



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

**ESTUDO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA  
DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS POR SPE E GC-MS/MS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Alessandro Hermann**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2013**

# **ESTUDO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS POR SPE E GC-MS/MS**

**por**

**Alessandro Hermann**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE EM QUÍMICA**.

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Martha Bohrer Adaime**

Santa Maria, RS, Brasil

2013

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

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

**ESTUDO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE  
AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS POR SPE E GC-MS/MS**

Elaborada por

**Alessandro Hermann**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Prof.<sup>a</sup>. Dra. Martha Bohrer Adaime - Orientadora**  
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

---

**Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel**  
Universidade Federal do Rio Grande - FURG

---

**Prof. Dr. Roger Wagner**  
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Santa Maria, 30 de Julho de 2013

Dedico este trabalho

a DEUS pelo dom da Vida  
à minha mãe **Loreni**,  
aos meus avós Protásio e Amélia  
pelo amor incondicional,  
pelo apoio, fortaleza, orações  
por criar condições e o alicerce  
que sustentou esta caminhada  
por acreditar que era possível chegar  
a minha tia Roseli,  
pelo amor, carinho e apoio.  
Pelas incansáveis orações,

Minha eterna gratidão e respeito!

Eu amo imensamente vocês!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pelo gosto aos estudos, por ser mais que o sustento nas mais cruéis tribulações, por certamente mais que ensinar e iluminar o caminho, no qual muitas vezes ao invés de caminhar ao nosso lado chega a nos carregar quando não mais aguentamos.

A minha família: minha mãe Loreni, meus avós Protásio e Amélia, que muito do seu tempo dedicaram para que minha formação fosse se constituindo da infância até agora, pelas horas de suas vidas dedicadas a minha, por todo amor que nunca conseguirei retribuir, a vocês o mais sólido alicerce para que qualquer construção possa ser erguida, por muito mais que palavra, pelo exemplo.

A minha tia Roseli, que muitas orações dedicou para que tudo sempre desse certo, pelo amor, pela força, por estar sempre na torcida, pela preocupação e por todo o carinho.

A toda a minha família que sempre esteve na torcida.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade de realização do curso.

À UNIJUÍ por possibilitar esta oportunidade, pelo apoio financeiro e ambiente de aprendizagem.

A minha orientadora professora Dra. Martha Bohrer Adaime, pela orientação competente, oportunidade, disponibilidade de tempo, atenção, amizade e paciência. Pela oportunidade deste aprendizado e de fazer parte do LARP.

Ao professor Dr. Renato Zanella, pelo auxílio, oportunidade, pelo incentivo, pela atenção dispensada, pelas trocas possibilitadas durante este tempo, pela paciência, amizade e disponibilidade.

Aos professores Dr. Manoel Leonardo Martins e Osmar Damian Prestes pela co-orientação, apoio, trocas de ideias, sugestões.

Aos professores Dr. Ednei Gilberto Primel e Dr. Roger Wagner, pela participação e sugestões a fim de enriquecer este trabalho.

A todos os colegas do LARP pela amizade, pelo incentivo, pelas ideias. Um especial agradecimento a Juliana e ao Filipe que deram sua contribuição auxiliando em diversos momentos.

Aos meus queridos colegas e amigos da Central Analítica, pelo suporte que sempre dispuseram em minha ausência, pela força, coragem que sempre me inspiraram, pois sei que muito mais que colegas a vocês todos cabe chamá-los de amigos, meu imenso agradecimento, sem palavras suficientes para agradecê-los: Ivanice, Lediane e Estéfani.

A minha colega e amiga Anagilda Bacarin Gobo, por todo exemplo, amizade, incentivo em toda esta caminhada, por me direcionar a este caminho e esta área, pelas trocas, conversas e apoio.

A meus amigos Fernanda e Kassiano pelo auxílio, disponibilidade suporte e amizade em todas as horas inclusive nas horas de aperto.

A minha amiga e comadre Fabiane, pelo incentivo, e pelo auxílio com as correções do português.

A todos os professores que contribuíram durante a minha formação neste programa e aos funcionários Ademir e Valéria que sempre prestaram auxílio.

Agradeço profundamente a cada um que participou desta jornada.

Meu mais sincero agradecimento!

"A coisa mais bela que podemos vivenciar é o mistério.  
Ele é fonte fundamental de toda verdadeira arte e de toda ciência. Aquele que não o conhece e não mais se maravilha, paralisado em êxtase, é como se estivesse morto: seus olhos estão fechados. Eu quero saber como Deus pensa. O resto... são detalhes." (Albert Einstein).

# RESUMO

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

## ESTUDO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS POR SPE E GC-MS/MS

AUTOR: ALESSANDRO HERMANN  
ORIENTADOR: MARTHA BOHRER ADAIME  
Santa Maria, 30 de julho de 2013.

A agricultura moderna passou a utilizar diferentes técnicas e insumos a fim de minimizar as perdas na produção e atender a demanda crescente por alimentos, aliando produtividade e rentabilidade. Entretanto, o uso indiscriminado desses diferentes insumos (agrotóxicos e fertilizantes) pode acarretar diversos prejuízos ambientais. Estudo desenvolvido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária referente ao mercado de agrotóxicos revela que no Brasil há ritmo de expansão no consumo, colocando o país em alerta no que confere a potencialização da contaminação ambiental oriunda do uso de agrotóxicos. O presente trabalho visa o estudo de método multirresíduo para determinação de agrotóxicos utilizando extração por fase sólida e quantificação por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas em série GC-(TQ)-MS/MS, bem como avaliar a armazenagem dos compostos diretamente nos cartuchos de extração em diferentes períodos de tempo. Para otimização do procedimento de extração, foi utilizado planejamento fatorial em estrela, avaliando três tipos de sorventes, Oasis<sup>®</sup> HLB, Strata C18 e Strata-X<sup>®</sup>, variando proporções de metanol em diclorometano, bem como diferentes valores de pH. O procedimento de extração otimizado consiste em utilização de cartucho SPE com o sorvente polimérico Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg/3mL, filtração da amostra com membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$ . Condicionamento do cartucho com 3 mL de metanol, seguido de 3 mL de água ultrapura e 3 mL de água ultrapura em pH (6,2). Percolação de 100 mL de amostra previamente acidificada em pH 6,2. Para eluição foi utilizada uma mistura de MeOH:DCM 45:55 (v,v), com duas adições de 1 mL, deixando dois minutos de contato com o sorvente antes da eluição. A avaliação das figuras de mérito para o método proposto foram satisfatórias, apresentando curvas analíticas lineares com  $r^2$  superiores a 0,99 na faixa de 5 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , apresentando valores de LOD<sub>m</sub> e LOQ<sub>m</sub> de 0,03 e 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Quando avaliada as recuperações foi encontrado valores entre 70 e 120% para 39 dos 43 agrotóxicos avaliados, com valores de precisão RSD  $\leq$  20%. O efeito matriz foi avaliado, mostrando-se superior a 10% para a maioria dos compostos. A aplicação do método foi realizada em 10 amostras de açudes de diferentes municípios da região Noroeste Colonial do Rio grande do Sul, sendo encontrado resíduo de agrotóxicos em oito delas. O método proposto mostrou ser eficaz para a determinação de resíduos de agrotóxicos por SPE e GC-(TQ)-MS/MS, sendo passível de utilização em análises de rotina.

Palavras-chave: Agrotóxicos, SPE, água, planejamento experimental, GC-MS

## ABSTRACT

Master Dissertation in Chemistry  
Postgraduate in Chemistry  
Federal University of Santa Maria

### STUDY METHOD FOR DETERMINATION OF PESTICIDE MULTIRESIDUE IN SURFACE WATERS BY SPE AND GC-MS/MS

AUTHOR: ALESSANDRO HERMANN  
ADVISOR: MARTHA BOHRER ADAIME  
Santa Maria, July 30<sup>th</sup>, 2013.

Modern agriculture started using different techniques and materials in order to minimize losses in production and meet the growing demand for food, combining productivity and profitability. However, the indiscriminate use of these different inputs (pesticides and fertilizers) can lead to several environmental damage. Study conducted by the National Agency for Sanitary Vigilance regarding the pesticide market in Brazil reveals that there pace of expansion in consumption, putting the country on alert in conferring the enhancement of environmental contamination arising from the use of pesticides. The present work aims to study multiresidue method for determination of pesticides using solid phase extraction and quantification by gas chromatography coupled to mass spectrometry in tandem GC-(TQ) -MS/MS, as well as evaluating the storage of compounds directly extraction cartridges in different time periods. To optimize the extraction procedure was used factorial planning, assessing three kinds of sorbents, Oasis<sup>®</sup> HLB, C18 Strata Strata-X<sup>®</sup> and varying proportions of methanol in methylene chloride as well as different pH values. The extraction procedure is optimized for use with the sorbent cartridge SPE Oasis<sup>®</sup> HLB polymeric mg/3mL 60, the sample filtered with 0.22 nylon membrane micrometers. Conditioning the cartridge with 3 mL of methanol followed by 3 mL of ultrapure water and 3 ml of ultrapure water at pH (6.2). Percolation 100 mL sample previously acidified to pH 6.2. For elution was used a mixture of MeOH: DCM 45:55 (v, v) with two additions of 1 mL, leaving two minutes of contact with the sorbent before elution. The assessment of figures of merit for the proposed method were satisfactory, with linear calibration curves with  $r^2$  greater than 0.99 in the range 5-200 mg L<sup>-1</sup>, with values of LODm LOQm and 0.03 and 0.10 mg L<sup>-1</sup>, respectively. When evaluated recoveries found values between 70 and 120% for 39 of the 43 pesticides evaluated with precision values RSD  $\leq$  20%. The matrix effect was evaluated and proved to be over 10% for most compounds. The application of the method was performed on 10 samples of dams in different cities of Colonial Northwest region of Rio Grande do Sul, found pesticide residues in eight. The method proved to be effective for the determination of pesticide residues by SPE and GC-(TQ) -MS/MS, being able to be used in routine analysis.

Keywords: Pesticides, SPE, water, experimental design, GC-MS/MS

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Formas de contaminação e dispersão dos agrotóxicos. Fonte: VEIGA, 2006. ....	28
<b>Figura 2</b> – Etapas envolvidas no processo de extração por SPE. Fonte: CALDAS et al., 2011) .....	46
<b>Figura 3</b> – Planejamento composto central em estrela (adaptado de NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).....	50
<b>Figura 4</b> – Planejamentos compostos centrais: (a) $k = 2$ e $\alpha=1,414$ , (b) $k = 3$ e $\alpha=1.682$ . (●) planejamento fatorial, (■) pontos axiais e (○) ponto central (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). ....	51
<b>Figura 5</b> – Sistema de Extração em Fase Sólida (SPE).....	68
<b>Figura 6</b> – Cromatogramas de íons totais obtidos para a amostra “branco” (extrato da matriz) (A) e para o solvente acetonitrila (B). ....	77
<b>Figura 7</b> – Cromatogramas de íons totais obtidos por GC-(TQ)-MS/MS para a fortificação no extrato da matriz (A) e em solvente acetonitrila (B), para os agrotóxicos em estudo neste trabalho na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . ....	82
<b>Figura 8</b> – Cromatogramas e suas respectivas transições obtidas no modo MRM obtido por GC-(TQ)-MS/MS, a partir de fortificação no extrato da matriz na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para: trifluralina em (a), hexaclorobenzeno em (b) e diazinona em (c). ....	83
<b>Figura 9</b> – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Strata C18. ....	85
<b>Figura 10</b> – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Strata-X <sup>®</sup> . ....	85
<b>Figura 11</b> – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Oasis <sup>®</sup> HLB.....	86
<b>Figura 12</b> – Estrutura química do sorvente C18. ....	86
<b>Figura 13</b> – Estrutura química do sorvente Strata-X <sup>®</sup> .....	87
<b>Figura 14</b> – Estrutura química do sorvente Oasis <sup>®</sup> HLB .....	88

<b>Figura 15</b> – Recuperação dos compostos para a melhor condição obtida através da superfície de resposta para cada um dos três sorventes avaliados. ....	89
<b>Figura 16</b> – Esquema do Procedimento de Extração para determinação dos agrotóxicos.....	91
<b>Figura 17</b> – Curvas analíticas preparadas no extrato da matriz e em solvente orgânico (acetonitrila), para os agrotóxicos: (A) beta endossulfan e (B) pirimifós etílico obtidas por GC-(TQ)-MS/MS.....	108
<b>Figura 18</b> – Cromatogramas e suas respectivas transições obtidas no modo MRM para 3 compostos encontrados na amostra 04, sendo: metidationa em (a), 4,4-DDE em (b) e endossulfan sulfato em (c). ....	109

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Classificação dos Agrotóxicos quanto a categorias e toxicidade.....	25
<b>Tabela 2</b> – Disponibilidade hídrica e vazões médias. ....	32
<b>Tabela 3</b> – Compostos selecionados para estudo e informações físico-químicas.....	58
<b>Tabela 4:</b> Informações físico-químicas da matriz “branco”. ....	62
<b>Tabela 5</b> – Ensaio para cada tipo de sorvente utilizado no planejamento experimental .....	70
<b>Tabela 6</b> – Agrotóxicos determinados por GC-(TQ)-MS/MS, utilizando o modo de ionização EI, aquisição de espectro no modo MRM com seus respectivos segmentos de análise, tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação. ....	79
<b>Tabela 7</b> – Resultados obtidos para as curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas no extrato da matriz, empregando SPE e CG-(TQ)-MS/MS.....	93
<b>Tabela 8</b> – Valores de LOD e LOQ para o instrumento e o método.....	95
<b>Tabela 9</b> – Percentuais de recuperação e RSDr% para a precisão (repetitividade) do método analítico em três níveis de fortificação.....	96
<b>Tabela 10</b> – Percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método analítico em um nível de fortificação.....	99
<b>Tabela 11</b> – Estabilidade dos compostos para uma fortificação de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ quando armazenados nos cartuchos em diferentes tempos. ....	102
<b>Tabela 12</b> – Efeito matriz para os agrotóxicos avaliados por GC-(TQ)-MS/MS .....	104
<b>Tabela 13</b> – Agrotóxicos encontrados nas amostras analisadas por SPE e GC-(TQ)-MS/MS.....	110

## **LISTA DE ANEXOS**

ANEXO I – Fórmulas estruturais dos agrotóxicos em estudo neste trabalho .....	125
---	-----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a – Coeficiente angular

A – Acaricida

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASE – Extração Acelerada com Solvente, do inglês *Accelerated Solvent Extraction*

b – Coeficiente linear

BCPC – *British Crop Protection Council*

C18 – Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18, octadecilsilano

CNRH – Conselho Nacional de Recursos Hídricos

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente

d.i. – Diâmetro interno

DDD – Diclorodifenildicloroetano

DDE – Diclorodifeniletileno

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

DCM – Diclorometano

DIC – Dissociação Induzida por Colis

DL 50 – Dose Letal para 50% dos organismos testes

DLLME – Microextração Dispersiva Líquido-Líquido, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*

EI – Ionização por Elétrons, do inglês *Electron Ionization*

EM – Espectrômetro de Massas

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

eV – Elétrons Volt

F – Fungicida

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FENAPE – Feira Nacional do Peixe Cultivado

