



Fonte: Autor, 2024.

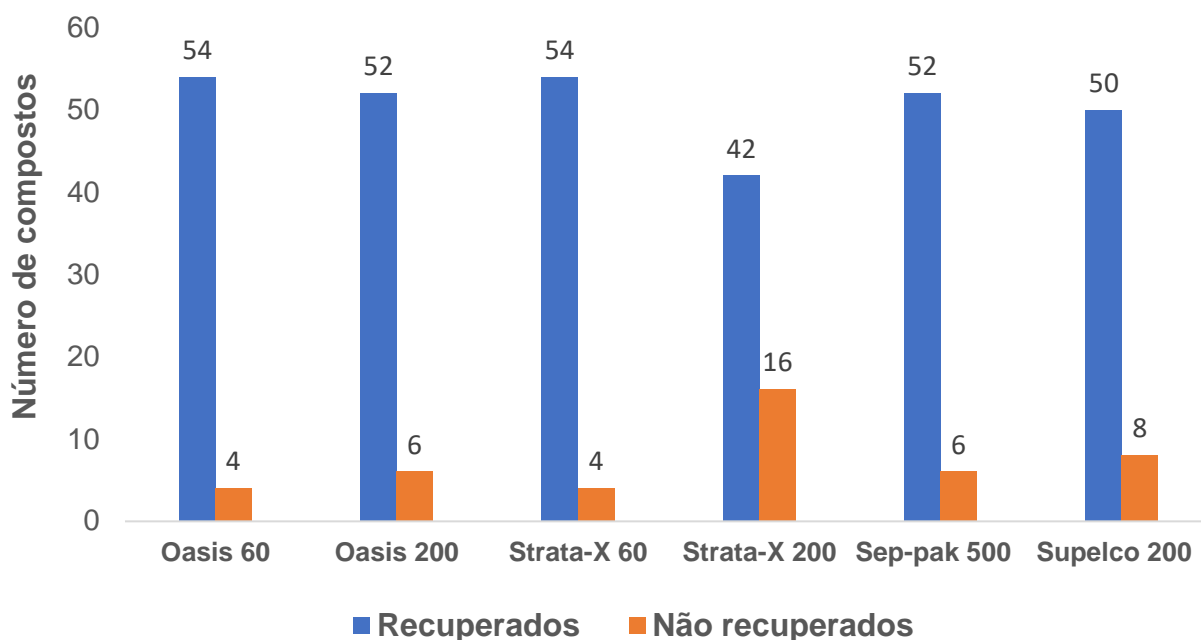
5.2 ESCOLHA DO SORVENTE DE SPE

Foram conduzidos testes a fim de identificar o sorvente de Extração em Fase Sólida (SPE) mais eficiente dentre os disponíveis no laboratório, sendo eles: Oasis[®] HLB 60 mg/3 mL (Sorvente), Oasis[®] HLB 200 mg/6 mL (Sorvente), Strata[™]-X 60 mg/3 mL (Sorvente), Strata[™]-X 200 mg/6 mL (Sorvente), Supel[®]-Select HLB 200 mg/6 mL (Sorvente), Sep-Pak[®] 500 mg/3 mL (C18).

A partir da seleção dos sorventes, foram conduzidos os primeiros testes. Para cada um dos sorventes e utilizando água ultrapura, foi preparada uma amostra branco e três amostras branco fortificadas em $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$. Para as fortificações, foram utilizados os mixes e solução de trabalho produzidos para o desenvolvimento deste trabalho, bem como o padrão de controle de Atrazina-d5, todos no mesmo nível de fortificação.

A Figura 11 apresenta os obtidos em cada um dos sorventes utilizados no teste inicial, considerando a faixa de recuperação entre 40 e 120%.

Figura 11 – Número de compostos recuperados para o teste de diferentes sorventes na faixa de 40 a 120%.



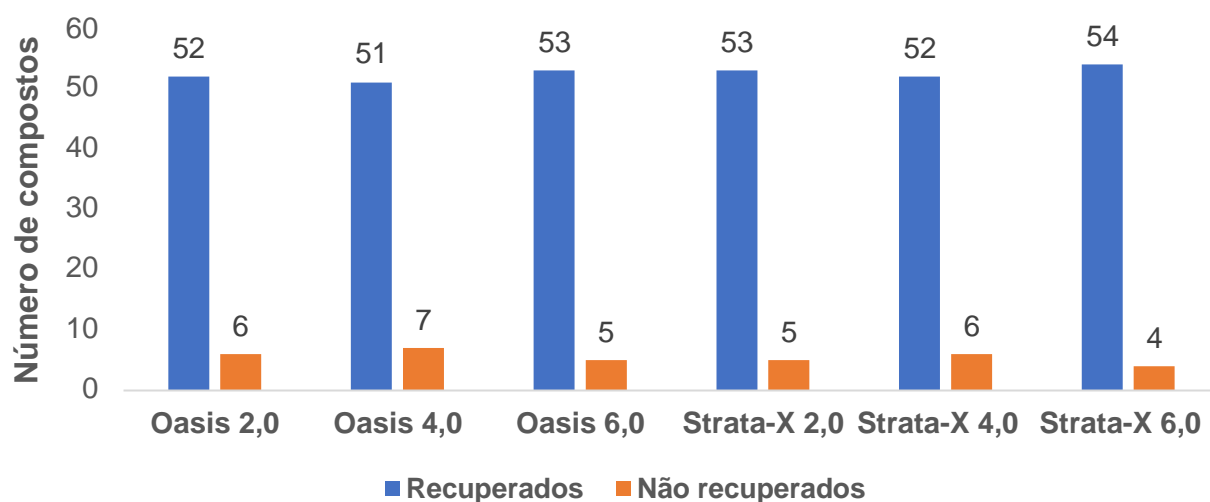
Fonte: Autor, 2024.

Com os resultados obtidos nos testes iniciais, observou-se que os sorventes que obtiveram melhor resposta frente à recuperação dos analitos foram: Oasis[®] HLB 60 mg/3 mL e Strata[™]-X 60 mg/3 mL. Portanto, estes sorventes foram selecionados para o teste de avaliação do pH da amostra.

5.3 ESCOLHA DO PH DA AMOSTRA

A partir do resultado obtido no teste inicial, foram selecionados os cartuchos Oasis[®] HLB 60 mg/3 mL e Strata[™]-X 60 mg/3 mL, para que fossem realizados testes de recuperação em diferentes valores de pH da amostra. Onde as faixas escolhidas foram 2,0, 4,0 e 6,0. A figura 12 apresenta os resultados de recuperação dos compostos obtidas em cada caso.

Figura 12 – Número de compostos recuperados para o teste de diferentes pH das amostras em diferentes sorventes na faixa de 40 a 120%.



Fonte: Autor, 2024

Apesar de se observar que, neste caso, o sorvente Strata-X 60 mg, com percolação de amostra em pH 6,0 apresentou recuperação para mais compostos frente às outras condições testadas, o cartucho Oasis se mostrou mais consistente quando relacionando as replicatas do teste de pH das amostras com as replicatas do teste do cartucho, mantendo um percentual semelhante na recuperação dos compostos.