GC – Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*

GC-MS/MS – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês *Gas Chromatography coupled to Tandem Mass*

H – Herbicida

I – Inseticida

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH – Conferência Internacional sobre Harmonização, do inglês *International Conference on Harmonisation*

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

ISO – Organização Internacional para Padronização, do inglês *International Organization for Standardization*

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*

KH – Constante da Lei de Henry

Koc – Coeficiente de adsorção a matéria orgânica do solo

Kow – Coeficiente de partição octanol água

LARP – Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas

LLE – Extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*

LMR – Limite Máximo de Resíduo

LOD – Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOD<sub>i</sub> – Limite de Detecção do instrumento, do inglês *Limit of Detection of the Instrument*

LOD<sub>m</sub> – Limite de Detecção do método, do inglês *Limit of Detection of the Method*

LOQ – Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

LOQ<sub>i</sub> – Limite de Quantificação do instrumento, do inglês *Limit of Quantification of the Instrument*

LOQ<sub>m</sub> – Limite de Detecção do método, do inglês *Limit of Quantification of the Method*

MAE – Extração Assistida por Microondas, do inglês *Microwave Assisted Extraction*

MeOH – Metanol

mL - Mililitro

M.M – Massa molar

m/z – Razão massa carga

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRM – Monitoramento de reações múltiplas, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*

MS – Ministério da Saúde

MS – Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*

MS/MS – Espectrometria de Massas em série, do inglês *Mass Spectrometry in tandem*

n – Número de replicatas

OMS – Organização Mundial da Saúde

p.a. – Para análise

Pa – Pascal

PE – Ponto de ebulição

PLE – Extração com Líquido Pressurizado, do inglês *Pressurized Liquid Extraction*

PNCRC – Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes

PF – Ponto de Fusão

pH – Potencial hidrogeniônico

PI – Padrão Interno

PIB – Produto Interno Bruto

pKa – Constante de dissociação ácida

PS – Padrão de Substituição

PTV - Vaporização com temperatura programada

PTFE – Politetrafluoretileno

PV – Pressão de Vapor

Q1 - Quadrupolo 1

Q2 - Quadrupolo 2

Q3 - Quadrupolo 3

r – Coeficiente de Correlação

$r^2$  – coeficiente de determinação

rec – Recuperação

RSD – Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

RSD<sub>PI</sub> – Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

S/R – Relação sinal ruído

SANCO – Saúde e Proteção do Consumidor, do francês *Santé et protection des consommateurs*

SFE – Extração por Fluido Supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*

SHWE – Extração por água super aquecida, do inglês *Super-Heated Water Extraction*

SIM – Monitoramento do Íon Selecionado, do inglês *Selected Ion Monitoring*

SIT – Sistema de Informações Territoriais

SPE – Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

SPME – Microextração em fase sólida, do inglês *Solid Phase Micro Extraction*

TPP – Trifenilfosfato

TQ – Triplo quadrupolo

t<sub>R</sub> – tempo de retenção

U.S.EPA – Agência Americana de Proteção Ambiental, do inglês *United States Environmental Protection Agency*

UE – União Européia

UFMS – Universidade Federal de Santa Maria

USE – Extração Ultrassônica, do inglês *Ultrasonic Extraction*

v/v – Volume por volume

VMP – Valor Máximo Permitido

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>22</b>
<b>2.1</b>	<b>ATIVIDADES AGRÍCOLAS E AGROTÓXICOS</b>	<b>22</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Atividades Agrícolas</b>	<b>22</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Agrotóxicos, uma definição</b>	<b>23</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Classificação e Características Físico-Químicas dos Agrotóxicos</b>	<b>24</b>
<b>2.2</b>	<b>FORMAS DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR AGROTÓXICOS</b>	<b>26</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Processos de Transporte de Agrotóxicos no Ambiente</b>	<b>27</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Fiscalização e Controle de Resíduos e Contaminantes no Brasil</b>	<b>30</b>
<b>2.3</b>	<b>ÁGUAS SUPERFICIAIS</b>	<b>31</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Legislação e parâmetros da qualidade das águas</b>	<b>33</b>
<b>2.4</b>	<b>MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS</b>	<b>35</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Cromatografia em fase Gasosa</b>	<b>36</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Espectrômetros de Massas</b>	<b>38</b>
<b>2.4.2.1</b>	<b>Analisadores Tipo Quadrupolo na determinação de agrotóxicos</b>	<b>38</b>
<b>2.4.2.2</b>	<b>Analisadores de massas sequenciais tipo triploquadrupolo e técnicas de varredura para obtenção de espectros de massas</b>	<b>39</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Preparo de Amostra</b>	<b>41</b>
<b>2.4.3.1</b>	<b>Preparo de amostra por extração em fase sólida (SPE)</b>	<b>43</b>
<b>2.4.3.1.1</b>	<i>Etapas envolvidas na extração por fase sólida</i>	<b>44</b>
<b>2.5</b>	<b>PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>46</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Planejamentos compostos centrais</b>	<b>49</b>
<b>2.6</b>	<b>VALIDAÇÃO DE MÉTODOS</b>	<b>52</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>54</b>
<b>3.1</b>	<b>INSTRUMENTAÇÃO</b>	<b>55</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIAIS E REAGENTES UTILIZADOS</b>	<b>56</b>
<b>3.3</b>	<b>AGROTÓXICOS SELECIONADOS PARA O ESTUDO</b>	<b>57</b>
<b>3.4</b>	<b>AMOSTRA BRANCO</b>	<b>62</b>
<b>3.5</b>	<b>SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE SUBSTITUIÇÃO</b>	<b>63</b>
<b>3.6</b>	<b>PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS UTILIZADAS</b>	<b>63</b>
<b>3.7</b>	<b>OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA</b>	<b>64</b>
<b>3.7.1</b>	<b>Condições cromatográficas</b>	<b>65</b>

3.7.2	Otimização das condições do espectrômetro de massas para a aquisição dos espectros.....	66
3.8	OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) .....	67
3.8.1	Escolha do tipo de sorvente utilizado.....	68
3.8.2	Escolha do eluente a ser utilizado .....	69
3.9	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	70
3.10	VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) .....	71
3.10.1	Seletividade .....	71
3.10.2	Linearidade e Curva Analítica.....	72
3.10.3	Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) .....	72
3.10.4	Avaliação da Precisão (Repetitividade e Precisão Intermediária).....	73
3.10.5	Ensaio de recuperação para avaliação da Exatidão .....	74
3.10.6	Robustez .....	74
3.10.7	Avaliação do Efeito Matriz.....	75
3.10.8	Aplicação do Método Analítico em amostras reais .....	75
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	76
4.1	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA O GC-(TQ)-MS/MS, UTILIZADAS NA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS.....	77
4.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR FASE SÓLIDA (SPE).....	84
4.3	VALIDAÇÃO DO MÉTODO EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) E GC-(TQ)-MS/MS.....	92
4.3.1	Seletividade do método analítico .....	92
4.3.2	Curva analítica e linearidade.....	92
4.3.3	Determinação dos valores de LOD e LOQ do instrumento e do método .....	95
4.3.4	Exatidão através do Ensaio de Recuperação e Precisão (Repetitividade).....	96
4.3.5	Precisão Intermediária.....	99
4.3.6	Robustez .....	101
4.3.7	Avaliação do Efeito Matriz.....	104
4.3.8	Aplicação do Método .....	109
5	CONCLUSÕES.....	111
6	PERSPECTIVAS FUTURAS .....	113
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114
8	DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS.....	124
9	ANEXO.....	125

# 1 INTRODUÇÃO

A agricultura moderna passou a utilizar diferentes técnicas e insumos a fim de minimizar as perdas na produção e atender a demanda crescente por alimentos, o que possibilita incremento tanto na produtividade quanto em rentabilidade. Entretanto, o uso indiscriminado desses diferentes insumos (agrotóxicos e fertilizantes) pode acarretar diversos prejuízos ambientais (VEIGA, 2006).

Estudo desenvolvido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) referente ao mercado de agrotóxicos revela que no Brasil há ritmo de expansão no consumo de agrotóxicos no mundo. O mercado brasileiro cresceu cerca de 176% na última década, valor que supera a média mundial. Este fato é extremamente importante, visto que estas informações colocam o Brasil em alerta no que confere a potencialização da contaminação ambiental oriunda do uso de agrotóxicos (ANVISA, 2013).

O emprego de agrotóxicos na agricultura tem seus benefícios econômicos, uma vez que asseguram o controle e o combate de pragas e doenças, protegendo a qualidade da produção. Por outro lado, o uso indiscriminado e sem orientação adequada é propulsor de inúmeros problemas, desde exposição ocupacional, contaminação de alimentos, contaminação dos recursos hídricos e sérios problemas a saúde, como: diversos tipos de câncer, danos ao sistema nervoso central, problemas no sistema reprodutivo e locomotor, deficiência mental, entre outros (BARBOSA, 2004).

Neste cenário a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos que permitam a determinação dos mais diferentes contaminantes é indispensável, sejam em monitoramentos ambientais ou a fim de garantir informações a respeito da qualidade dos alimentos consumidos no país além dos produtos oriundos de importação ou destinados à exportação.

As técnicas cromatográficas ganham destaque no cenário das determinações de contaminantes, visto que permitem a determinação

simultânea de uma grande quantidade de compostos, além de permitir diferentes sistemas de detecção, sejam eles os eletroquímicos, fluorescência, espectrometria e massas, dentre outros. Esta multiplicidade no sistema de detecção permite o desenvolvimento de métodos focados na determinação de um ou dois componentes que necessitam individualização decorrente de suas características ou no desenvolvimento de métodos para análise multirresíduo (KURZ, MARTINI, 2013; WALORCZYK, 2012).

A escolha adequada da técnica de preparo de amostra é de extrema importância, buscando sempre maior simplicidade na execução, visto que reduz o tempo de análise, além de evitar muitas etapas que favorecem a introdução de erros. Seja seletivo possibilitando a remoção de interferentes, empregue instrumentação de baixo custo e ainda permita a inclusão de uma etapa de concentração dos analitos a fim de melhorar a detectabilidade dos mesmos (JARDIM, 2010). Buscando atender estas premissas temos na técnica de Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) uma importante ferramenta, por apresentar altas porcentagens de recuperação de compostos, robustez elevada e possibilidade de etapa de concentração da amostra (REZAEI *et al.*, 2010).

O presente trabalho visa o estudo de método multirresíduo para determinação de agrotóxicos utilizando extração por fase sólida e quantificação por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas em série GC-(TQ)-MS/MS que possibilite investigar a presença de resíduos de agrotóxicos em águas superficiais, bem como otimizar a técnica de extração em fase sólida através de planejamento experimental, desta forma reduzindo o número de ensaios e buscando economia de solvente e minimização de resíduos.

Investigar a possibilidade da utilização dos cartuchos de extração em fase sólida para armazenar os compostos de interesse em determinados períodos de tempo, através do estudo da estabilidade/decomposição dos compostos avaliados monitorando a concentração dos mesmos.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Atividades Agrícolas e Agrotóxicos**

#### **2.1.1 Atividades Agrícolas**

Desde os primórdios, na constante busca pelo alimento, o homem sempre utilizou a natureza como fonte de subsistência. Os homens traçavam constantes buscas, sendo que a sobrevivência advinha da coleta de raízes, frutos, e através da caça, estas atividades não forneciam impacto de grande relevância aos recursos naturais. A partir do momento em que o homem passou a estabelecer um local fixo para as suas atividades, e não mais a sair em busca por alimentos, iniciaram-se as atividades de cultivo e pecuária. A partir destas modificações é possibilitado o início do desenvolvimento de pequenos povoados (SANTOS, 2006).

Com o desenvolvimento destes povoados têm-se o aumento populacional e acompanhado a ele, a necessidade de maior quantidade de alimento para sanar as demandas, este consumo de alimento não parou mais de crescer até os dias atuais. Para atender esse consumo, o homem descobriu e criou novos recursos e técnicas (SANTOS, 2006).

A relação homem-natureza sofreu inúmeras modificações, em virtude do aumento populacional, do avanço dos processos industriais, e de uma drástica redução na população que ainda vive na zona rural. Todos estes fatores fornecem um incremento no risco ao meio ambiente, tendo em vista que para sanar a demanda por alimento, o campo necessita incrementar sua capacidade produtiva, fato que leva o homem a constantes buscas no desenvolvimento tecnológico, bem como no controle de pragas invasoras (MAIER, 2007).

### 2.1.2 Agrotóxicos, uma definição.

Se buscarmos a definição da palavra, ou termo agrotóxico, a partir da análise dos elementos que a constituem, partindo-se que Agro remete a ideia de campo, terra cultivável, e que esta atividade de cultivo tem origem antrópica, relacionando o cultivo das plantas através das atividades humanas. Já quando se pensa no termo tóxico, pode-se definir como aquilo que tem a capacidade ou a propriedade de envenenar. Da fusão destes termos é possível chegar à definição de agrotóxico como aquilo que tem a propriedade de envenenar ou intoxicar algo (insetos, fungos, parasitas, até mesmo outras plantas invasoras) que afete as culturas agrícolas.

Desta forma podemos pensar nos agrotóxicos como produtos que são utilizados no controle e eliminação de diferentes moléstias ou invasores que afetam os mais diferentes cultivos.

Conforme definição apresentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Agrotóxicos são:

Os produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas, de culturas florestais 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, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

Agrotóxico, segundo o Codex Alimentarius é toda e qualquer substância utilizada com o propósito de prevenir, destruir, atrair, repelir ou controlar qualquer peste, incluindo espécies indesejáveis de plantas, insetos ou animais, durante as etapas de produção, armazenamento, transporte, distribuição, e

processamento do alimento ou ração animal (ou que seja fornecido aos animais para controle de ectoparasitas). O termo inclui substâncias utilizadas como reguladoras do crescimento das plantas, desfolhantes, desseccantes, ou inibidores de brotos, e tanto substâncias aplicadas antes como após a colheita, para proteger a mesma da deterioração durante o armazenamento e transporte (FAO, 2005).

### 2.1.3 Classificação e Características Físico-Químicas dos Agrotóxicos

Os agrotóxicos podem ser classificados de forma geral quanto ao seu emprego, se utilizados no combate à insetos (inseticidas), à bactérias (bactericidas), à fungos (fungicidas), dentre outros. Ou ainda quanto à classe química, organoclorados, organofosforados, carbamatos, triazinas, piretróides, dentre outros. Dados revelam que atualmente são comercializados em torno de 860 compostos que são utilizados como agrotóxicos divididos em mais de 100 classes químicas (BAIRD & CANN, 2011; BCPC, 2013).

O conhecimento das propriedades físico-químicas, bem como a estrutura e massa molecular são fundamentais para realizar um estudo sobre a dinâmica dos agrotóxicos no ambiente, uma vez que estas propriedades são governantes na adsorção pelos constituintes do solo ou degradação por microrganismos, bem como a volatilização ou mobilidade (lixiviação) (SANCHES *et al.*, 2003; SPADOTTO *et al.*, 2010).