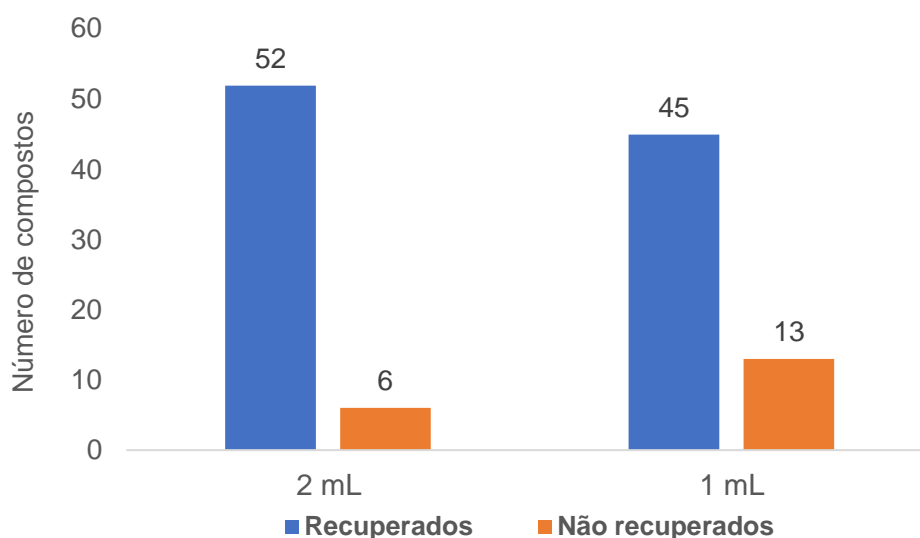
Durante o teste, os compostos 2,4-D, acefato, protioconazol, protioconazoldestio não foram recuperados em ambos os cartuchos, tiofanato metílico não foi recuperado apenas no sorvente Oasis® HLB 60 mg/3 mL.

O pH das amostras pode afetar significativamente a execução da técnica de SPE, a utilização de valores de pH mais baixos favorecerá a protonação dos analitos, contribuindo para a manutenção das moléculas em seu estado neutro, em alguns casos, modificando a retenção de alguns compostos ao sorvente utilizado. Neste caso, a utilização de valores de pH mais baixos no tratamento das amostras não apresentou influência positiva no número de compostos recuperados. Desta forma, a partir dos testes realizados, optou-se pela utilização dos cartuchos com sorvente Oasis® HLB 60 mg/3 mL com correção de pH das amostras à faixa de 6,0 para o desenvolvimento do método.

5.4 ESCOLHA DO VOLUME DE ELUIÇÃO

A partir da escolha do sorvente e do pH da amostra, foi realizado um último teste antes que se pudesse prosseguir com a validação do método. Neste, foram verificados dois volumes de eluição, sendo eles, 1 e 2 mL. A Figura 12 apresenta os resultados obtidos para a recuperação em cada caso.

Figura 13 – Número de compostos recuperados para o teste de volume de eluição das amostras na faixa de 40 a 120%.



Fonte: Autor, 2024.

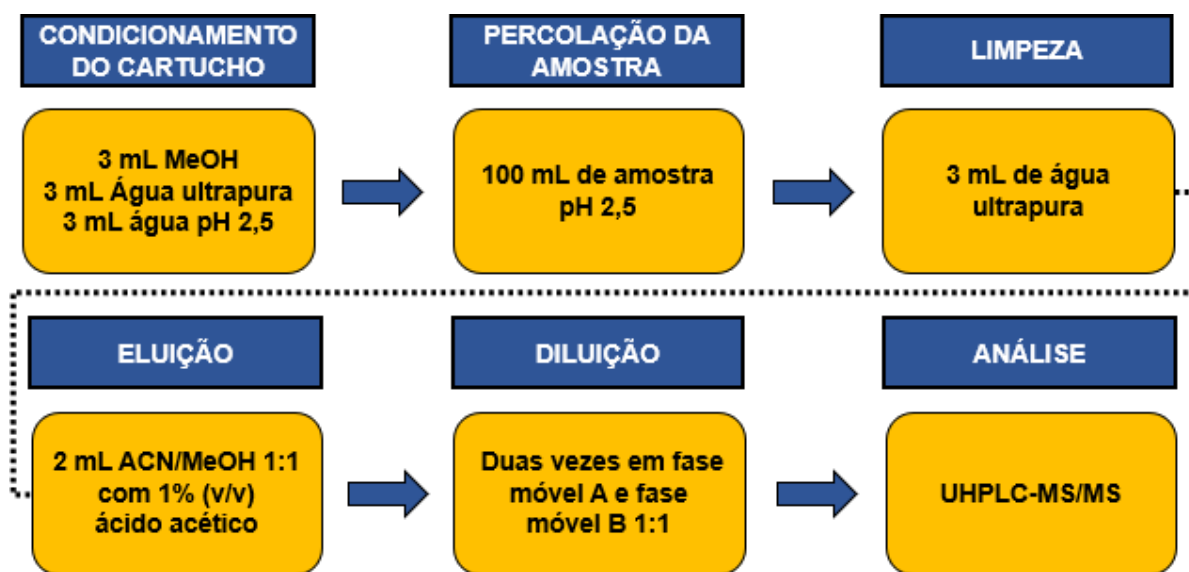
A eluição de 2 mL de extrato com solvente acetonitrila:metanol 1:1 (v:v) com 1% (v/v) de ácido acético garantiu a recuperação segura de um maior número de compostos quando comparado com a eluição de 1 mL, os compostos não recuperados na eluição de 1 mL careceram de interação com solvente para que fossem removidos do sorvente. Desta forma, estabeleceu-se o sorvente Oasis® HLB 60 mg/3 mL e o volume de eluição de 2 mL como os padrões para serem aplicados à validação do método proposto e para análise das amostras.

Durante o procedimento de SPE, até a etapa de eluição, as amostras foram concentradas no fator de 50 vezes, considerando a percolação de 100 mL e eluição de 2 mL. As fortificações foram efetuadas a partir da adição de 4 µL dos padrões 10 mg L⁻¹, aos balões contendo água ultrapura com pH 6,0 e com o menisco aferido. A diluição de duas vezes (500 µL de extrato + 500 µL de fase móvel) foi executada para garantir maior compatibilidade dos extratos com a fase móvel e consequente melhoria

no perfil dos picos cromatográficos, o fator de concentração total da técnica foi de 25 vezes.

Com base nos testes realizados, foi possível desenvolver o método que agora está pronto para ser validado. A Figura 14 apresenta uma síntese do método otimizado.

Figura 14 – Esquemática do método otimizado.



Fonte: Autor, 2024.

5.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

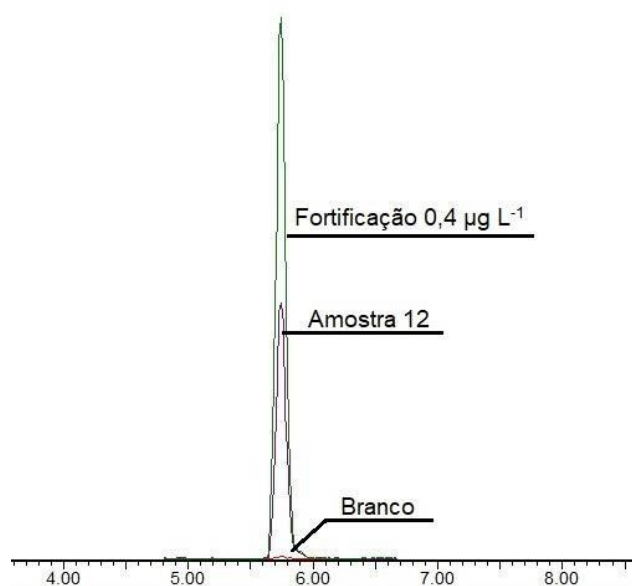
A validação da metodologia analítica utilizada neste estudo, foi realizada usando o método apresentado na Figura 14, sendo empregado o sistema UHPLC-MS/MS nas condições descritas no item 3.6, onde foram analisados os compostos apresentados na Tabela 8. As curvas de calibração utilizadas, foram preparadas em solvente de eluição (ACN:MeOH 1:1, contendo 1% (v/v) ácido acético), as fortificações foram preparadas por meio do procedimento de SPE com água ultrapura.

5.5.1 Seletividade

Para avaliação da seletividade, verificou-se a resposta cromatográfica das amostras branco (água ultrapura), em relação aos agrotóxicos utilizados no desenvolvimento deste estudo. A partir da comparação entre os cromatogramas

obtidos para os compostos no branco e nas amostras fortificadas, foi possível constatar a ausência tanto dos compostos de interesse, quanto de interferentes que poderiam gerar resposta instrumental nas mesmas faixas esperadas para as transições avaliadas. Como exemplo, tem-se a Figura 15, onde é possível observar um comparativo entre a resposta obtida para a amostra branco e a amostra fortificada no nível $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ para o composto atrazina.

Figura 15 – Cromatograma de íons totais para atrazina no branco da matriz, na fortificação $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ e para a amostra 12.

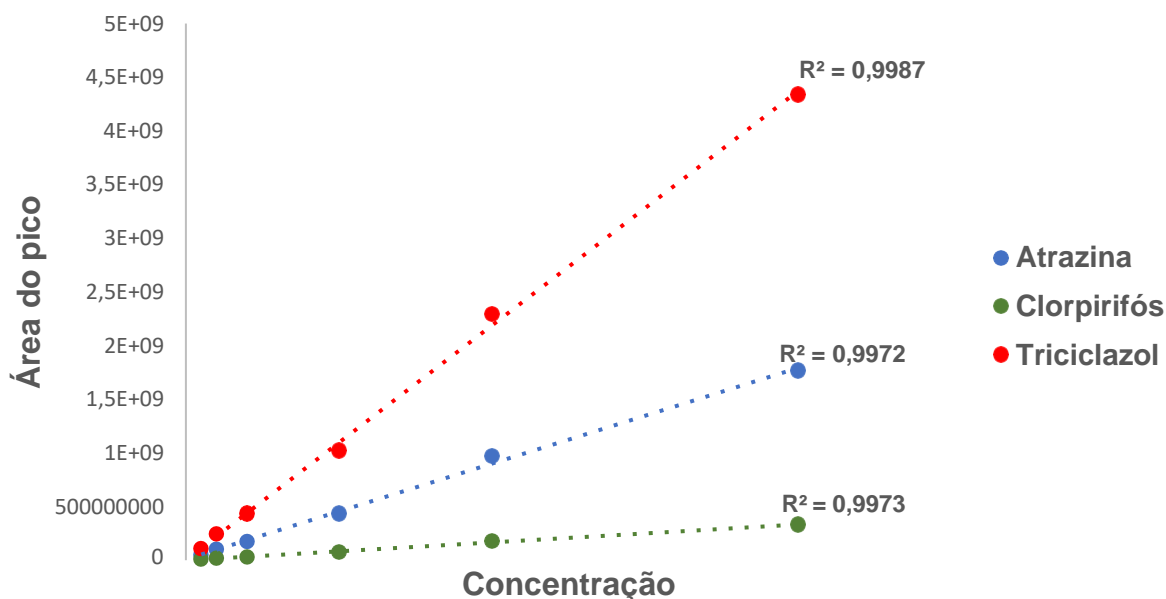


Fonte: Autor, 2024.

5.5.2 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada por meio da aplicação da regressão linear aos pontos da curva analítica e a partir da verificação do coeficiente de determinação (r^2). Foram preparados seis pontos para as curvas a serem injetadas em triplicata, obtendo uma faixa linear de $0,5$ a $20 \mu\text{g L}^{-1}$. A Figura 16 apresenta as curvas analíticas obtidas para os analitos atrazina, clorpirifós e triciclazol.

Figura 16 – Curvas analíticas para os analitos atrazina, clorpirifós e triciclazol.



Fonte: Autor, 2024.

A partir dos dados gerados, foram obtidas as equações de reta e a linearidade para cada um dos compostos, desta forma, foi possível constatar que a linearidade de todos os compostos foi adequada, visto que as curvas apresentaram $r^2 \geq 0,99$.

5.5.3 Exatidão, precisão e precisão intermediária

A exatidão e precisão do método, foram avaliados de acordo com os resultados de recuperação e RSD dos analitos, a Tabela 8 apresenta os valores das médias percentuais para a recuperação dos analitos e os RSDs obtidos a partir das septuplicatas das fortificações nas concentrações 0,02, 0,04, 0,2 e 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$. A precisão intermediária para os agrotóxicos foi avaliada nos mesmos níveis de fortificação, em dias diferentes e com sete replicatas cada. As recuperações foram calculadas a partir da curva analítica preparada em ACN:MeOH 1% ácido acético, com diluição de duas vezes em fase móvel. Como critério de aceitação do método, as recuperações devem apresentar valores de recuperação entre 40 e 120%, com RSD $\leq 30\%$ (INMETRO, 2021).

Tabela 8 – Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.

(continua)

Composto	Exatidão e Precisão ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7			
	Recuperação % (RSD %)				Recuperação % (RSD %)			
	0,02	0,04	0,2	0,8	0,02	0,04	0,2	0,8
Abamectina	178 (6)	110 (12)	71 (19)	57 (16)	154 (26)	93 (25)	64 (24)	54 (17)
Alacloro	118 (18)	105 (18)	117 (4)	100 (4)	114 (16)	106 (12)	113 (9)	101 (4)
Aldicarbe	117 (14)	116 (8)	114 (7)	97 (8)	119 (14)	107 (13)	109 (16)	81 (23)
Ametrina	114 (2)	106 (5)	117 (10)	92 (7)	115 (9)	106 (5)	107 (16)	92 (5)
Atrazina	95 (3)	99 (10)	118 (12)	97 (5)	97 (10)	99 (7)	112 (14)	95 (4)
Carbaril	110 (3)	108 (6)	119 (10)	98 (4)	106 (10)	105 (7)	112 (13)	96 (4)
Carbendazim	107 (4)	108 (5)	115 (4)	100 (4)	111 (10)	109 (5)	111 (10)	101 (4)
Carbofurano	105 (2)	103 (6)	118 (9)	97 (4)	108 (10)	102 (5)	110 (13)	94 (5)
Ciproconazol	103 (5)	101 (9)	116 (3)	93 (5)	104 (8)	103 (6)	111 (11)	93 (4)
Cletodim	65 (26)	44 (25)	78 (14)	68 (8)	60 (24)	55 (34)	66 (27)	54 (28)
Clorimurom etil	129 (12)	106 (6)	113 (10)	92 (7)	131 (9)	107 (5)	104 (15)	91 (5)
Clorpirifós	96 (7)	82 (10)	95 (9)	69 (8)	94 (13)	80 (9)	84 (20)	69 (6)
Clorpirifós-oxon	131 (14)	119 (8)	115 (0)	112 (11)	128 (12)	116 (7)	117 (2)	112 (8)
Cresoxim-metil	113 (9)	107 (6)	116 (4)	98 (2)	104 (15)	105 (8)	109 (11)	99 (4)
Desetil-atrazina	97 (10)	98 (6)	112 (7)	92 (12)	95 (14)	98 (10)	115 (5)	94 (8)

Tabela 8 – Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.