Dentre as propriedades físico-químicas podemos citar: A solubilidade em água, indicando a tendência do agrotóxico em ser carregado junto com as águas de escoamento superficiais atingindo os mais diversos compartimentos aquáticos. O coeficiente de adsorção normalizado pelo carbono orgânico ( $K_{oc}$ ), que mede a tendência que um composto químico tem de sofrer partição entre a fase sólida e a solução do solo no sistema solo-água. A constante de dissociação ácida do composto ( $pK_a$ ), revela informações a respeito da forma

pela qual o mesmo se encontra através da relação com o pH do meio, possibilitando identificar se presente na forma ionizada ou molecular (BARCELÓ & HENNION, 2003; CALDAS *et al.*, 2001).

A Pressão de vapor (PV) e constante de Henry (KH) reportam a tendência do agrotóxico a volatilizar ou permanecer na fase aquosa, estando intimamente ligada à temperatura ambiente. O coeficiente de partição octanol-água (Kow), também representado como Log Kow ou Log P, representa o grau de hidrofobicidade de uma substância. O tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) de um composto fornece informações sobre a possibilidade de persistência do mesmo nos diferentes compartimentos, seja no solo ou na água (BARCELÓ & HENNION, 2003; CALDAS *et al.*, 2001).

**Tabela 1** – Classificação dos Agrotóxicos quanto a categorias e toxicidade

Número da Categoria da OMS	Categoria da EPA	Descrição OMS	DOL <sub>50</sub> (mg.kg <sup>-1</sup> )
Ia	I	Extremamente Perigoso	< 5
Ib	I	Altamente Perigoso	5-50
II	II	Moderadamente Perigoso	5-500
III	III	Ligeiramente Perigoso	500-5000
III	IV	-	> 5000

\*A EPA norte-americana não faz distinção entre as classes Ia e Ib da OMS, mas usa apenas a categoria I. A EPA também define uma quarta categoria, IV, para substâncias com valores de DL<sub>50</sub> maiores que 5000 mg/kg.

+ Os valores de DL<sub>50</sub> estabelecidos são para formas sólidas e são baseados em experimentos com ratos; as faixas de DL<sub>50</sub> são mais altas por um fator de 2. As faixas de dose letal para líquidos são mais elevadas por um fator de 4 vezes do que suas respectivas faixas de DL<sub>50</sub>.

Fonte: Adaptado de BAIRD, 2010

## 2.2 Formas de contaminação ambiental por agrotóxicos

A utilização de produtos químicos no controle de pragas, já consta de longa data, inicialmente era utilizado apenas um pequeno número de compostos inorgânicos, envolvendo principalmente os elementos cobre e arsênio (VEIGA, 2006).

O mercado brasileiro cresceu aproximadamente 176% na última década, no que confere o consumo de agrotóxicos, segundo o estudo realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cerca de quatro vezes mais do que a média mundial, fato que pode potencializar a contaminação dos recursos naturais, podendo causar inúmeros problemas ao homem e ao meio ambiente (GAMA *et al.*, 2013).

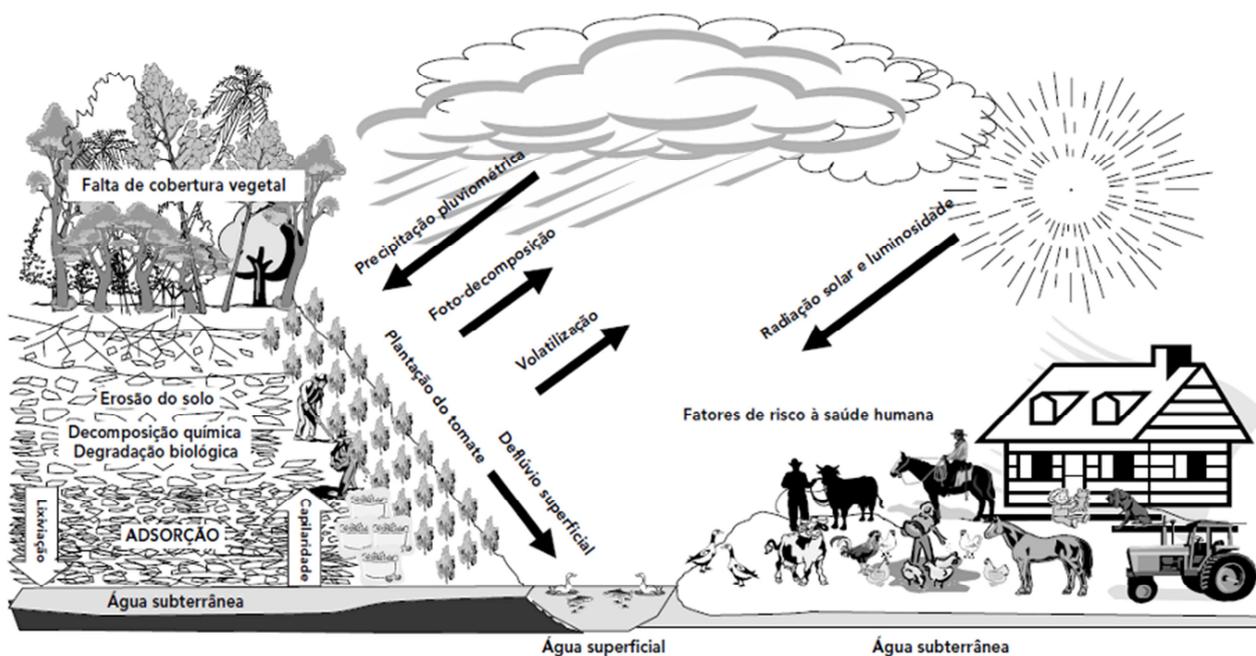
Estudos demonstram que cerca de 20% da quantidade de agrotóxicos utilizados em plantas para o controle de pragas podem alcançar as águas superficiais exceto a parcela de agrotóxicos que evapora. Outra parcela fica retida por processos que atuam na imobilização de moléculas por cargas dos constituintes do solo, o que diminuiu em certa extensão a transferência destes contaminantes, entretanto estudos também demonstram que mesmo em solos argilosos com maior capacidade de adsorção, verifica-se que a transferência de agrotóxicos pode ocorrer através da erosão (SPONGBERG & MARTIN, 1997; KASTENHOLZ *et al.*, 2001).

O elevado uso de agrotóxicos, bem como a vasta gama de produtos com composições bastante variadas, aliadas a alta taxa de erosão do solo, tornam constante a transferência de moléculas de agrotóxicos entre os ecossistemas terrestres, aéreos e aquáticos (BORTOLUZZI, 2004; LINS *et al.*, 2001).

### 2.2.1 Processos de Transporte de Agrotóxicos no Ambiente.

Os agrotóxicos são sintetizados visando afetar determinadas reações bioquímicas de insetos, microrganismos, animais e plantas, sendo importante ressaltar que determinados processos bioquímicos são comuns a todos os seres vivos, podendo afetar não só o organismo alvo, como também os outros seres do ambiente, lembrando que ocorre interações recíprocas de dependência ou cooperação, cabendo assim a possibilidade de causar efeitos em todo ecossistema (SPADOTTO *et al.*, 2004).

Uma vez feita à aplicação de um determinado agrotóxico, vários processos físicos, químicos, físico-químicos e biológicos acompanham a mesma, e acabam por determinar o seu comportamento. A forma como os diferentes tipos de compostos se apresentarão no ambiente, é dependente de diferentes processos, denominados: retenção (sorção), transformação (fotólise, hidrólise, oxidação-redução e degradação biológica), transporte (deriva, volatilização, lixiviação, carreamento superficial), sendo também possível a inter-relação entre estes processos (SPADOTTO *et al.* 2010), a Figura 1 demonstra como os agrotóxicos podem se dispersar no ambiente causando contaminação em diferentes pontos.



**Figura 1** – Formas de contaminação e dispersão dos agrotóxicos. Fonte: VEIGA, 2006.

O compartimento ambiental no qual o agrotóxico se encontra é de grande importância para avaliar a possível degradação ou transporte que ele sofrerá, alguns deles sofrem processo de mineralização no solo e dissipam-se rápida e completamente em  $H_2O$ ,  $CO_2$  e  $NH_3$ , sendo responsável por este processo, a hidrólise, fotólise, o metabolismo e o catabolismo microbológico, podendo também ocorrer a presença de moléculas moderadamente persistentes, ou altamente persistentes, sendo possível sua permanência no solo por um período relativamente longo, ressaltando também que muitos produtos de degradação ou metabólitos podem ter importância ambiental por apresentarem toxicidade ou ecotoxicidade igual ou superior ao seu material de partida (SPADOTTO *et al.*, 2010).

A presença ou não de ventos, tem uma relação bastante interessante na dispersão dos compostos nos ecossistemas, na presença de ventos a deriva pode espalhar o produto. No entanto com a ausência, as finas gotas formadas na aplicação podem ficar suspensas no ar, por estabilidade atmosférica, dissipando-se até vários quilômetros, sendo na maioria das vezes removido da

atmosfera através das precipitações. O transporte de agrotóxicos através da atmosfera pode ocorrer por volatilização direta, covaporização com a água e associação ao material particulado carregado pelo vento (LAABS *et al.* 2002).

A solubilidade em água também é um fator importante no processo de volatilização, quanto mais solúvel (polar) menos volátil o composto se tornará, já para agrotóxicos mais apolares, sua menor volatilidade será possível somente se o solo apresentar elevados índices de matéria orgânica (SPADOTTO *et al.*, 2010).

O transporte e o destino dos agrotóxicos em suspensão na atmosfera dependem muito da sua distribuição, se na fase gasosa, aquosa, ou sólida (material particulado), a taxa de remoção destes é dependente da reatividade química e fotoquímica, bem como os processos de deposição seca (SCHEYER *et al.*, 2007; DOBSON *et al.*, 2006).

Para agrotóxicos não ionizáveis, o fenômeno de sorção é regulado basicamente pela composição da matéria orgânica presente no solo, já para compostos iônicos ou ionizáveis, o pH do solo passa a ter importância primordial nesses processos, visto que a extensão da sorção pode diferir significativamente entre as formas neutra e iônicas de tais compostos. De forma muito geral e abrangente os solos apresentam predominância de cargas negativas, e disso resulta que compostos catiônicos podem ser fortemente ligados ao solo, e ao contrário, os de caráter aniônicos tendem a sofrer lixiviação (SPADOTTO *et al.*, 2010).

A água que escorre sobre a superfície do solo, consegue carrear uma quantidade de material dissolvido ou em suspensão, este tipo de fenômeno é conhecido como carreamento superficial. Geralmente o destino final do carreamento superficial é um ponto de captação de água, como um reservatório, lago, açude ou curso d'água (SPADOTTO, 2010).

A lixiviação dos agrotóxicos através do solo tende a resultar em contaminação das águas subterrâneas e, neste caso, as substâncias químicas são principalmente levadas em solução juntamente com a água que alimenta os aquíferos. O carreamento superficial favorece a contaminação das águas de

superfície pelo agrotóxico adsorvido às partículas do solo erodido ou na água escoada. A permanência dos agrotóxicos no solo agrícola é inversamente dependente da taxa de ocorrência dos processos de transporte e degradação (SPADOTTO, 2010).

Os planos de gestão ambiental visando o controle de compostos nocivos no meio ambiente perpassam pela compreensão de como ocorrem os processos de transporte dos mais diversos compostos nos diferentes sistemas, tendo em vista a variedade de agrotóxicos usados, compreendendo múltiplas classes químicas, bem como possibilidades diversas de interação com o ambiente.

### 2.2.2 Fiscalização e Controle de Resíduos e Contaminantes no Brasil

O controle dos diferentes resíduos, bem como a normatização para o uso e os limites máximos da presença de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal e vegetal no Brasil é regulamentado pelo Ministério da Saúde (MS), sendo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o órgão que coordena as ações na área de toxicologia, visando regulamentar, controlar e também fiscalizar os produtos e serviços que possam envolver algum tipo de risco a saúde. Sejam agrotóxicos ou quaisquer outros produtos que possam trazer algum risco/malefício ao bem estar e a saúde pública (MAPA, 2013).

O monitoramento da presença de resíduos de agrotóxicos, medicamentos veterinários e contaminantes ambientais em produtos de origem animal e vegetal é coordenado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), através do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC). O Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes é um programa federal de inspeção e fiscalização de alimentos, baseado em análise de risco, que visa verificar a presença de resíduos de

substâncias químicas potencialmente nocivas à saúde do consumidor (MAPA, 2013).

O PNCRC/Vegetal tem como função inspecionar e fiscalizar a qualidade dos produtos de origem vegetal produzidos em todo o território nacional. São monitorados produtos de origem vegetal destinados ao mercado interno e à exportação. Atualmente, aproximadamente 80% das análises são voltadas para o mercado interno. Dentro do subprograma de monitoramento existe o subprograma de investigação, que investiga os produtos não conformes a partir das informações obtidas pelo monitoramento dos resíduos e contaminantes no país. O programa também fiscaliza os ingredientes ativos de uso proibido no país e os não registrados para determinada(s) cultura(s), além de violações aos limites máximos nacionais (MAPA, 2013).

### **2.3 Águas Superficiais**

Segundo o Conselho Estadual do Meio Ambiente (CONSEMA), as águas superficiais podem ser definidas como: aquelas águas paradas, com movimento lento ou estagnado, correntes a superfície do solo (RIO GRANDE DO SUL, 2006).

Sem sombra de dúvidas, a iminência da escassez de água, associada ao seu uso indiscriminado, influenciam seriamente na qualidade e comprometimento das águas superficiais. As águas superficiais tem utilização diversa, em diferentes atividades econômicas, sendo destaque os que a fazem as atividades agropecuárias.

O Brasil, um país com uma grande dimensão territorial, é privilegiado no que confere as reservas de água doce, sendo detentor de aproximadamente 12% da quantidade de água doce superficial disponível no planeta (BRASIL, 2013a).

Conforme definições do Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CNRH), visando estabelecer uma base organizacional que contemple as bacias hidrográficas como unidade do gerenciamento de recursos hídricos, que possibilite a implementação de uma Política Nacional de Recursos Hídricos e também de um Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, o Brasil passou a ser dividido em doze regiões hidrográficas (BRASIL, 2003).

Com base nas distribuições das regiões hidrográficas é possível fazer um levantamento da distribuição hídrica no país, considerando as vazões médias anuais em  $\text{m}^3\text{s}^{-1}$ , esta informação, coloca o país como detentor de aproximadamente 12% da disponibilidade mundial de recursos hídricos. (BRASIL, 2013a). Somente a região hidrográfica da Amazônia possui 73,6% dos recursos hídricos superficiais do país, apresentando uma vazão média de quase três vezes a soma das vazões de todas as demais regiões hidrográficas brasileiras (SENRA, 2004). A Tabela 2 ilustra como está a divisão dos recursos hídricos para cada Região Hidrográfica do país.

**Tabela 2** – Disponibilidade hídrica e vazões médias.

Região Hidrográfica	Vazão média ( $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ )	Disponibilidade hídrica ( $\text{m}^3.\text{s}^{-1}$ )
Amazônica	132.145	73.748
Tocantins-Araguaia	13.799	5.447
Atlântico Nordeste Ocidental	2.608	320
Parnaíba	767	379
Atlântico Nordeste Oriental	774	91
São Francisco	2.846	1.886
Atlântico Leste	1.484	305
Atlântico Sudeste	3.162	1.109
Atlântico Sul	4.055	647
Paraná	11.414	5.792
Uruguai	4.103	565
Paraguai	2.359	782

Fonte: BRASIL, 2013a.