(continuação)

Composto	Exatidão e Precisão ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7			
	Recuperação % (RSD %)				Recuperação % (RSD %)			
	0,02	0,04	0,2	0,8	0,02	0,04	0,2	0,8
Desisopropil-atrazina	98 (10)	95 (11)	118 (10)	95 (5)	97 (11)	94 (9)	110 (15)	93 (5)
Diazinona	140 (30)	97 (11)	113 (7)	92 (12)	134 (23)	105 (13)	104 (19)	94 (9)
Difenoconazol	108 (6)	94 (12)	109 (13)	79 (16)	106 (11)	94 (7)	97 (23)	82 (12)
Diflubenzuron	118 (15)	119 (6)	119 (16)	108 (6)	117 (15)	115 (6)	113 (13)	107 (5)
Dimetoato	153 (23)	112 (8)	118 (10)	103 (4)	144 (19)	115 (4)	113 (12)	101 (5)
Diuron	91 (3)	98 (5)	116 (9)	93 (4)	85 (16)	92 (9)	110 (12)	92 (4)
Epoxiconazol	119 (10)	116 (7)	117 (9)	95 (5)	115 (11)	111 (7)	109 (14)	94 (4)
Etoxisulfuron	148 (28)	108 (5)	116 (9)	99 (6)	138 (23)	109 (7)	110 (11)	97 (5)
Fentiona	105 (8)	95 (8)	111 (3)	86 (5)	105 (13)	93 (8)	101 (16)	84 (5)
Fipronil	114 (7)	108 (9)	120 (8)	91 (8)	93 (29)	94 (22)	103 (21)	87 (8)
Flutriafol	76 (21)	85 (9)	116 (10)	96 (2)	74 (18)	89 (14)	109 (12)	92 (4)
Fomesafem	282 (35)	174 (16)	105 (5)	97 (13)	267 (34)	98 (81)	104 (21)	91 (18)
Hidroxi-atrazina	104 (7)	95 (50)	108 (25)	80 (8)	104 (8)	95 (7)	101 (19)	77 (13)
Imazetapir	107 (7)	109 (9)	115 (9)	98 (4)	108 (10)	108 (5)	109 (13)	96 (4)
Imidacloprido	123 (6)	114 (6)	119 (6)	99 (5)	132 (12)	116 (8)	111 (14)	97 (5)

Tabela 8 – Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.

(continuação)

Composto	Exatidão e Precisão ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7			
	Recuperação % (RSD %)				Recuperação % (RSD %)			
	0,02	0,04	0,2	0,8	0,02	0,04	0,2	0,8
Indoxacarbe	48 (19)	63 (10)	79 (9)	56 (21)	56 (26)	64 (16)	70 (24)	57 (18)
Malationa	92 (4)	102 (17)	118 (11)	99 (6)	101 (16)	106 (8)	111 (13)	97 (5)
Mesotriona	119 (12)	103 (6)	113 (9)	93 (8)	107 (22)	92 (26)	103 (19)	73 (30)
Metalaxil	97 (3)	99 (28)	115 (13)	97 (4)	94 (11)	98 (5)	110 (11)	96 (4)
Metamitrona	136 (8)	115 (6)	117 (5)	114 (5)	140 (12)	115 (2)	117 (5)	111 (8)
Metidationa	97 (6)	105 (2)	118 (2)	100 (5)	104 (15)	105 (8)	112 (13)	98 (5)
Metolacloro	210 (5)	118 (7)	107 (12)	116 (11)	170 (27)	117 (7)	110 (10)	114 (8)
Metribuzim	178 (20)	119 (10)	119 (14)	115 (17)	163 (27)	118 (10)	118 (13)	118 (15)
Metsulfuron metil	134 (11)	113 (10)	108 (14)	92 (8)	143 (12)	110 (10)	103 (13)	92 (6)
Molinato	120 (9)	100 (8)	118 (7)	98 (6)	119 (13)	105 (8)	111 (12)	100 (6)
Picoxistrobina	148 (1)	108 (13)	118 (10)	102 (7)	139 (11)	113 (7)	112 (13)	103 (6)
Profenofós	89 (12)	88 (10)	114 (9)	86 (8)	98 (16)	93 (9)	103 (19)	87 (6)
Propargito	95 (8)	83 (4)	92 (13)	65 (22)	94 (14)	83 (20)	80 (24)	68 (18)
Protioconazol-destio	117 (10)	117 (7)	110 (10)	103 (11)	115 (14)	119 (8)	112 (9)	111 (9)
Simazina	104 (9)	99 (29)	115 (9)	99 (5)	105 (9)	98 (8)	111 (8)	96 (6)

Tabela 8 – Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.

(conclusão)

Composto	Exatidão e Precisão ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g L}^{-1}$), n=7			
	Recuperação % (RSD %)				Recuperação % (RSD %)			
	0,02	0,04	0,2	0,8	0,02	0,04	0,2	0,8
Tebuconazol	100 (5)	104 (7)	117 (4)	93 (5)	102 (8)	102 (15)	109 (15)	92 (4)
Terbufós	127 (13)	98 (8)	104 (9)	84 (9)	125 (26)	92 (18)	91 (22)	81 (13)
Tetraconazol	146 (4)	105 (13)	118 (13)	92 (5)	102 (48)	94 (6)	109 (15)	89 (4)
Tiametoxam	118 (11)	105 (18)	118 (1)	96 (4)	114 (10)	104 (9)	110 (16)	96 (4)
Tiodicarbe	116 (10)	112 (7)	116 (15)	97 (5)	117 (9)	109 (5)	108 (13)	95 (4)
Triciclazol	106 (4)	97 (8)	117 (3)	92 (5)	106 (11)	96 (9)	107 (15)	89 (5)

Fonte: Autor, 2024

Conforme o exposto, os ensaios apresentaram resultados aceitáveis de recuperação, LOD e LOQ para os compostos avaliados, visto que estes atendem às normas descritas no DOQ-CGRE-008 (INMETRO, 2021). A partir da Tabela 8, é possível observar também os limites de quantificação para os compostos, observando a partir de qual nível de fortificação cada um deles passou a apresentar recuperação satisfatória (entre 40 e 120%) e desvio padrão relativo dentro do estabelecido (RSD <30%).