No Brasil, o setor de irrigação é o que possui a maior parcela de vazão de retirada cerca de 47% do total, para o abastecimento urbano são reservados 26%, a indústria utilizando 17%, 8% ficando com a dessedentação animal e apenas 2% para o abastecimento rural (BRASIL, 2013a).

A alta produtividade agrícola atual apresenta uma ligação estreita entre o uso de recursos naturais e a utilização de agrotóxicos, sendo este último um grande responsável pela poluição dos mananciais. O estado do Rio Grande do Sul (RS) apresenta diferentes características em suas condições geográficas, possibilitando diferentes sistemas de produção nas diferentes regiões, podendo destacar a produção de grãos, o arroz inundado, a criação intensiva de aves e suínos e a lavoura de fumo, tendo uma contribuição de todos estes sistemas para a contaminação das águas no sul do Brasil (RHEINHEIMER *et al.*, 2003).

Os diferentes sistemas de produção no estado do Rio Grande do Sul podem ser apontados sem sombra de dúvidas como fontes de poluição, devido ao alto uso de agrotóxicos e fertilizantes a fim de manter alta produtividade, podendo citar as regiões mais planas com a produção de grãos de sequeiro (Planalto) e de arroz irrigado (Metade Sul), as regiões de pequenas propriedades, destacando-se a produção de fumo geralmente localizadas em áreas com solos marginais, declivosos e com muitos problemas de manutenção da capacidade produtiva. Regiões com pequenas propriedades desenvolvendo culturas anuais, fruticultura e de sistemas de criação de aves e suínos em confinamento (RHEINHEIMER *et al.*, 2003).

### 2.3.1 Legislação e parâmetros da qualidade das águas.

Em 1997 é implantado o sistema de Política Nacional de Recursos Hídricos, bem como o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, através da Lei Federal Nº 9.433 de 8 de janeiro de 1997, tendo como base que a água é um bem de domínio público, bem como recurso natural

limitado, dotado de valor econômico, sendo que a gestão dos recursos hídricos deve sempre proporcionar o uso múltiplo das águas, objetivando assegurar a necessária disponibilidade de água em padrões de qualidade adequados aos respectivos usos, visando uma utilização racional e integrada dos recursos hídricos, com vistas ao desenvolvimento sustentável, além da prevenção e a defesa contra eventos hidrológicos críticos de origem natural ou decorrentes do uso inadequado dos recursos naturais (BRASIL, 1997).

Considerando a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa de seus níveis de qualidade, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar seus usos preponderantes; busca-se através da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) Nº 20, de 18 de junho de 1986 estabelecer diretrizes para a classificação e enquadramento das águas, sendo posteriormente substituída pela Resolução 357 de 17 de Março de 2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências; esta última sendo alterada e complementada pela Resolução CONAMA Nº 430 de 13 de maio de 2011. (BRASIL, 1986, 2005, 2011).

Através do conselho Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (CONSEMA), é publicada a Resolução CONSEMA 128 de Novembro de 2006, que dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul, esta resolução acaba por ser mais restritiva para alguns parâmetros ambientais do que a Resolução CONAMA Nº 357 e Nº 430, inclusive proibindo o lançamento de um grupo de agrotóxicos persistentes no meio ambiente (RIO GRANDE DO SUL, 2006).

O Ministério da Saúde visando dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, estabelece através da Portaria MS 2.914 de 12 de dezembro de 2011 que revoga a Portaria 518 de 25 de Março de 2004 as

diretrizes para que a água possa atender aos padrões de qualidade (BRASIL, 2004, 2011).

Internacionalmente a Comunidade Europeia estabeleceu o valor máximo permitido para qualquer agrotóxico em  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo que o somatório total de resíduos não pode passar de  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ , em águas destinadas ao consumo humano, através do COUNCIL DIRECTIVE (1980). Já a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) e a Organização Mundial da Saúde, estabelecem limites máximos individuais para cada agrotóxico.

## **2.4 Métodos para Determinação de Agrotóxicos**

Dentre as diferentes técnicas possíveis para determinação de agrotóxicos, encontramos nas técnicas cromatográficas grande destaque, visto que conferem alto grau de separação de compostos, alta sensibilidade proporcionada por sistemas de detecção cada vez mais eficientes, alta detectabilidade, reprodutibilidade, repetitividade, boa seletividade, permitindo análises multirresíduo através de sistemas de detecção por espectrometria de massas simples ou sequenciais. Estes fatores associados fazem das técnicas cromatográficas grandes ferramentas na determinação de compostos traços e ultratraços, principalmente atendendo as exigências legais para os limites máximos permitidos (LMRs) muitas vezes representando concentrações extremamente baixas de diferentes compostos, em aplicações ambientais, alimentícias, bioquímicas, farmacêuticas dentre outras.

### 2.4.1 Cromatografia Gasosa

A cromatografia é um método físico-químico de separação, realizada através da distribuição dos componentes em duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária, enquanto a outra se move através dela. Durante a passagem da fase móvel pela estacionária os componentes são distribuídos pelas duas fases de tal modo que cada um deles é seletivamente retido pela fase estacionária, o que resulta em migrações diferenciais destes componentes (COLLINS *et al.*, 2009).

HUSKÓVA *et al.*, investigaram a presença de 25 pesticidas, por cromatografia gasosa de alta velocidade e ionização química, operando no modo de monitoramento de íon seletivo (SIM), conseguindo separações satisfatórias para estes compostos em 11 minutos de análise (HUSKÓVA *et al.*, 2009).

A investigação de agrotóxicos em material atmosférico particulado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas com analisadores tipo quadrupolo também é objeto de estudo e demonstra a presença destes compostos no material particulado, como relatado por COSCOLLÀ *et al.* (COSCOLLÀ *et al.*, 2011).

HILDEBRAND *et al.* 2007, investigaram a presença de 30 compostos, sendo agrotóxicos e produtos de degradação em águas subterrâneas e solos das áreas agrícolas da bacia do rio Ebro na Espanha por GC-MS, buscando avaliar o impacto destes compostos nos solos agrícolas e do aquífero adjacente, utilizando mesmo método de extração para ambas as amostras, das 60 amostras de água analisadas, em todas foi encontrado a presença de tributilfosfato e em pelo menos 40 delas foram encontrados agrotóxicos do grupo das triazinas (HILDEBRAND, 2007).

SABIN *et al.* em 2009, desenvolveram um método para análise de 20 pesticidas em água potável por SPE e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas operando no modo de monitoramento de íon

seletivo, visando atender os limites estabelecidos pela legislação para determinação de agrotóxicos em água potável (SABIN *et al.*, 2009).

CARRO e colaboradores desenvolveram um procedimento simples para a determinação de dezessete agrotóxicos e compostos relacionados em matrizes de água de origem ambiental (rios, mar) e de águas residuais usando microextração dispersiva líquido-líquido (DLLME) acoplado a cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massas sequencial (GC-MS/MS) com injeção da amostra através de rampa de aquecimento do injetor. As melhores condições para o método foram encontradas através de planejamento experimental. As amostras de água do mar (utilizadas em aquicultura) e águas de rios próximos a regiões de agricultura, indicaram presença de sete dos compostos avaliados sendo os compostos clorpirifós etílico e carbaril os com concentrações mais elevadas na faixa de  $400 \text{ ng L}^{-1}$  (CARRO *et al.*, 2012).

BIZKARGUENAGA *et al.* avaliaram a presença de 72 poluentes ambientais incluindo PCBs, agrotóxicos e bisfenol A, através de desenvolvimento de método por cromatografia em fase gasosa acoplado a espectrometria de massas sequencial, em amostras de águas residuárias oriundas de estações de tratamento de esgoto na cidade de Zornotza Espanha (BIZKARGUENAGA *et al.*, 2012).

Na Itália CAVALIERE e colaboradores desenvolveram um método para determinação de cinco carbamatos em água por microextração em fase sólida (SPME) por GC-(TQ)-MS/MS utilizando o modo de monitoramento de reações múltiplas, através do qual monitoram a presença destes compostos em água potável, oriunda do sistema de distribuição para a população e também em amostras de água mineral que são envazadas para comercialização (CAVALIERE *et al.*, 2012).

WALORCZK buscou a viabilidade no desenvolvimento de um método para determinação multirresíduo de pesticidas em commodities utilizando uma gama diversificada de matrizes tais como, maçã, groselha, cenoura, uva, alho poró, ameixa, rúcula, morango e tomate por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas tipo triploquadropolo (WALORCZYK, 2012).

Também há o desenvolvimento de trabalhos com colunas microfabricadas, usando substratos como silicone, vários metais e polímeros. Canais estreitos e relativamente profundos são gravados no substrato. Esses canais possuem volume morto baixo, de forma a reduzir o alargamento de pico, e área superficial alta, para aumentar o volume de fase estacionária (LAMBERTUS, 2004).

#### 2.4.2 Espectrômetros de Massas

O acoplamento do espectrômetro de massas a cromatografia em fase gasosa, inicialmente encontrou maior dificuldade na redução da pressão na saída da coluna para valores menores que  $10^{-3}$  Pa na câmara de ionização, atualmente todos os aparelhos de GC-MS operam com colunas capilares com um acoplamento perfeito, a cromatografia em fase gasosa adaptou-se muito facilmente aos espectrômetros de massas, visto que as moléculas já estão em fase gasosa e a fase móvel também é um gás (HARRIS, 2001).

##### 2.4.2.1 Analisadores Tipo Quadrupolo na determinação de agrotóxicos

O quadrupolo é constituído de 4 hastes que atuam como eletrodos, na qual as barras opostas são conectadas eletricamente, sendo um par ligado ao lado positivo de uma fonte variável de corrente direta e outro par ligado ao terminal negativo. Além disso, potenciais de corrente alternada de rádio frequência variável, que estão  $180^\circ$  fora de fase, são aplicados a cada par de barras. Para obter um espectro de massas com este dispositivo, os íons são acelerados para o espaço entre as barras por uma diferença de potencial de cerca de 10 V. Enquanto isso, as voltagens de corrente alternada e contínua

nas barras aumentam simultaneamente, mantendo sua razão constante. Em um dado momento todos os íons, exceto aqueles que possuem um valor determinado de  $m/z$ , atingem as barras e são convertidos em moléculas neutras (CHIARADIA, 2008, SKOOG, 2009).

#### 2.4.2.2 Analisadores de massas sequenciais tipo triploquadrupolo e técnicas de varredura para obtenção de espectros de massas

Analisadores de massas quando acoplados sequencialmente podem oferecer uma vantagem extraordinária, elevando a sensibilidade, detectabilidade e seletividade dos diferentes métodos analíticos, principalmente em função do tipo de técnica de varredura que pode ser empregada. Existem diferentes tipos de acoplamentos, será abordado o tipo triplo quadrupolo (TQ).

Este instrumento é constituído por três quadrupolos em série, sendo que o segundo quadrupolo não é utilizado para separar íons da mesma razão  $m/z$ , mas sim como cela de colisão, na qual ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo, geralmente por dissociação induzida por colisão (DIC), com um gás inerte, também é empregado como direcionador dos íons produzidos ao terceiro quadrupolo. Na DIC, o íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no interior do segundo quadrupolo, onde sofre repetidas colisões com um gás inerte de elevada energia (Ar, He ou  $N_2$ ), o que leva a um aumento da energia potencial deste íon até ocasionar sua fragmentação, conduzindo a formação dos íons produtos (CHIARADIA *et al.* 2008).

Além de tipos diferentes de fragmentações provocadas por diferença na energia aplicada, pode servir para melhorar a detectabilidade do método quando usada para gerar um íon característico de uma molécula e assim realizar sua detecção a partir deste íon fragmento quando a molécula do analito

de interesse se encontra em presença de outras moléculas de mesma massa molar nominal (CHIARADIA *et al.*, 2008).

Os analisadores de massas tipo triplo quadrupolo podem operar de diferentes formas ou modo de aquisição para os espectros de massas. Existem diferentes possibilidades na operação destes instrumentos, dentre os mais utilizados estão o modo *full scan*, varredura de íons produzidos, monitoramento de íon seletivo e monitoramento de reações múltiplas.

No modo *full scan*, o instrumento é operado de modo a fornecer informações a respeito de um amplo espectro de massas, podendo ser selecionado uma determinada faixa de massas (50-500m/z), o cromatograma gerado a partir deste modo de operação também é conhecido como cromatograma de íons totais (STASHENKO, MARTINEZ, 2010).

O modo de varredura de íons produzidos (também conhecido do inglês *Product Ion Scan*) é utilizado para informação do espectro de massas produzindo a partir de um íon precursor, neste caso no primeiro estágio (Q1) o íon de interesse é isolado, em seguida é fragmentado na cela de colisão e no segundo estágio é feito a varredura dos íons produzidos a partir da fragmentação do íon de interesse (CHIARADIA *et al.*, 2008).

Quando o analisador de massas está operando no modo monitoramento de íon selecionado (SIM do inglês, *Selected Ion Monitored*), é possível a escolha de um ou mais íons, para monitoramento, neste caso apenas o Q1 está filtrando os íons, os outros quadrupolos apenas conduzem a passagem dos mesmos até o detector, este modo de operação traz a vantagem da redução do ruído do instrumento, uma vez que uma quantidade grande de íons são descartados no Q1, esta ferramenta proporciona melhor detectabilidade a técnica analítica (GROSS, 2004).

Já o modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM do inglês, *Multiple Reaction Monitoring*), é monitorada a fragmentação de um ou dois íons precursores, que são selecionados no Q1 e encaminhados até a célula de colisão o Q2, no qual por ação de um gás com alta energia (que pode ser estipulada pelo operador) o íon sofre nova fragmentação, sendo que os íons

produtos desejados são selecionados no Q3 e encaminhados até o sistema de detecção, normalmente uma célula multiplicadora de elétrons. O modo MRM só é possível para aqueles instrumentos nos quais haja analisadores de massas sequenciais, podendo ser um triplo quadrupolo, um quadrupolo íon trap ou outros (STASHENKO, MARTINÉZ, 2010).

O modo MRM possibilita um incremento significativo na detectabilidade do método, uma vez que ele monitora somente a transição específica entre o íon pai e os íons produtos, o que reduz e muito o ruído instrumental, fato que fornece um incremento na detectabilidade e seletividade dos analitos.

#### 2.4.3 Preparo de Amostra

Técnicas de preparo de amostra ocupam importante posição no desenvolvimento de métodos analíticos, principalmente quando se visa determinações em matrizes complexas e com limites de detecção bastante reduzidos. Os limites estabelecidos pelos órgãos competentes são pequenos, e cada vez abrangendo maior gama de compostos, definido muitas vezes pela exigência do público consumidor por produtos mais saudáveis, questões ambientais ou toxicológicas (RIDGWAY *et al.*, 2007) .