5.5.4 Limites de detecção e de quantificação

O LOQ no método foi de 0,02 a 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, para todos os analitos e o LOD foi calculado a partir da divisão do valor de LOQ por 3,33. Os valores de LOD variaram de 0,006 a 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$. A Tabela 9 apresenta os valores obtidos de LOQ e LOD para os compostos em estudo. Os valores de LOQ obtidos durante a validação do método proposto encontram-se abaixo daqueles estabelecidos pelas portarias de potabilidade da água (SES/RS, 2014; MS, 2021).

Tabela 9 – Limites de quantificação (LOQ) e limites de detecção (LOD) para os compostos em estudo.

Compostos	LOD $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ $\mu\text{g L}^{-1}$
Alacloro, Aldicarbe, Ametrina, Atrazina, Carbaril, Carbendazim, Carbofurano, Ciproconazol, Cletodim, Clorpirifós, Cresoxim-metil, Desetil-atrazina, Desisopropil-atrazina, Difenoconazol, Diflubenzuron, Diurom, Epoxiconazol, Fentiona, Fipronil, Flutriafol, Hidroxi-atrazina, Imazetapir, Indoxacarbe, Malationa, Mesotriona, Metalaxil, Metidationa, Molinato, Profenofós, Propargito, Protioconazol-destio, Simazina, Tebuconazol, Tiametoxam, Tiodicarbe, Triciclazol	0,006	0,02
Abamectina, Clorimurom etil, Clorpirifós-oxon, Diazinona, Dimetoato, Etoxissulfurom, Imidacloprido, Metamitrona, Metolacloro, Metribuzim, Metsulfurom-metil, Picoxistrobina, Terbufós, Tetraconazol	0,01	0,04
Fomesafem	0,06	0,2

Fonte: Autor, 2024.

5.6 APLICAÇÃO DO MÉTODO

Após a validação, o método desenvolvido foi aplicado para amostras reais, as amostras de água foram coletadas nas regiões central e sul do estado do Rio Grande do sul., totalizando 30 amostras. Quando necessário, o pH das amostras foi ajustado para a faixa de 6,0, com solução de NaOH pH 9 ou H₂PO₄ 5% (v/v), de acordo com a necessidade. Dentre as 31 amostras analisadas, 25 apresentaram resíduos de agrotóxicos. A Tabela 10 apresenta os valores de concentração encontrados nas amostras analisadas. Os agrotóxicos e amostras que não apresentaram contaminação em nenhum nível foram omitidos. O anexo A apresenta a tabela completa para as 30 amostras e 51 compostos analisados neste estudo.

Tabela 10 – Tabela condensada das concentrações de agrotóxicos encontradas nas amostras analisadas.

(continua)

Compostos	A1	A3	A4	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A14	A15
Atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	0,155	n.d.	<LOQ
Carbendazim	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,099
Ciproconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.
Desetil-atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,022	n.d.	n.d.
Desisopropil-atrazina	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,149	n.d.	n.d.
Diazinona	0,049	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Diuron	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ
Fipronil	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Hidroxi-atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,030	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ
Imazetapir	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,047	<LOQ	n.d.	n.d.	0,021	n.d.	n.d.
Imidacloprido	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.
Malationa	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,094
Mesotriona	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metamitrona	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.
Metolaclo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,174	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.
Metribuzim	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metsulfuron metil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Picoxistrobina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Protioconazol-destio	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	0,049	n.d.	n.d.
Simazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tebuconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	0,041	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ
Tetraconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiametoxam	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	0,110	n.d.	<LOQ
Triciclazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	0,025	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Tabela 10 – Tabela condensada das concentrações de agrotóxicos encontradas nas amostras analisadas.

(conclusão)

Compostos	A16	A19	A20	A21	A22	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30
Atrazina	0,166	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	0,021
Carbendazim	n.d.	n.d.	0,035	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
Ciproconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,031	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Desetil-atrazina	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Desisopropil-atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ
Diazinona	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Diuron	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Fipronil	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Hidroxi-atrazina	0,020	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	0,063	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ
Imazetapir	0,022	n.d.	<LOQ	0,171	n.d.	0,021	0,271	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Imidacloprido	0,049	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Malationa	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mesotriona	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metamitrona	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.
Metolaclo	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metribuzim	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,058	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metsulfuron metil	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Picoxistrobina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Protioconazol-destio	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
Simazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tebuconazol	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,127	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
Tetraconazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiametoxam	0,068	n.d.	0,024	0,064	<LOQ	0,035	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	0,025
Triciclazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d: não detectado

Fonte: Autor, 2024.

De acordo com a legislação vigente, os agrotóxicos e seus respectivos metabólitos devem ser avaliados de forma que a soma da concentração total das espécies esteja de acordo com o estabelecido, neste caso, para atrazina e seus metabólitos (dos presentes neste estudo), a soma total em cada amostra em que foram encontrados, foi bastante inferior ao VMP estabelecido em lei, desta forma, as concentrações encontradas para os analitos nas amostras de água, são inferiores aos VMP estabelecidos nas portarias SES RS nº 320, de 28 de abril de 2014 e GM/MS Nº 888 de 4 de maio de 2021.

Durante o desenvolvimento deste estudo, foi possível validar um método multirresíduo para 51 dos compostos presentes nas legislações vigentes, possibilitando o atendimento de parte de ambas as portarias que definem os valores máximos permitidos, totalizando 75% dos compostos presentes na portaria Nº 888 de 4 de maio de 2021 e 65% daqueles constantes na portaria Nº 320 de 28 de abril de 2014.

As presentes legislações abrangem os principais agrotóxicos utilizados no país, bem como aqueles que apresentam grande risco para a saúde humana, tal como 2,4-D, atrazina, mancozebe, acefato, clorotalonil, clorpirifós e glifosato, no entanto, o método desenvolvido não possibilitou a determinação de alguns destes ingredientes ativos, tais como glifosato, mancozebe e clorotalonil, tendo em vista que alguns destes compostos exigem métodos dedicados para sua determinação.

Não foi possível obter as transições dos metabólitos aldicarbe sulfona, aldicarbe sulfóxido e desetil-desisopropyl-atrazina durante o desenvolvimento deste estudo. Alguns trabalhos presentes na literatura já se mostraram capazes de analisar tais compostos (BALKAN, *et al.* 2023; WANG, *et al.* 2020), de acordo com trabalhos anteriores, para os compostos supracitados, modificações na fase móvel e em seu gradiente poderiam possibilitar a recuperação destes metabólitos. Não foi possível encontrar metodologias descritas na literatura que possibilitem estimar com confiança e exatidão a proporção de metabólitos em relação aos compostos originários em estudo.

Enquanto a maioria das metodologias descritas na literatura exige uma etapa adicional de evaporação do solvente para atingir concentrações da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (conforme apresentado na Tabela 3), a metodologia desenvolvida neste estudo apresentou capacidade de alcançar níveis de concentração, em alguns casos, até

superiores aos descritos em artigos anteriores, sem a necessidade de utilizar solventes altamente tóxicos e sem recorrer a uma etapa de evaporação de solventes. Esta abordagem reduz significativamente a manipulação das amostras, o tempo de preparo e o consumo de materiais, resultando em uma redução substancial nos custos associados ao processo analítico.