As características físico-químicas das substâncias fornecem importantes informações a seu respeito. Este fator vem ao encontro no desenvolvimento de métodos para análises multiresíduos. Uma avaliação criteriosa destas propriedades possibilita o desenvolvimento de estratégias para uma multi-determinação eficiente. O desenvolvimento de métodos com alta sensibilidade e seletividade, baixo consumo de solventes e com alta precisão e exatidão, são indissociáveis de técnicas eficientes no preparo de amostras, principalmente pela obtenção do clean-up da mesma e dos altos fatores de pré-concentração obtidos (PRESTES, *et al.*, 2007).

Estão disponíveis diferentes técnicas de preparo de amostra visando à determinação de traços orgânicos, sendo a escolha por uma, ou duas técnicas que sejam complementares, dependentes do tipo de matriz, analito e níveis de concentração que se deseja atingir.

De forma geral as técnicas de extração e separação, para analitos, baseiam-se em suas propriedades químicas e físicas. Possibilitando que os mesmos, sejam apresentados na forma de solução ou adsorvidos, estejam eles presentes em amostras líquidas ou sólidas (RIDGWAY *et al.*, 2007).

Quando se trabalha com amostras sólidas, normalmente é necessário um pré- tratamento da amostra para extração como: secagem prévia, moagem e talvez uniformização de partículas. Técnicas como soxhlet, PLE, SHWE, SFE, MAE, USE, conseguem ser exaustivas, mas não seletivas, normalmente exigindo posterior clean-up da amostra, como trabalham com temperaturas elevadas são aplicadas quando se deseja determinar compostos não lábeis, consomem maior quantidade de solvente, apenas para a SHWE não há um problema maior com o consumo de solvente, pois o mesmo é água (RIDGWAY *et al.*, 2007).

Para amostras líquidas, podem ser usadas técnicas de extração líquido-líquido, que exigem grande quantidade de solvente, não são seletivas e necessitam de posterior clean-up e pré-concentração quando se deseja determinar menores concentrações. Um modo alternativo tem sido a microextração líquido-líquido, que praticamente elimina dois problemas, pois o volume de solvente é extremamente pequeno (gota) e concentra o analito. Como exemplo de técnica mais seletiva, temos a extração com membrana porosa e a microdiálise, que possibilita a extração do analito por migração através de uma membrana porosa e conforme o tipo de membrana, restringe-se o tipo de molécula capaz de ser extraída pra outro solvente (RIDGWAY *et al.*, 2007).

A extração em fase sólida (SPE) tem sido largamente utilizada, devido a concentrar os analitos e ao mesmo tempo fazer um clean-up da amostra, além da disponibilidade no mercado de diferentes sorventes, o analito pode inclusive ser armazenado no sorvente, evitando degradação, e alguns são altamente seletivos como os imunosorventes e polímeros impressos (RIDGWAY *et al.*, 2007).

A SPME possibilita a amostragem e concentração ao mesmo tempo, mas com volumes limitados de analito (não exaustiva) e necessita cuidados para reprodutibilidade e calibração. A extração por barras sortivas, supera a limitada capacidade de sorção do analito da SPME, também permite altos fatores de concentração, assim como a SPME, pode ser utilizado tanto no headspace como direto na amostra. De forma geral para determinação de analitos voláteis pode-se pensar em aliar algumas das técnicas de sorção no headspace da amostra, por purga e armadilha (do inglês, *Purge and Trap*) ou aquecimento da amostra (RIDGWAY *et al.*, 2007).

O essencial entre as diversas técnicas de extração, clean-up e concentração do analito, reside na prévia avaliação, levando em consideração suas propriedades químicas e físicas, a matriz, e os limites de concentração que serão atendidos pelo método analítico.

#### 2.4.3.1 Preparo de amostra por extração em fase sólida (SPE)

A extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extration*) é considerada uma técnica de extração líquido-sólido, na qual é possível a partição entre uma fase sólida adsorvida em um cartucho e um solvente orgânico, com finalidade de isolar e pré-concentrar compostos de interesse em matrizes complexas (CALDAS, *et al.*, 2011)

A possibilidade de obtenção de extratos com diferentes analitos, advém das interações físico-químicas que se estabelecem entre os diferentes compostos retidos com o sorvente e posterior eluição com um solvente orgânico apropriado, salientando que pequenas quantidades de solvente são utilizados, na qual os volumes variam de 2,0 a 5,0 mL (RIAL-OTERO *et al.*, 2007).

A determinação de agrotóxicos é feita muitas vezes em matrizes complexas, com grande quantidade de interferentes, sendo a eliminação

dessas impurezas etapa crucial para a injeção de amostras em sistemas delicados como os cromatográficos. Da mesma forma a escolha do tipo de sorvente tem grande influência, devendo ser feito com base nas características físico-químicas dos analitos de interesse e buscando evitar a coextração de interferentes, levando em conta a natureza da matriz e as impurezas a serem eliminadas (CALDAS *et al.* 2011).

Outra vantagem relevante do preparo de amostras através de SPE é a possibilidade de extrair, pré-concentrar e estocar os analitos presentes nas amostras direto no local de amostragem (*in situ*), o que confere agilidade e praticidade, pois há necessidade de transportar apenas os cartuchos para o laboratório, armazenando-os sob baixas temperaturas (QUEIROZ, 2006).

#### *2.4.3.1.1 Etapas envolvidas na extração por fase sólida*

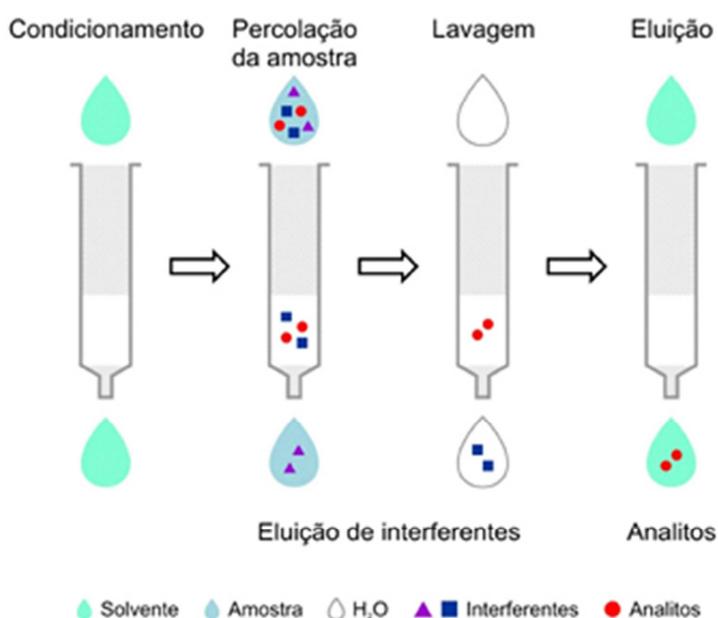
A Figura 2 representa as etapas de extração por fase sólida. A primeira etapa compreende o condicionamento do cartucho, tendo como finalidade ativar o sorvente a ser utilizado, bem como eluir alguma impureza que possa estar presente. O tipo de sorvente tem reflexo direto no solvente a ser utilizado (CALDAS *et al.*, 2011).

A percolação compreende a distribuição dos compostos presentes na amostra e a superfície do sorvente, estabelecendo um equilíbrio físico entre os analitos e o sorvente. Avaliar o pH da amostra é muito importante, pois a obtenção de uma retenção adequada esta intimamente ligada a protonação ou não dos analitos, sendo na grande maioria das vezes necessário um ajuste do mesmo, visando potencializar a retenção na fase estacionária. Também pode ser controlada a vazão da amostra a ser percolada, através do vácuo ou pressão aplicadas, permitindo um tempo suficiente para que seja possível o estabelecimento de interações entre os analitos e a fase estacionária (TRAN *et al.*, 2007, BORTOLUZZI *et al.*, 2007, SHOMAR *et al.*, 2006, VEGA *et al.*, 2005).

A terceira etapa, que é a de lavagem ou “*clean up*”, visa eliminar compostos provenientes da matriz, que possam interferir no método analítico, sendo possível a utilização de solventes com força de eluição intermediária, com intuito de remover os interferentes antes que o analito seja eluído, denominados solventes de lavagem (do inglês, *wash solvent*), sendo os mais utilizados na determinação de resíduos de agrotóxicos, água ultrapura ou uma mistura de metanol/água ultrapura (SHOMAR *et al.*, 2006; GATIDOU *et al.*, 2005; IBANEZ *et al.*, 2005; D'ARCHIVIO *et al.*, 2007).

Após a etapa de limpeza do cartucho, deve ser feita a escolha do melhor solvente ou sistema de solventes que permita a eluição dos analitos sem que nenhum interferente que possa ter permanecido junto à fase estacionária sofra coeluição. Para a escolha do eluente deve-se levar em conta as características estruturais dos agrotóxicos, sendo a polaridade que os mesmos apresentam fator determinante nesta escolha (FRITZ, MACKA, 2000).

Diferentes solventes, ou sistemas de solventes podem ser necessários em determinações multirresíduo, sendo observada a possibilidade de eluição de compostos de diferentes classes químicas e por diferentes métodos de extração (MARTINS, 2010; PRESTES 2011; FRIGGI, 2012; DONATO, 2012).



**Figura 2** – Etapas envolvidas no processo de extração por SPE. Fonte: CALDAS et al., 2011)

## 2.5 Planejamento Experimental

Existem várias situações, nas quais aparecem problemas em que precisamos estudar várias propriedades ao mesmo tempo e estas, por sua vez, são afetadas por um grande número de fatores experimentais. Nestas situações surgem questões que envolvem a necessidade de estudar os efeitos de diferentes fatores sobre as propriedades gerais dos sistemas, fatores que se conhecidos, podem minimizar o trabalho realizado, bem como o custo dos experimentos, ou até mesmo da produção de uma indústria (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

As pesquisas realizadas com o objetivo de fornecer respostas a essas perguntas muitas vezes tomam vários meses de trabalho de pesquisadores e técnicos, a um custo bastante alto em termos de salários, reagentes, análises químicas e testes físicos. O emprego de conhecimentos estatísticos pode ajudar a responder a essas perguntas de forma racional e econômica. Usando

planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, os pesquisadores podem extrair do sistema em estudo, o máximo de informações úteis, fazendo um número mínimo de experimentos (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

O planejamento experimental também denominado delineamento experimental, representa um conjunto de ensaios estabelecidos com critérios científicos e estatísticos, com o objetivo de determinar a influência de diversas variáveis nos resultados de um dado sistema ou processo. Este objetivo maior pode ser dividido em outros objetivos de acordo com o propósito dos ensaios, como: determinar quais as variáveis são mais influentes nos resultados, atribuir valores às variáveis influentes de modo a otimizar os resultados; buscando minimizar a variabilidade e a influência de variáveis incontroláveis (BUTTON, 2012).

Em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta ou respostas. Se a combinação de  $k$  fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial consistirá de  $2^k$  experimentos (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Para a compreensão dos resultados do planejamento experimental, pode-se atribuir alguns significados a determinadas nomenclaturas, sendo possível denominar aquela propriedade de interesse a respeito de um sistema de resposta. Para todas aquelas variáveis que podem influenciar na resposta obtida, pode ser denominada de fatores, e a função que descreve essa influência é chamada de superfície de resposta (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

A metodologia de superfícies de resposta (RSM, do inglês *Response Surface Methodology*) é uma ferramenta de otimização baseada em planejamentos fatoriais que foi introduzida por G. E. P. Box na década de 1950, e que desde então tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos. Ela apresenta duas etapas distintas, modelagem e deslocamento, as quais são repetidas tantas vezes quanto necessário, com o

objetivo de atingir uma região ótima da superfície investigada. A modelagem é normalmente feita ajustando-se modelos simples (em geral, lineares ou quadráticos) a respostas obtidas com planejamentos fatoriais ou planejamentos fatoriais ampliados. O deslocamento se dá sempre ao longo do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; TARLEY, 2009).

Para que os resultados obtidos de ensaios experimentais possam ser analisados através de métodos estatísticos, possibilitando elaborar conclusões objetivas, o planejamento experimental deve ser baseado numa metodologia também estatística, que é a única forma objetiva de avaliar os erros experimentais que afetam esses resultados (BUTTON, 2012).

Há três técnicas básicas para a definição dos ensaios num planejamento experimental: o uso de *réplicas*, *aleatorização* (ou “*randomização*”) e de *blocos*.

A *réplica* consiste na repetição de um ensaio sob condições preestabelecidas. Esta técnica permite obter-se uma estimativa de como o erro experimental afeta os resultados dos ensaios e se esses resultados são estatisticamente diferentes. Ela também permite verificar qual a influência de uma determinada variável sobre o comportamento de um processo, quando a comparação é feita pela média das amostras (BUTTON, 2012).

A *aleatorização* ou *randomização* é uma técnica de planejamento experimental puramente estatística em que a seqüência dos ensaios é aleatória e a escolha dos materiais que serão utilizados nesses ensaios também é aleatória (BUTTON, 2012).

Uma das exigências do uso da metodologia estatística para o planejamento experimental e para a análise dos resultados é que as variáveis estudadas e os erros experimentais observados apresentem um caráter aleatório, o que é conseguido pelo emprego desta técnica (BUTTON, 2012).

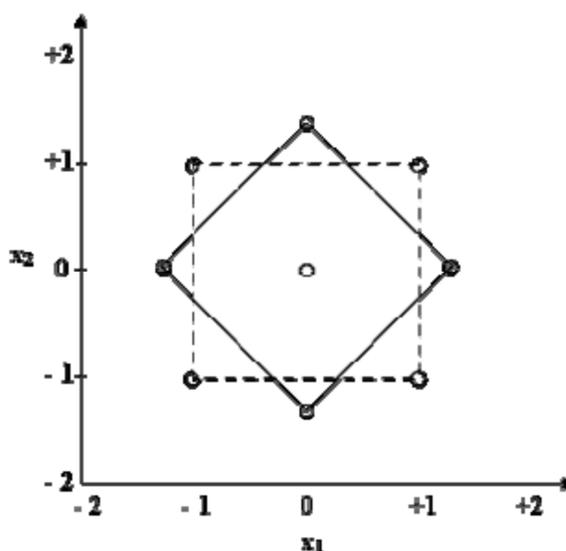
A técnica dos *blocos* permite realizar-se a experimentação com uma maior precisão, reduzindo a influência de variáveis incontroláveis. Um bloco é uma porção do material experimental que tem como característica o fato de ser

mais homogêneo que o conjunto completo do material analisado. O uso de blocos envolve comparações entre as condições de interesse na experimentação dentro de cada bloco. Na análise com blocos, a aleatorização é restringida à sequência de ensaios interna dos blocos e não ao conjunto total de ensaios (BUTTON, 2012).