Dentre todos os agrotóxicos estudados durante o desenvolvimento deste trabalho, imidacloprido teve mais aparições, sendo ao menos detectado em 13 das 25 amostras que apresentaram contaminação. Estando abaixo do LOQ na maioria dos casos e sendo detectado em sua totalidade em amostras de águas superficiais. O imidacloprido é um inseticida sistêmico utilizado em uma ampla faixa de cultivares, como frutas, cereais e grãos (ANVISA, 2024). Os fatores que afetam a presença deste contaminante em águas superficiais somente poderá ser constatado a partir do estabelecimento de estudos de monitoramento dos corpos hídricos em questão.

A constatação da presença de agrotóxicos em amostras de águas tratadas é de fato, preocupante. Os tratamentos convencionais pelos quais a água passa, não são capazes de eliminar tais substâncias, nesses casos, podem ocorrer transformações bioquímicas e fotoquímicas que modifiquem a estrutura destes compostos, assim, sua toxicidade pode ser modificada, podendo diminuir ou aumentar o efeito tóxico sobre os seres vivos.

6. CONCLUSÕES

O método otimizado nesse estudo, mostrou-se eficaz para a determinação de 51 resíduos de agrotóxicos em amostras de água destinadas à potabilidade. O sorvente Oasis® HLB 60 mg/3 mL com percolação de amostras em pH 6,0 e eluição de 2 mL apresentou os melhores resultados na recuperação dos compostos em estudo. A utilização de sistema UHPLC-MS/MS possibilitou a obtenção de resultados confiáveis quanto à seletividade, detectabilidade e precisão durante a validação do método.

O método desenvolvido foi validado de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo INMETRO (2021), a linearidade foi avaliada através de curvas analíticas preparadas na solução de extração com diluição em fase móvel 1:1, nos níveis de concentração 0,5; 1; 2; 5; 10; e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Através dos ensaios de fortificação, foi possível avaliar a exatidão do método, apresentando recuperações dentro da faixa aceitável de 40 a 120 % para a maioria dos ensaios, com valores de RSD inferiores a 30%. O método apresentou valores de LOD de 0,006 a 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de 0,02 a 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os compostos, exceto para fomesafem, o qual apresentou LOD de 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo os valores de LOD e LOQ obtidos no método validado, menores que os VMP estabelecidos na legislação nacional vigente.

O método validado apresentou-se eficiente para analisar amostras de água de diversas origens, sendo constatada a contaminação por agrotóxicos em 25 das 30 amostras analisadas, estando os valores encontrados, dentro dos VMP estabelecidos por lei.

Todos os resíduos gerados durante o desenvolvimento deste trabalho, foram armazenados em recipientes adequados e encaminhados ao almoxarifado do departamento de química da UFSM. O departamento é responsável pela destinação adequada dos resíduos sólidos e líquidos, sendo este posteriormente encaminhado à uma empresa especializada nessa área.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Ampliar o escopo de agrotóxico a serem analisados na matriz água por UHPLC-MS/MS;
- ✓ Desenvolver um método adequado de análise cromatográfica por GC-MS/MS para os compostos delimitados na legislação, bem como para expandir o escopo para aqueles de elevada aplicação no cenário nacional;
- ✓ Avaliar outros sorventes disponíveis comercialmente;
- ✓ Avaliar a possibilidade de produção de sorventes em laboratório;
- ✓ Avaliar a possibilidade de redução do volume de amostra utilizada;
- ✓ Avaliar a eficiência de outros métodos de concentração e extração dos analitos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Uso da água de na agricultura de sequeiro no Brasil (2013 – 2017)**. Brasília: ANA, 2020.

AGILENT TECHNOLOGIES. **Sample preparation fundamentals for chromatography**. Canada, 2013.

ANVISA. Monografias Autorizadas: **Imidacloprido**. 2024.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR ISO/IEC 17025:2017**: Requisitos gerais para a competência dos laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2017.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements**. Gaithersburg, 2016.

BALKAN, Tarik *et al.* Determination of pesticide residues in almonds by LC-MS/MS and GC-MS: A study of method validation and matrix effects. **Food Chemistry Advances**. v.3, n. 100442, p. 1-12, 2023.

BARCELÓ, Damià *et al.* **Trace determination of pesticides and their degradation products in water**. 2. Ed. Amsterdam: ELSEVIER, 2003.

BARSANO, Paulo Roberto; JAPI, Viviane. **Biologia ambiental**. 2. Ed. São Paulo: Érica, 2017.

BORGES, Keyller Bastos *et al.* **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. 1. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BOYD, Claude E. **Water quality**: An introduction. 2. Ed. Auburn: Springer, 2015.

BURATO, Juliana Soares da Silva *et al.* Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. **Journal of Separation Science**. v. 43, n.1 p. 202-22, 2019.

CAMPAGNOLLA, Clayton; MACÊDO, Manoel Moacir Costa. Revolução Verde: passado e desafios atuais. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. V. 39, n. 1, p. 1-18, 2022.

CASA CIVIL. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Decreto nº 4.070, de 4 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. **PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA**, Brasília, 4 jan. 2002. Disponível em: <

https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074compilado.htm> Acesso em: 18 mar. 2023.

CHAMBERLAIN, Gary L. **Troubled waters**: religion, ethics, and the global water crisis. 1. Ed. Lanham: Rowman & Littlefield Publishers, INC, 2008.

CHEN, Feng *et al.* Method validation for simultaneous quantification of some high-risk pesticides in surface water samples by SPE-LC-MS/MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v.104, n. 5, p. 1-13, 2022.

CHIARADIA, Mariza C., COLLINS, Carol H., JARDIM, Isabel, 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, n. 3, p. 623-636, 2008.

CÍCERO, Marco Túlio. **Sobre as leis (De Legibus)**. Juiz de Fora: Editora UFJF, 2021.

COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Fundamentos de Cromatografia**. 1. Ed. Campinas: Editora Unicamp, 2006.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – ESALQ/USP. **PIB do agronegócio cresce no segundo trimestre e acumula alta de 0,5% em 2023**. São Paulo, 2024.

DANIEL, Daniela Silveira *et al.* Utilização de agrotóxicos e desenvolvimento rural sustentável no oeste do Paraná: alternativas, perspectivas e desafios. **Revista Fitos**. v.14, n.1, p. 12-22, 2020.

DUGHERI, Stefano, *et al.* A review of micro-solid-phase extraction techniques and devices applied in sample pretreatment coupled with chromatographic analysis. **Acta Chromatographica**. v. 33, n. 2, p. 99-111, 2021.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **O agro no Brasil e no mundo**: um panorama do período de 2000 a 2021. Brasília, 2018.

EURACHEM. **The fitness for purpose of analytical methods**: A laboratory guide to method validation and related topics. 2. Ed. CIDADE, 2014.

FU, Huanxuan *et al.* Simultaneous detection of topramezone, atrazine, and atrazine metabolite residues in environmental water by large-volume SPE-UPLC-MS/MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v. 192, n. 1, p. 1-9, 2022.