### 2.5.1 Planejamentos compostos centrais

Em muitos casos, a realização de repetições autênticas pode ser algo inconveniente por diversas razões. Para contornar este infortúnio e obter uma boa estimativa dos erros, um experimento é normalmente incluído no centro do planejamento, em que o valor médio dos níveis de todas as variáveis é empregado. São os conhecidos experimentos no ponto central (nível zero). Deste modo, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem (completos ou fracionários) como em metodologias de superfície de resposta. Além desta vantagem, recomenda-se este tipo de experimento pelas seguintes razões: o risco de perder a relação não linear entre os intervalos é minimizado e é possível estimar um modelo razoável e verificar se há falta de ajuste (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

O planejamento em estrela é um exemplo de planejamento composto central para dois fatores (Figura 3). Em geral, um planejamento composto central para  $k$  fatores, devidamente codificados como  $(x_1, \dots, x_k)$ , é formado de três partes: Uma parte chamada fatorial (ou cúbica), contendo um total de  $n_{\text{fat}}$  pontos de coordenadas  $x_i = -1$  ou  $x_i = +1$ , para todos os  $i = 1, \dots, k$ . Uma parte axial (ou estrela), formada por  $n_{\text{ax}} = 2k$  pontos em todas as coordenadas nulas, exceto uma, que é igual a um certo valor  $\alpha$  (ou  $-\alpha$ ). Um total de  $n_{\text{centr}}$  ensaios realizados no ponto central, onde, é claro,  $x_1 = \dots = x_k = 0$  (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).



**Figura 3** – Planejamento composto central em estrela (adaptado de NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010)

Para realizar um planejamento composto central, precisamos definir como será cada uma dessas três partes. Precisamos decidir quantos e quais serão os pontos cúbicos, qual o valor de  $\alpha$  e quantas repetições faremos no ponto central. Box e Hunter (1957) propuseram o conceito de rotabilidade como critério para escolher o valor de  $\alpha$ . Um planejamento é chamado de rodável se a variância de suas estimativas, só depender da distância em relação ao ponto central, isto é, se a precisão da resposta prevista for a mesma em todos os pontos situados numa dada hiper(esfera) com centro no próprio centro do planejamento (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010)

As repetições no ponto central têm duas finalidades: fornecer uma medida do erro puro e estabilizar a variância da resposta prevista. Para estabilizar a variância, uma regra prática é fazer de 3 a 5 ensaios repetidos se  $\alpha$  estiver próximo de  $\sqrt{K}$ , e somente um ou dois a mais se estiver perto de 1. Para obter uma estimativa do erro, aumentar o número de repetições (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

A Figura 4 ilustra os pontos experimentais no sistema de coordenadas definidas pelos eixos  $x_i$ .

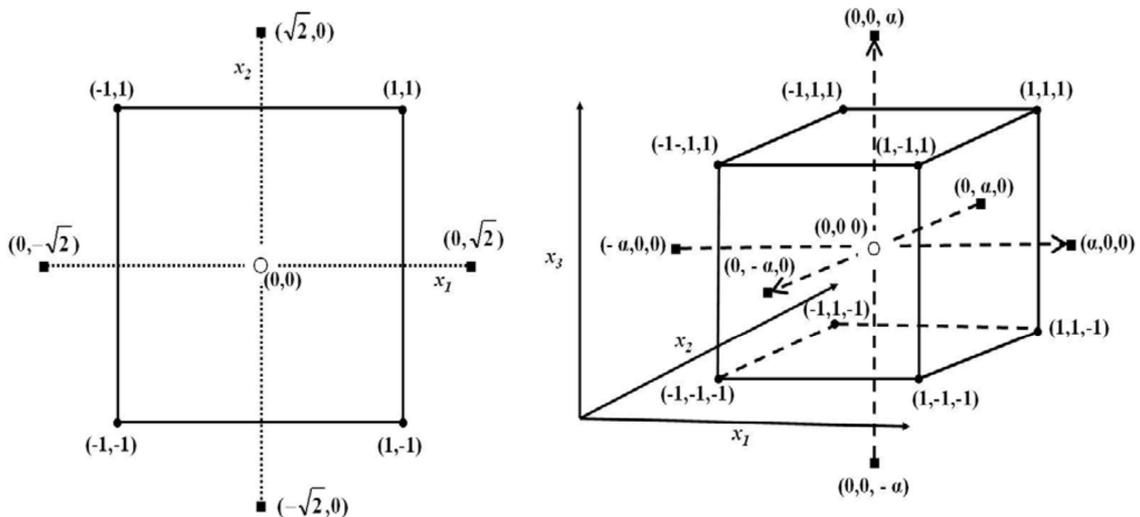


Figura 4 – Planejamentos compostos centrais: (a)  $k = 2$  e  $\alpha=1,414$ , (b)  $k = 3$  e  $\alpha=1.682$ . (●) planejamento fatorial, (■) pontos axiais e (○) ponto central (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Outra vantagem dos planejamentos compostos centrais reside no fato de serem formados de três partes distintas, podemos construí-los sequencialmente, conforme a necessidade. Se estivermos numa região da superfície de resposta em que a curvatura não seja importante, então não precisamos de um modelo quadrático, e podemos utilizar a parte cúbica do planejamento, com o qual podemos ajustar um modelo linear e em seguida, se for o caso, deslocar para uma região mais interessante da superfície (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Se estivermos na dúvida sobre a curvatura, podemos usar os ensaios do ponto central para testar sua significância. Finalmente, se a curvatura se revelar significativa, podemos completar o planejamento com os pontos axiais. Estaremos na verdade, fazendo os ensaios em dois blocos, primeiro o cúbico e depois o axial (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

## 2.6 Validação de métodos

A validação determina a adequação de uma análise no sentido de fornecer a informação desejada. Pode ser aplicada a amostras, métodos e dados. Neste sentido existem documentos orientativos para a validação, como os desenvolvidos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), através do DOQ-CGCRE-08 de julho de 2011. O guia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através do Guia para a Qualidade em Química Analítica de abril de 2003, bem como guias elaborados por órgãos internacionais como a União Internacional de Química Pura e Aplicada – IUPAC, dentre outras, são exemplos destes documentos.

As principais características de desempenho podem abordar: Seletividade; Faixa de medição ou faixa linear; Exatidão; Precisão; Recuperação; Limite de detecção; Limite de quantificação e Robustez (INMETRO, 2011).

### 2.6.1 Efeito Matriz

Diferentes compostos quando presentes em matrizes complexas podem apresentar diferenças na resposta do sistema de detecção cromatográfica, tanto em cromatografia líquida quanto em fase gasosa. Sendo possível desta forma, observar tanto incremento quanto supressão do sinal analítico na resposta do detector na presença do analito no extrato da matriz, quando comparado com o mesmo analito presente em solvente orgânico (PIZZUTTI *et al.*, 2007; PINHO *et al.*, 2009; GOSETTI *et al.*, 2010). Quando o resultado for acima de 10% considera-se que o efeito matriz começa a exercer influência nas análises (PIZZUTTI *et al.*, 2007; PINHO *et al.*, 2009).

Existem algumas formas que permitem minimizar e/ou eliminar este efeito, buscando reduzir a quantidade de componentes da matriz que podem co-eluir com os analitos, o auxílio de processos de preparo de amostra mais eficientes incluindo as diferentes etapas de clean-up disponíveis atualmente, podem ser utilizadas com o intuito de reduzir estes efeitos. No entanto, uma ferramenta bastante útil que pode ser utilizada é o preparo dos padrões para a calibração do sistema desenvolvido diretamente no extrato da matriz, ou uma matriz similar a amostra, denominado matriz de substituição, também conhecido pelo termo em inglês, *Matriz Matched* (PICÓ *et al.*, 2004).

#### 2.6.1.1 Efeito Matriz na Cromatografia em Fase Gasosa

Outras alterações também podem ser observadas nos sistema de detecção, oriunda do efeito de matriz no sistema cromatográfico, sendo possível a ocorrência de mascaramento do pico do analito, muitas vezes provocado por perdas no sistema de injeção; como matrizes complexas apresentam componentes diversos, pode ocorrer erroneamente a identificação de algum componente como se houvesse presença do analito, sendo que na verdade o mesmo não se faz presente; interações no sistema de introdução da amostra também podem provocar incremento do sinal analítico, proporcionando assim, uma superestimação do resultado, principalmente quando impurezas voláteis estão presentes; além da possibilidade de ocorrer supressão do sinal do analito, gerando subestimação do resultado (PINHO *et al.*, 2009).

As condições de operação do sistema cromatográfico são de extrema relevância quando se discute influências/interferências provocadas por matrizes complexas, um exemplo destes eventos é a possibilidade do estabelecimento de interações com os sítios ativos presentes no insersor, no qual pode ocorrer a retenção de alguns compostos, reduzindo a quantidade de

analito que entra para a coluna cromatográfica, o que por consequência reduz o sinal analítico. Alternativas que auxiliam no controle de diferentes fatores é o preparo das soluções padrões diretamente no extrato da matriz, aliado a um bom clean-up da amostra (FRENICH *et al.*, 2009; PINHO *et al.*, 2009).

A investigação da presença de efeito matriz é imprescindível, pois representa uma desvantagem em praticamente todas as técnicas instrumentais, principalmente quando acopladas a espectrometria de massas, visto que nestes sistemas os efeitos de interferência são mais frequentes, sendo mais comum e não uma regra, a supressão de sinal na cromatografia líquida e o incremento de sinal na cromatografia em fase gasosa quando acoplados a sistemas de detecção por espectrometria de massas (GOSSETTI *et al.*, 2010).

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Este trabalho consistiu no estudo de método analítico para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em águas superficiais, através da aplicação de planejamento experimental visando à otimização das condições experimentais e validação de método empregando extração em fase sólida (SPE) para agrotóxicos em águas superficiais. A verificação do desempenho do método de extração foi realizada por GC-(TQ)-MS/MS.

Os parâmetros analíticos avaliados durante a validação foram: seletividade, linearidade, exatidão através de ensaios de recuperação, precisão (repetitividade e precisão intermediária), limite de detecção e quantificação, robustez e efeito matriz.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

### 3.1 Instrumentação

A instrumentação utilizada para o desenvolvimento deste trabalho segue descrita abaixo:

- Agitador Vortex - Biomixer Modelo QL-901 (Microtécnica, Brasil);
- Balança analítica, modelo SV-200 (AND, Japão);
- Micropipetadores automáticos com volume variável (Brand, Alemanha);
- Sistema de purificação de água Milli-Q Direct UV3® (Millipore, Bedford, MA, EUA);
- Balança analítica de precisão AUW-220D (Shimadzu, Japão);
- Bomba à vácuo (Tecnal, Brasil);
- Sistema de *manifold* SPE (Varian, EUA);
- pHmetro modelo pH 500 series Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, EUA);
- Sistema GC-TQ-MS/MS: cromatógrafo a gás Varian 1200-MS equipado com:
  - ✓ Amostrador automático CP 8400 (Varian, EUA);
  - ✓ Coluna capilar VF-5-MS (5% fenil 95% metilpolisiloxano), com 30m de comprimento x 0,25 mm de d.i; 0,25 µm de espessura de filme (Varian, EUA);
  - ✓ Cromatógrafo a gás CP 3800 (Varian, EUA);
  - ✓ Analisador de massas triplo quadrupolo (TQ) 1200, operando no modo MRM (Varian, EUA);
  - ✓ Injetor 1079 com Programação de Temperatura de Vaporização - PTV;
  - ✓ (Varian, EUA);
  - ✓ Sistema de aquisição de dados através do *Software MS Workstation* 6.6 (Varian, EUA);

### 3.2 Materiais e Reagentes Utilizados

- Gás de arraste: Hélio 99,999% de pureza (White Martins e Air Products, Brasil);
- Gás argônio 6.0 usado como gás de colisão no GCMS/MS, pureza 99,9992% (White Martins e Air Products, Brasil);
- Diclorometano, grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- Acetonitrila, grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- Metanol grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- Acetona grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- Hexano grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- Padrões sólidos dos agrotóxicos em estudo, conforme Tabela 3.
- Água purificada em sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩcm);
- Ácido fosfórico p.a. 85% (Merck, Brasil);
- Filtros de *nylon* de 47mm e porosidade de 0,22 μm (Vertical Chromatography, Tailândia);
- Sistema de Filtração para sólidos suspensos (Millipore, Bedford, MA, EUA);
- Água destilada e água deionizada;
- Álcool etílico hidratado 92,8 °GL;
- Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct UV3® (resistividade de 18,2 MΩ cm);
- Frascos de vidro (vial), capacidade de 2 mL;
- Frascos de vidro (vial), capacidade de 5 mL;
- Cartuchos para SPE Strata C18 500 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- Cartuchos para SPE Oasis® HLB 60 mg/3 mL (Waters, EUA);
- Cartuchos para SPE Strata-X® 200 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- Vidraria comum de laboratório;
- Detergente neutro Extran® (Merck, Brasil)
- Seringas de volume de 50, 100 e 1000 μL (Hamilton, Suíça).

### **3.3 Agrotóxicos selecionados para o estudo**

Os agrotóxicos avaliados neste trabalho foram selecionados com base nos principais cultivares da região Noroeste Colonial do Estado do Rio Grande do Sul, sendo eles o milho, o trigo e a soja, tendo como base alguns dos agrotóxicos permitidos e não permitidos listados no Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC-Vegetal) 2011-2012, para as referidas culturas. Os compostos selecionados para este estudo foram adquiridos da empresa Dr. Ehresntorfer (Ausburg, Alemanha), o padrão deuterado foi adquirido da empresa CND Isotopes e estão listados na Tabela 3, juntamente com o grau de pureza, classe, grupo químico e informações físico-químicas.

**Tabela 3** – Compostos selecionados para estudo e informações físico-químicas

Nome do Composto [CAS RN]	Pureza (%)	Grupo Químico	Classe	M.M (g.mol <sup>-1</sup> )	P.F (C)	P.E (C)	Solubilidade em água (mg.L <sup>-1</sup> )	Log P ou Log K <sub>ow</sub>	PV (mPa)	K <sub>oc</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	pKa
2,4-DDD [53-19-0]	97,5	Organoclorado	I	320,0	78	193	0,05	6,91	2,58 x10 <sup>-1</sup>	-	
4,4-DDE [3424-82-6]	98,5	Organoclorado	P, D	318,0				6,96			
DDT [50-29-3]	99,0	Organoclorado	I	354,49	109	185	0,006	6,91	0,025	151000	-
Alaclor [15972-60-8]	99,5	Cloroacetamida	H	269,77	41	100	240	3,09	2,9	335	
Aldrin [309-00-2]	99,0	Organoclorado	I	364,91	104	145	0,027	6,5	3	17500	
Atrazina [1912-24-9]	98,0	Triazina	H	215,68	175,8	D	35	2,7	0,039	100	1,7
Bifentrina [82657-04-3]	99,0	Piretroide	I, A	422,88	79,6	D	0,001	6,6	0,0178	236610	
Bromofós Etílico [4824-78-6]	98,0	Organofosforado	I	394,0	-	-	0,44	6,15	-	-	
Bromofós Metílico [2104-96-3]	98,0	Organofosforado	I	366	53	-	40	5,21	17,07	17	
Clomazone [81777-89-1]	99,5	Isoxazolidinona	H	239,7	33,9	281,7	1102	2,54	19,2	300	ND
Clortalonil [1897-45-6]	99,5	Cloronitrila	F	265,91	252,1	350	0,81	2,94	0,076	850	ND
Clorpirifós Etílico [2921-88-2]	97,5	Organofosforado	I	350,89	41,5	D	1,05	4,7	1,43	8151	ND

Nome do Composto [CAS RN]	Pureza (%)	Grupo Químico	Classe	M.M (g.mol <sup>-1</sup> )	P.F (C)	P.E (C)	Solubilidade em água (mg.L <sup>-1</sup> )	Log P ou Log K <sub>ow</sub>	PV (mPa)	K <sub>oc</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	pKa
Clorpirifós Metílico [5598-13-0]	98,0	Organofosforado	I, A	322,53	46	360	2,74	4,0	3,0	4645	-
Diazinona [333-41-5]	96,0	Organofosforado	I, A	304,3	-	D	60	3,69	11,97	609	2,6
Dicofol [115-32-2]	98,8	Organoclorado	A	370,49	193	370,5	0,8	4,3	0,25	6064	-
Dieldrin [60-57-1]	97,5	Organoclorado	I, M	380,91	177	385	0,14	3,7	0,024	12000	ND
Endossulfan alfa [959-98-8]	98,0	Organoclorado	I, A	406,9	109,2	401,3	0,32	4,74	6,22 x 10 <sup>-6</sup>	11500	
Endossulfan beta [19670-15-6]	99,5	Organoclorado	I, A	406,9	80	-	0,32	4,75	0,83	11500	
Endossulfan Sulfato [1031-07-8]	99,5	Organoclorado	I	422,9	-	-	0,48	3,66	-	5194	
Endrin [7220-8]	99,0	Organoclorado	I, Av	380,91	200	-	0,24	3,2	0,09	10000	-
Fenitrotiona [122-14-5]	99,0	Organofosforado	I	277,23	1	D	19	3,32	0,676	2000	ND
Fipronil [120068-37-3]	99,0	Fenilpirazol	I	437,15	203	D	3,78	3,75	0,002	-	ND
HCH alfa [319-84-6]	97,5	Organoclorado	I	290,82	112,9	323,4	8,52	3,5	4,4	1270	-
HCH beta [319-85-7]	97,5	Organoclorado	I, A	290,82	112,9	323,4	8,52	3,5	4,4	1270	-
HCH delta [319-86-8]	98,4	Organoclorado	I	290,82	112,9	323,4	8,52	3,5	4,4	1270	-

Nome do Composto [CAS RN]	Pureza (%)	Grupo Químico	Classe	M.M (g.mol <sup>-1</sup> )	P.F (C)	P.E (C)	Solubilidade em água (mg.L <sup>-1</sup> )	Log P ou Log K <sub>ow</sub>	PV (mPa)	K <sub>oc</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	pKa
HCH gama - Lindano [58-89-9]	99,0	Organoclorado	I, A	290,82	112,9	323,4	8,52	3,5	4,4	1270	-
Heptacloro [76-44-8]	98,5	Organoclorado	I	373,32	95	-	0,056	5,44	53	24000	-
Heptacloro Epóxido Endo [28044-83-9]	99,0	Organoclorado	P, D								
Hexaclorobenzeno [118-74-1]	99,5	Organoclorado	F, M	284,80	226	325	0,0047	3,93	1,45	50000	-
Malationa [121-75-5]	99,0	Organofosforado	I, A	330,36	-20	D	148	2,75	3,1	1800	ND
Metalaxil [57837-19-1]	98,0	Fenilamida	F	279,33	67,9	-	7100	1,65	0,75	-	0
Metidationa [950-37-8]	99,0	Organofosforado	I, A	302,3	39,5	-	240	2,57	0,25	400	-
Mirex [2385-85-5]	99,0	Organoclorado	I	545,54	485	-	0,085	5,28	-	5794	-
Parationa Metílica [298-00-0]	97,0	Organofosforado	I	263,21	35,5	154	55	3	0,2	240	-
Permetrina [52645-53-1]	98,5	Piretroide	I	391,3	34,5	200	0,2	6,1	0,007	100000	-
Pirimifós Etílico [23505-41-1]	98,5	Organofosforado	I, A	333,39	15	-	93	4,85	0,68	300	-
Pirimifós Metílico [29232-93-7]	99,0	Organofosforado	I, A	305,33	21	D	11	3,9	0,002	1100	4,3

Nome do Composto [CAS RN]	Pureza (%)	Grupo Químico	Classe	M.M (g.mol <sup>-1</sup> )	P.F (C)	P.E (C)	Solubilidade em água (mg.L <sup>-1</sup> )	Log P ou Log K <sub>ow</sub>	PV (mPa)	K <sub>oc</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	pKa
Procimidona [32809-16-8]	98,0	Dicarboximida	F	284,14	164,5	478	2,46	3,3	0,023	378	ND
Quintozeno [82-68-8]	96,0	Clorofenil	F	295,3	143	328	0,44	4,46	12,7	4498	-
Tebuconazol [107534-96-3]	94,0	Triazol	F	307,82	105	D	36	3,7	0,0013	-	-
Tetraconazol [112281-77-3]	98,5	Triazol	F	372,15	-29,2	D	156,6	3,56	0,18	-	0,65
Tetradifona [116-29-0]	99,0	Clorodifenilsulfona	A	356,06	146	-	0,078	4,61	3,20 x 10 <sup>-5</sup>	100	-
Trifenilfosfato [115-86-6]	99,5	-		326,3	-	-	-	-	-	-	-
Trifloxistrobina [141517-21-7]	97,5	Estrobilurina	F	408,37	72,9	-	0,61	4,5	3,40 x 10 <sup>-3</sup>	-	ND
Trifluralina [1582-09-8]	97,5	Dinitroanilina	H	335,28	47,2	D	0,221	5,27	9,5	15800	ND

Onde: I = Inseticida; F = Fungicida; H = Herbicida; A = Acaricida; Av = Avicida, M = Metabólito, PF = Ponto de Fusão; PE = Ponto de Ebulição; M.M = Massa molar; PV = Pressão de Vapor; Kow = Coeficiente de partição octanol água; Koc = Coeficiente de adsorção a matéria orgânica do solo. Fonte: Pesticide Manual (2000–2001); FOOTPRINT Pesticide Properties Database (2013).

### 3.4 Amostra Branco

Para a validação do método analítico, as amostras devem ser isentas dos agrotóxicos que serão avaliados, tendo em vista, que isto pode interferir nas análises, podendo causar diferentes erros na etapa de quantificação dos analitos de interesse. A utilização de amostras que atendem estas características de isenção são denominadas amostras “branco”.

Para as amostras consideradas branco de água superficial, foi utilizada a água de um açude dentro do município de Ijuí, zona urbana, situado dentro da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ), protegido por mata ciliar, e sem lavouras em seu entorno.

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

Foram avaliadas algumas características físico-químicas da matriz “branco”, a fim de conhecer algumas informações adicionais a respeito da mesma, estas informações estão descritas na Tabela 4. Os métodos utilizados seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Eaton *et al.*, 2005).

**Tabela 4:** Informações físico-químicas da matriz “branco”.

Parâmetro	Unidade	Resultado
Condutividade	$\mu\text{S cm}^{-1}$	71,4
Demanda Química de Oxigênio	$\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$	23,8
pH	-	7,4
Sólidos Totais Dissolvidos	$\text{mg L}^{-1}$	34,5
Sólidos Totais Suspensos	$\text{mg L}^{-1}$	1,3
Turbidez	NTU	8,9

### 3.5 Seleção do Padrão Interno e do Padrão de Substituição

A fim de avaliar o procedimento de extração, bem como assegurar sua correta execução, é possível a utilização de padrões de controle de qualidade. Estes compostos são adicionados em diferentes estágios do procedimento analítico. No caso dos padrões de substituição (PS), estes são utilizados em etapas anteriores a extração, a fim de controlar todo o procedimento, já os padrões internos, são adicionados em estágios anteriores à injeção, a fim de verificar o desempenho do instrumento, ambos podendo auxiliar na identificação de fontes errôneas (SANCO, 2012).

Para a avaliação do instrumento, neste trabalho foi utilizado trifenílfosfato e quintozeno, aceitando-se valores de 20% de variação na área, salientando que os mesmos não são utilizados para os cálculos na quantificação dos agrotóxicos de interesse. Após a obtenção do extrato das amostras branco, foi adicionado 10  $\mu\text{L}$  de uma solução contendo quintozeno e trifenílfosfato na concentração de 5  $\text{mg L}^{-1}$  e extrato até completar 1 mL.

Com o intuito de monitorar o procedimento de extração, foi utilizado a trifluralina-d14 como padrão de substituição, não sendo a mesma utilizada para qualquer outro cálculo de correção. Para todas as amostras foram adicionados antes do procedimento de extração 20  $\mu\text{L}$  de uma solução deste padrão na concentração de 5  $\text{mg L}^{-1}$ .

### 3.6 Preparo das soluções analíticas utilizadas

Inicialmente para o preparo das soluções estoque, foi calculado individualmente a massa de cada padrão, levando em consideração a pureza individual e fazendo a correção necessária para obter uma solução de 1000  $\text{mg L}^{-1}$ . Posteriormente os padrões foram transferidos para balões de 10

mL e diluídos em acetonitrila grau HPLC, agitados em vortex por 1 minuto. Tendo como base as soluções estoque individuais de cada composto, foi efetuado uma posterior diluição à concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  também em acetonitrila grau HPLC.

A partir das soluções estoque de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , foi preparado uma mistura contendo todos os compostos de interesse em uma concentração de  $5 \text{ mg L}^{-1}$ , em balão de 10 mL utilizando acetonitrila como solvente. Essa mistura de compostos foi utilizada para o preparo de uma solução na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  que foi utilizada para o preparo das soluções analíticas de trabalho nas concentrações de 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100,0; 150,0 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , as quais foram utilizadas para avaliar a linearidade do método, os ensaios de fortificação, bem como a curva analítica utilizada para calibração do instrumento e posterior quantificação. A solução de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  foi preparada diariamente sempre que executados os testes, não sendo reutilizada.

Todas as soluções analíticas foram armazenadas em frascos âmbar envoltos em papel alumínio, a temperatura menor que  $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ , sendo que, antes de sua utilização foram retiradas do freezer até atingir a temperatura ambiente.

### **3.7 Otimização do Sistema Cromatográfico para Determinação Multirresíduo de Agrotóxicos em água**

As determinações dos agrotóxicos em estudo foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplada a Espectrometria de Massas em Série (GC-(TQ)-MS/MS), sendo a aquisição dos íons obtidas através do modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM).

A cromatografia quando aliada a espectrometria de massas possibilita a determinação multirresíduo de diferentes compostos, visto que apesar de muitos analitos não obterem uma resolução satisfatória através do sistema cromatográfico, a possibilidade de operação em diferentes modos de

monitoramento dos íons formados no modo SIM e o MRM, fornece condições para a separação dos compostos através dos espectros de massas obtidos, fornecendo meios para a identificação e quantificação de diferentes compostos, mesmo que não totalmente separados na coluna cromatográfica, com elevado grau de confiabilidade.

### 3.7.1 Condições cromatográficas

A escolha das condições iniciais para a programação do forno da coluna baseou-se em outras já utilizadas no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) da Universidade Federal de Santa Maria (MARTINS, 2010; PEREIRA, 2012; DONATO, 2012). A programação de temperatura utilizada para o forno da coluna foi desenvolvida visando o maior número de separação possível através da técnica de cromatografia, tendo em vista a quantidade relativamente grande de compostos e a possibilidade de coeluição dos mesmos. A etapa de separação é extremamente importante, em virtude de proporcionar uma melhor otimização dos segmentos na espectrometria de massas, buscando melhor sensibilidade para os analitos, pois o analisador precisa monitorar todos os íons dentro de cada segmento por um determinado tempo, sendo assim quanto menor a quantidade de íons dentro de cada segmento, maior o tempo que o analisador pode ficar rastreando/registando os íons de interesse.

As condições do GC-(TQ)-MS/MS utilizadas neste estudo, estão descritas abaixo:

- Temperatura do injetor: 280 °C;
- Volume de injeção 2,0 µL (splitless);
- Programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 80 °C (1,0 min), com incremento de temperatura de 25 °C min<sup>-1</sup> até 160 °C; logo após um incremento de 8 °C min<sup>-1</sup> até 269 °C (9,0 min);

- Vazão do gás de arraste (Hélio) constante em  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ;
- Tempo total de corrida: 25,57 min.

Para o espectrômetro de massas:

- Temperatura de transferline:  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- Temperatura da fonte de ionização:  $210 \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- Modo de aquisição MS/MS (MRM);
- Fonte de ionização por impacto de elétrons ( $70 \text{ eV}$ );
- Gás de colisão argônio a pressão de  $2 \text{ mTorr}$ ;

### 3.7.2 Otimização das condições do espectrômetro de massas para a aquisição dos espectros

A otimização do sistema visando as melhores das condições para a obtenção dos espectros de massas, perpassou pela injeção de  $2\mu\text{L}$  de cada composto de interesse, na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  no modo *full scan*, possibilitando a identificação do espectro de massas para a escolha dos íons a serem utilizados, bem como o tempo de retenção para cada analito investigado, a fim de definir os segmentos/janelas de análise.

Para a operação do espectrômetro no modo MRM, foi necessária a escolha dos íons produtos, a partir de íons selecionados no primeiro quadrupolo (íons pais). A otimização da energia fornecida na célula de colisão (Q2) influencia diretamente na intensidade e no tipo de fragmentação que será observada, neste sentido foi selecionado o íon de interesse através de monitoramento de íon seletivo no primeiro quadrupolo (Q1) e variada diferentes energias de colisão no segundo quadrupolo, na faixa de 5 a 40 Volts, obtendo os espectros no modo *full scan* ( $50 - 500 \text{ m/z}$ ) no terceiro quadrupolo (Q3), sendo possível desta forma analisar a melhor energia para a fragmentação de cada íon selecionado, bem como a escolha do íon de maior intensidade.

Os resultados deste estudo foram utilizados para otimizar as transições para o modo de reações múltiplas (MRM) utilizadas na quantificação e qualificação dos diferentes compostos de interesse. A transição de maior intensidade foi utilizada para a quantificação e o segundo íon de maior intensidade foi utilizado para a qualificação/confirmação.

### **3.8 Otimização do Sistema de Extração em Fase Sólida (SPE)**

A extração e pré-concentração de compostos em amostras de águas por SPE, faz uso de um dispositivo tipo *manifold*, que compreende uma caixa mantida a vácuo durante a operação e um suporte que fornece condições de adaptar até 12 cartuchos de extração simultaneamente, conforme demonstrado na Figura 5. As amostras são colocadas em balões volumétricos e transferidas para os cartuchos de SPE através de tubulações de politetrafluoretileno (PTFE) ou tubos de vidro. A transferência de matéria é feita por intermédio da diferença de pressão gerada através de uma bomba de vácuo. A vazão do líquido que percola pelo cartucho é controlada através das torneiras e válvulas da bomba. Adotou-se uma vazão na faixa de 2,0 a 4,0 mL min<sup>-1</sup>.



**Figura 5** – Sistema de Extração em Fase Sólida (SPE)

As amostras de águas superficiais podem apresentar quantidade significativa de sólidos em suspensão, partículas suscetíveis de causar entupimento e aderência no sistema cromatográfico. Com o intuito de remover a maior parte destes sólidos em suspensão, as amostras de águas foram submetidas à filtração a vácuo, através de um sistema com filtro de membrana de nylon de 0,22  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro, removendo desta forma grande parte de sólidos presentes.