GABINETE DO MINISTRO. Portaria GM/MS Nº 888 de 4 de maio de 2021. Altera o anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 4 mai. 2021. Disponível em

<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html>
Acesso em 15 jun. 2022.

GAMERO-CASTAÑO, Manuel; CISQUELLA-SERRA, Albert. Electrosprays of highly conducting liquids: A study of droplet and ion emission based on retarding potential and time-of-flight spectrometry. **Physical review fluids**. v. 6, n. 1, p. 1-20, 2021.

GANAIE, M. Imran *et al.* Health risk assessment of pesticide residues in drinking water of upper Jhelum region in Kashmir valley-India by GC-MS/MS. **International Journal of Analytical Chemistry**. v. 2023, n. 1, p. 1-16, 2023.

GANG, Zheng *et al.* Application of novel adsorbents synthesized with polypyrrole in magnetic solid-phase extraction of fungicides from fresh juice and environmental water. **Food Chemistry**. v. 437, n. 1, p. 1-7, 2024.

GERAMIZADEGAN, Alizera; GHAZANFARI, Dadkhoda; AMIRI, Aliasghar. Determination of amount herbicide toxic fenpyroximate in surface water by analysis molecularly imprinted solid phase extraction method and relative error assessment using artificial neural network model. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v. 103, n. 20, p. 9002-9018, 2023.

HERNÁNDEZ, Félix *et al.* Efficient validation strategies in environmental analytical chemistry: A focus on organic micropollutants in water samples. **Annual Review of Analytical Chemistry**. v. 16, n. 1, p. 401-428, 2023.

IBRAHIM, Haruna; MAITERA, O. N. Determination of organochlorine pesticides residues in water, fish and sediment samples from River Tella, Gassol, Taraba State, Nigeria. **International Journal of Scholarly Research in Science Technology**. v. 2, n. 1, p. 19-27, 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola: estatística da produção agrícola**. Brasília, 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Áreas Territoriais**. Brasília, 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Atlas Nacional Digital do Brasil**. Brasília: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/apps/atlas_nacional/#/home> Acesso em: 19 out.2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **IBGE atualiza dados geográficos de estados e municípios brasileiros**. Brasília, 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS - IBAMA. **Painéis de informações de agrotóxicos**. Brasília, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao>> Acesso em: 20 dez. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS - IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Brasília, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>> Acesso em: 20 dez. 2023.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. Rodrigo Fracalossi de Moraes. **Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. Brasília, 2019.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER - INCA. **Exposição no trabalho e no ambiente. Agrotóxico**. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA – INMETRO. **DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo – rev. 09. Duque de Caxias: INMETRO – Coordenação geral de Acreditação, 2021.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY - IUPAC. **IUPAC compendium of chemical terminology**. 3. Ed. Versão online, 2019. Disponível em: < <https://goldbook.iupac.org/>> Acesso em 18 mar. 2023.

ISSAKA, Eliasu *et al.* Advanced visual sensing techniques for on-site detection of pesticide residues in water environments. **Heliyon**. v. 9, n. 3, p. 1-32, 2023.

KRUG, Francisco José *et al.* **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. 2. Ed. São Paulo: EditSBQ, 2019.

LANÇAS, Fernando Mauro. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RiMa Editora, 2004.

LANÇAS, Fernando Mauro. **Cromatografia líquida moderna**. 2. Ed. Campinas: Editora Átomo, 2016.

LANÇAS, Fernando Mauro. **Análise de resíduos e contaminantes em alimentos de origem animal**. Campinas: Editora átomo, 2023.

LANÇAS, Fernando Mauro. **Espectrometria de massas: Fundamentos, instrumentação e aplicações**. 1. Ed. Campinas: Editora Átomo, 2019.

LARINI, Lourival. **Toxicologia dos praguicidas**. 1. Ed. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1999.

LI, Wanting *et al.* Occurrence, spatiotemporal distribution patterns, portioning and risk assessments of multiple pesticide residues in typical estuarine water environments in eastern China. **Water Research**. v. 245, n. 1, p. 1-15, 2023.

ŁUKASZEWICZ, Paulina; STEPNOWSKI, Piotr; HALIŃSKI, Łukaz P. The first fully automated SPE-LC-MS/MS for determination of new-generation neonicotinoids in surface water samples. **Chemosphere**. v. 310, n. 1, p. 1-8, 2022.

MANDAL, Swagata *et al.* Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: Challenges and anticipations. **Journal of Chromatography B**. v. 1215, n. 1, p. 1-25, 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Visão 2030: O futuro da agricultura brasileira**. Brasília, 2018.

MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO E DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL. Agência Nacional de águas e Saneamento Básico (ANA). **Água no mundo**. Brasil, 2023.

MOJIRI, Amin *et al.* Pesticide in aquatic environments and their removal by adsorption methods. **Chemosphere**. v. 253, n.126646 p.1-24 2020.

NECIBI, Mouna; MZOUGH, Nadia. Determination of organochlorine pesticides in the surface water from Medjera river, Tunisia. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v. 103, n. 1, p. 1-12, 2020.

NECIBI, Mouna; MZOUGH, Nadia. Comparative evaluation of solid-phase extraction and in-tube liquid-liquid extraction for the determination of organophosphorus pesticides in the surface water from Medjera River, Tunisia. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**. v. 46 n. 6 p. 127-137, 2023.

OLIVARES, Igor Renato Bertoni. **Gestão de qualidade em laboratórios**. 4. Ed. Campinas: Editora Átomo, 2019.

PELLINCER-CASTELL, Enric. Mesoporous silica sorbent with gold nanoparticles for solid-phase extraction of organochlorine pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**. v. 1662, n. 1, p. 1-10, 2021.

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, n. 10, p. 3281-3293, 2017.

PRUKJAREONCHOOK, Anna *et al.* A selective and sensitive colorimetric method for semi-automated solid-phase extraction of atrazine in environmental water samples. **Microchemical Journal**. v. 186, n. 1, p. 1-9, 2022.

REICHARDT, Klaus; TIMM, Luís Carlos. **Água e sustentabilidade no sistema solo-planta-atmosfera**. 1. Ed. Barueri: Editora Manole Ltda., 2016.

RIBEIRO, Luiz Augusto de Oliveira *et al.* Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil (2009-2019): Riscos, benefícios e alternativas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**. v.10, n. 2, p. 189-203, 2022.

SALIMOV, Yunus. Toxic effects of pesticides on human and animals. **Journal of Aquaculture and Technical Development**. v. 4, n. 1, p. 1-5, 2021.

SANTÉ ET PROTECTION DES CONSOMMATEURS. **Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. European Commission, 2021.

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.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201705/11110603-portaria-agrotoxicos-n-320-de-28-de-abril-de-2014.pdf>> Acesso em 15 jun. 2022.

SILVERSTEIN, Robert M. *et al.* **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2019.

SKOOG, Douglas A. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

SOUSA, Jonas da Silva *et al.* Pesticide residues in groundwater and surface water: recent advances in solid-phase extraction and solid-phase microextraction sample preparation methods for multiclass analysis by gas chromatography-mass spectrometry. **Microchemical Journal**. v. 168, n. 1, p. 1-15, 2021.

SPADOTTO, Claudio Aparecido. **Influência das condições meteorológicas no transporte de agrotóxicos no ambiente**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006.

TAN, Huadong *et al.* Pesticide residues in agricultural topsoil from the Hainan tropical riverside basin: Determination, distribution, and relationships with planting patterns and surface water. **Science of The Total Environment**. v. 722, n. 1, p. 1-12, 2020.

UNITED NATIONS. **Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals (GHS)**. New York e Geneva, 2021.

VELKOSKA-MARKOVSKA, Lenche; PETANOVSKA-ILIEVSKA, Biljana; MARKOVSKI, Aleksandar. Application of RP-HPLC method for the analysis of some pesticide residues in water samples. **Acta Scientific Agriculture**. v. 7, n. 1, p. 63-69, 2022.

VOGEL, Arthur Israel. **Análise química quantitativa**. 6. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2022.

WANG, Xiaochun; LIU, Qinglong. Spatial and temporal distribution characteristics of triazine herbicides in typical agricultural regions of Liaoning, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. v. 105, n. 1, p. 899-905, 2020.

YUAN, Yuan-Yuan *et al.* Green approach for simultaneous determination of multi-pesticide residues in environmental water samples using excitation-emission matrix

fluorescence and multivariate calibration. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 228, n. 1, p. 1-24, 2020.

ZÜLLIG, Thomas; TRÖTZMÜLLER, Martin; KÖFELER, Harald C. Lipidomics from sample preparation to data analysis: a primer. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 412, n. 1, p. 2191-2209, 2020.

ANEXO A – TABELA COMPLETA DAS CONCENTRAÇÕES DE AGROTÓXICOS ENCONTRADAS NAS AMOSTRAS

(continua)

Nº	Compostos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
1	Abamectina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
2	Alacloro	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
3	Aldicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4	Ametrina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5	Atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	0,1553
6	Carbaril	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
7	Carbendazim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
8	Carbofurano	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
9	Ciproconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ
10	Cletodim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
11	Clorimurom etil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
12	Clorpirifós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
13	Clorpirifós-oxon	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
14	Cresoxim-metil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
15	Desetil-atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,0218
16	Desisopropil-atrazina	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,149
17	Diazinona	0,0489	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
18	Difenoconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
19	Diflubenzuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
20	Dimetoato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
21	Diuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ
22	Epoxiconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
23	Etoxisulfuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
24	Fentiona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
25	Fipronil	<LOQ	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

(continuação)

Nº	Compostos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12
26	Flutriafol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
27	Fomesafem	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
28	Hidroxi-atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,0297	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ
29	Imazetapir	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,0474	<LOQ	N.D	N.D	0,0213
30	Imidacloprido	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ
31	Indoxacarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
32	Malationa	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
33	Mesotriona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
34	Metalaxil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
35	Metamitrona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
36	Metidationa	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
37	Metolaclo-ro	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0,174	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ
38	Metribuzim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
39	Metsulfuron metil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
40	Molinato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
41	Picoxistrobina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
42	Profenofós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
43	Propargito	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
44	Protioconazol-destio	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	<LOQ	0,0493
45	Simazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D
46	Tebuconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	0,041	N.D	N.D	<LOQ
47	Terbufós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
48	Tetraconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
49	Tiametoxam	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	0,11
50	Tiodicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
51	Triciclazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	0,0251	N.D	N.D	N.D

(continuação)

Nº	Compostos	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22
1	Abamectina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
2	Alacloro	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
3	Aldicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4	Ametrina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5	Atrazina	N.D	N.D	<LOQ	0,166	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D
6	Carbaril	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
7	Carbendazim	N.D	N.D	0,0992	N.D	N.D	N.D	N.D	0,0355	N.D	N.D
8	Carbofurano	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
9	Ciproconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
10	Cletodim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
11	Clorimurom etil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
12	Clorpirifós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
13	Clorpirifós-oxon	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
14	Cresoxim-metil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
15	Desetil-atrazina	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
16	Desisopropil-atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
17	Diazinona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
18	Difenoconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
19	Diflubenzuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
20	Dimetoato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
21	Diuron	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
22	Epoxiconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
23	Etoxisulfuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
24	Fentiona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
25	Fipronil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D

(continuação)

Nº	Compostos	A13	A14	A15	A16	A17	A18	A19	A20	A21	A22
26	Flutriafol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
27	Fomesafem	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
28	Hidroxi-atrazina	N.D	N.D	<LOQ	0,0202	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D
29	Imazetapir	N.D	N.D	N.D	0,0221	N.D	N.D	N.D	<LOQ	0,1712	N.D
30	Imidacloprido	N.D	N.D	N.D	0,0485	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	<LOQ
31	Indoxacarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
32	Malationa	N.D	N.D	0,0937	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
33	Mesotriona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
34	Metalaxil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
35	Metamitrona	N.D	<LOQ	N.D	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D
36	Metidationa	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
37	Metolaclo	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D
38	Metribuzim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D
39	Metsulfuron metil	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D
40	Molinato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
41	Picoxistrobina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
42	Profenofós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
43	Propargito	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
44	Protioconazol-destio	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D
45	Simazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
46	Tebuconazol	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	<LOQ
47	Terbufós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
48	Tetraconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
49	Tiametoxam	N.D	N.D	<LOQ	0,0682	N.D	N.D	N.D	0,0242	0,0642	<LOQ
50	Tiodicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
51	Triciclazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

(continuação)

Nº	Compostos	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30
1	Abamectina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
2	Alacloro	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
3	Aldicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4	Ametrina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
5	Atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	0,0213
6	Carbaril	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
7	Carbendazim	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D
8	Carbofurano	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
9	Ciproconazol	0,0307	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
10	Cletodim	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
11	Clorimurom etil	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
12	Clorpirifós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
13	Clorpirifós-oxon	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
14	Cresoxim-metil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
15	Desetil-atrazina	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
16	Desisopropil-atrazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ
17	Diazinona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
18	Difenoconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
19	Diflubenzuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
20	Dimetoato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
21	Diuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
22	Epoconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
23	Etoxisulfuron	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
24	Fentiona	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
25	Fipronil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
26	Flutriafol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

(continuação)

Nº	Compostos	A23	A24	A25	A26	A27	A28	A29	A30
27	Fomesafem	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
28	Hidroxi-atrazina	<LOQ	0,0634	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ
29	Imazetapir	0,0212	0,2711	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
30	Imidacloprido	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
31	Indoxacarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
32	Malationa	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
33	Mesotriona	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
34	Metalaxil	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
35	Metamitrona	<LOQ	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D	<LOQ	<LOQ	N.D
36	Metidationa	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
37	Metolaclo	<LOQ	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
38	Metribuzim	N.D	0,0577	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
39	Metsulfuron metil	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
40	Molinato	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
41	Picoxistrobina	<LOQ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
42	Profenofós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
43	Propargito	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
44	Protioconazol-destio	N.D	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D
45	Simazina	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
46	Tebuconazol	0,1267	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	N.D
47	Terbufós	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
48	Tetraconazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
49	Tiametoxam	0,0347	N.D	N.D	N.D	<LOQ	N.D	N.D	0,0255
50	Tiodicarbe	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
51	Triciclazol	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D