Para a otimização do método de extração, foi utilizado água potável no volume de 100 mL contendo uma mistura de todos os analitos em estudo.

### 3.8.1 Escolha do tipo de sorvente utilizado

Para a escolha do melhor tipo de sorvente a ser utilizado no método de extração foram avaliados três tipos disponíveis comercialmente: Strata-X<sup>®</sup> 200 mg, Strata C18 500 mg, Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg. As amostras foram fortificadas na concentração de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A escolha do sorvente a ser utilizado para a extração dos compostos em estudo foi realizada através de planejamento experimental tipo estrela, sendo avaliadas as variáveis: Tipo de sorvente, mistura de solvente (mistura de solventes – Metanol e Dicolorometano) para a eluição e diferentes valores de pH. O tipo de sorvente escolhido foi aquele que apresentou a melhor recuperação dos analitos.

Para o condicionamento dos cartuchos utilizou-se um volume de metanol em função da solubilidade em água na etapa de equilíbrio, e um volume de água ultrapura antes da percolação da amostra no mesmo pH a ser utilizado na extração, tendo como base a escolha do solvente para ativação, trabalhos anteriores desenvolvidos no LARP (DONATO, 2012; SABIN, 2007).

### 3.8.2 Escolha do eluente a ser utilizado

O eluente tem papel fundamental na extração de compostos que estão adsorvidos no sorvente, visto que ele deve permitir a dessorção dos analitos de forma eficiente, e que os interferentes não sejam mobilizados pelo mesmo, permanecendo retidos. O mais indicado é que esta eluição seja realizada em um pequeno volume, permitindo que os analitos quando presentes em pequenas concentrações na amostra sofram um processo de pré-concentração quando necessário, podendo ser injetado no sistema cromatográfico.

A investigação do melhor eluente foi obtido através dos ensaios de recuperação para cada tipo de sorvente, avaliando diferentes proporções entre um solvente com grande polaridade neste caso o metanol (MeOH) e outro solvente com baixa polaridade, utilizado neste estudo o diclorometano (DCM), as proporções utilizadas entre os solventes foram definidas através do planejamento experimental, e a escolha do melhor sistema (mistura de solvente) através dos melhores resultados para os ensaios de recuperação dos analitos.

### 3.9 Planejamento Experimental

A fim de identificar as melhores condições para o método de extração, foi realizado o planejamento fatorial em estrela para cada tipo de sorvente: Strata-X<sup>®</sup> 200 mg, Strata C18 500 mg, Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg, sendo que o mesmo consistiu na variação de dois fatores: O sistema de eluição, que avaliou o intercruzamento de dois solventes com polaridades diferentes, sendo utilizado metanol e diclorometano, e também avaliado diferentes valores de pH. As condições geradas para o planejamento experimental se deram através de planilhas do Microsoft Office<sup>®</sup> Excel 2010, já utilizadas pelo LARP, construídas com base em NETO, SCARMÍNIO & BRUNS, 2010. A Tabela 5 representa os testes gerados a partir do planejamento experimental.

**Tabela 5** – Ensaio para cada tipo de sorvente utilizado no planejamento experimental

Ensaio	% MeOH* em DCM**	pH***
E 01	15	3,5
E 02	15	7,5
E 03	85	3,5
E 04	85	7,5
E 05	50	5,5
E 06	50	5,5
E 07	50	5,5
E 08	50	2,7
E 09	100	5,5
E 10	50	8,3
E 11	0	5,5

\*MeOH = Metanol; \*\*DCM = Diclorometano; \*\*\*pH = potencial hidrogeniônico

Após a realização dos diferentes ensaios para cada tipo de sorvente, a condição ótima apresentada pela superfície de resposta foi testada, a fim de confirmar experimentalmente os resultados obtidos através do planejamento experimental.

### **3.10 Validação do Método de Extração em Fase Sólida (SPE)**

Uma vez conhecidas as melhores condições cromatográficas, o modo de obtenção do espectro de massas (MRM), bem como o melhor procedimento para extração dos agrotóxicos, foi desenvolvida a validação do método analítico.

Neste trabalho, a validação do método analítico compreendeu a avaliação das seguintes figuras de mérito: Seletividade, linearidade e curva analítica, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), exatidão através do ensaio de recuperação, precisão (repetitividade e precisão intermediária), robustez e avaliação do efeito matriz.

#### **3.10.1 Seletividade**

A seletividade do método foi avaliada por intermédio da injeção de amostra de água de açude (Matriz) sem a presença dos agrotóxicos avaliados (amostra branco) e amostras fortificadas ao nível de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , com o objetivo de verificar a possível presença de algum interferente no mesmo tempo de retenção dos analitos, que apresentasse os mesmos íons de quantificação e confirmação. A seletividade do método foi assegurada pela ausência dos íons de quantificação e qualificação, quando comparado às injeções dos extratos da amostra branco, com os extratos das amostras fortificadas.

### 3.10.2 Linearidade e Curva Analítica

As linearidades das curvas de calibração foram avaliadas a partir das soluções analíticas preparadas conforme descrito no item 3.6, tanto em solvente, quanto no extrato da matriz, nas concentrações de 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0; 150 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

As soluções para obtenção das curvas analíticas no solvente e na matriz foram injetadas três vezes e confeccionadas em triplicadas para o extrato da matriz e duplicata para o solvente. A partir disso, foram calculadas as médias das áreas de cada analito, em seguida foi obtida a equação de regressão linear e o coeficiente de determinação ( $r^2$ ), com o auxílio do programa Microsoft Office® Excel 2010, a fim de obter a linearidade da curva analítica para cada composto.

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

O limite de quantificação (LOQ) para cada analito foi considerado como o menor ponto da curva analítica, levando em consideração a relação sinal ruído, sendo a concentração correspondente a um sinal que corresponda a 10 vezes o ruído instrumental definido como o limite de quantificação. Já o limite de detecção (LOD) a concentração para cada analito que corresponda a uma relação sinal/ruído de 3,33 (INMETRO, 2011).

Levando em consideração que o método de extração em fase sólida também apresenta etapa de concentração da amostra, os limites encontrados referentes ao instrumento são diferentes dos encontrados para o método. O  $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$  instrumentais são expressos em  $\mu\text{g L}^{-1}$  sem levar em consideração a pré-concentração do analito. Já o limite de detecção e

quantificação do método analítico em  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $\text{LOD}_m$  e  $\text{LOQ}_m$  respectivamente, foram obtidos dividindo-se o valor do  $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$  pelo fator de concentração encontrado no método de extração desenvolvido (RIBANI, 2004).

### 3.10.4 Avaliação da Precisão (Repetitividade e Precisão Intermediária)

Neste trabalho o estudo da precisão do método analítico foi avaliado através do desvio padrão relativo conforme descrito através da Equação 2.

$$RSD (\%) = \frac{S}{x_m} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

S = estimativa do desvio padrão absoluto;

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

$X_i$  = valores individuais;

$X_m$  = média das medidas em replicatas;

N = número de medidas;

A precisão em termos de repetitividade ( $RSD_r$ ) foi verificada através da extração e determinação das amostras fortificadas em extrato da matriz, sendo realizadas sete extrações em três níveis de fortificação, na concentração de 25,0; 50,0; 100,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  e cada um dos extratos foi injetado uma vez.

A precisão intermediária ( $RSD_{pi}$ ) do método foi avaliada em dias diferentes dos utilizados para a repetitividade, sendo executado o procedimento analítico completo para sete extrações no nível de fortificação de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

### 3.10.5 Ensaio de recuperação para avaliação da Exatidão

A avaliação da exatidão do método proposto foi efetuada através dos testes de recuperação, sendo a amostra branco, fortificada em três níveis de concentração, 25,0; 50,0; 100,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  e realizadas sete réplicas de extração de cada nível, o valor para cada ensaio de recuperação pode ser obtido através da Equação 3.

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

Onde:

$C_1$  = Concentração determinada na amostra fortificada;

$C_2$  = Concentração determinada na amostra não fortificada;

$C_3$  = Concentração usada para fortificação;

### 3.10.6 Robustez

Para avaliar a robustez do método, foi verificada a estabilidade dos compostos através de ensaios de recuperação, quando armazenados no cartucho de extração por um período de 1 a 3 semanas quando acondicionados em recipientes fechados cobertos com papel alumínio e mantidos em freezer em torno de - 6 °C.

### 3.10.7 Avaliação do Efeito Matriz

Para avaliar o efeito matriz, foram injetadas soluções preparadas tanto em solvente (acetonitrila) quanto no extrato da matriz em estudo, amostra branco (água de açude), realizando-se a comparação entre as inclinações (coeficiente angular) das curvas analíticas obtidas para ambos, extrato da matriz “branco” e solvente, a Equação 4 demonstra o cálculo para o processo.

$$\text{Efeito Matriz} = \frac{X_1 - X_2}{X_2} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

onde:

$X_1$  = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada agrotóxico, preparadas na matriz (água de açude);

$X_2$  = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada agrotóxico, preparadas em solvente.

A verificação da presença de efeito matriz ocorre quando o resultado apresentar valores a cima de 10%, sendo possível observar se a matriz exerce efeito positivo (incremento de sinal) ou negativo (supressão de sinal) sobre o resultado da análise (GOSETTI et al., 2010; SANCO 2012).

### 3.10.8 Aplicação do Método Analítico em amostras reais

O método desenvolvido foi aplicado em 10 amostras reais, coletadas no interior do município de Ijuí, Bozano, Coronel Barros, Ajuricaba, Nova Ramada, Santo Augusto e Catuípe, municípios pertencentes à região Noroeste Colonial do Estado do Rio Grande do Sul, durante o mês de junho de 2013.

A escolha destes municípios foi em função de serem regiões predominantemente agrícolas, de pequenas propriedades rurais, a maioria apresentando entre um ou dois açudes, utilizados para a criação de peixes a fim de agregar renda ao grupo familiar, sendo a abertura dos açudes praticamente dentro das lavouras nas quais há rotatividade de algumas culturas, bem como rotatividade de tipos de agrotóxicos aplicados, cabe salientar que normalmente os açudes são abertos na base das lavouras normalmente em declive, possibilitando a captação de grande parte da água que escoar pela plantação.

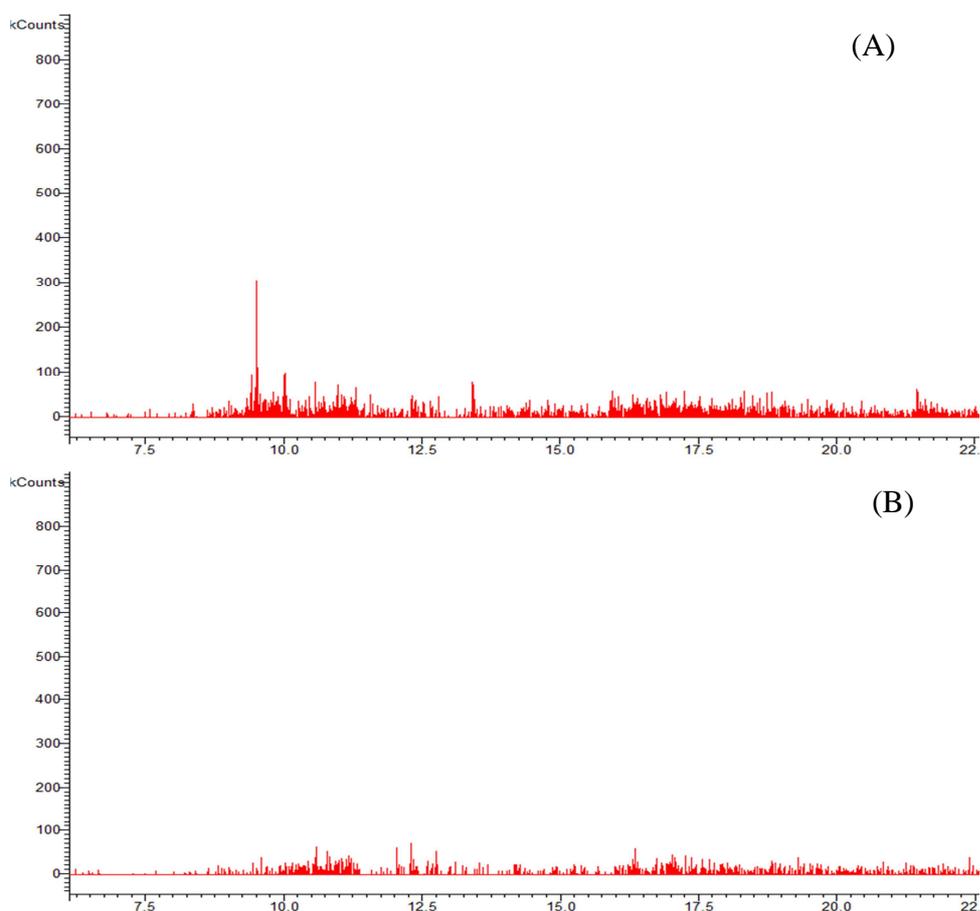
As amostragens foram realizadas em frascos de vidro âmbar, armazenados em local protegido da luz e mantidos a temperatura de 4 – 10 °C, e analisados dentro de um prazo de 36 a 48 horas da coleta.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Para a determinação dos resíduos de agrotóxicos foi utilizada neste estudo a Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em série, com analisador de massas tipo triplo quadrupolo. As condições cromatográficas iniciais utilizadas neste trabalho foram estabelecidas de acordo com trabalhos realizados no LARP e estudos desenvolvidos por Martins (2010), Pereira (2012) e Donato (2012), a partir destes foram feitas as modificações para otimização do sistema.

#### 4.1 Condições Cromatográficas para o GC-(TQ)-MS/MS, utilizadas na determinação de agrotóxicos em águas superficiais

As condições cromatográficas que foram utilizadas no desenvolvimento deste trabalho para o sistema GC-(TQ)-MS/MS, estão descritas no item 3.7.1. No intuito de avaliar a presença dos componentes em estudo na amostra a ser utilizada como “branco”, a mesma foi preparada segundo as condições de análise, e injetada no sistema cromatográfico, a Figura 6 demonstra o resultado observado para: (A) cromatograma obtido para a amostra “branco” (matriz), e em (B) cromatograma para o solvente acetonitrila.



**Figura 6** – Cromatogramas de íons totais obtidos para a amostra “branco” (extrato da matriz) (A) e para o solvente acetonitrila (B).

A partir destes cromatogramas é possível perceber a ausência na matriz de água de açude dos agrotóxicos investigados, indicando que a mesma pode ser utilizada como amostra “branco” para os demais estudos a serem desenvolvidos.

A Tabela 6 apresenta os 43 agrotóxicos avaliados por GC-(TQ)-MS/MS, utilizando o modo de ionização EI, e aquisição dos espectros de massas por MRM, com seus respectivos tempos de retenção, segmentos de análise, íons precursores e produtos e a energia de colisão das transições monitoradas. Para cada composto foram selecionadas duas transições características, a transição mais intensa foi utilizada para a quantificação e a segunda transição mais intensa para a confirmação dos mesmos.

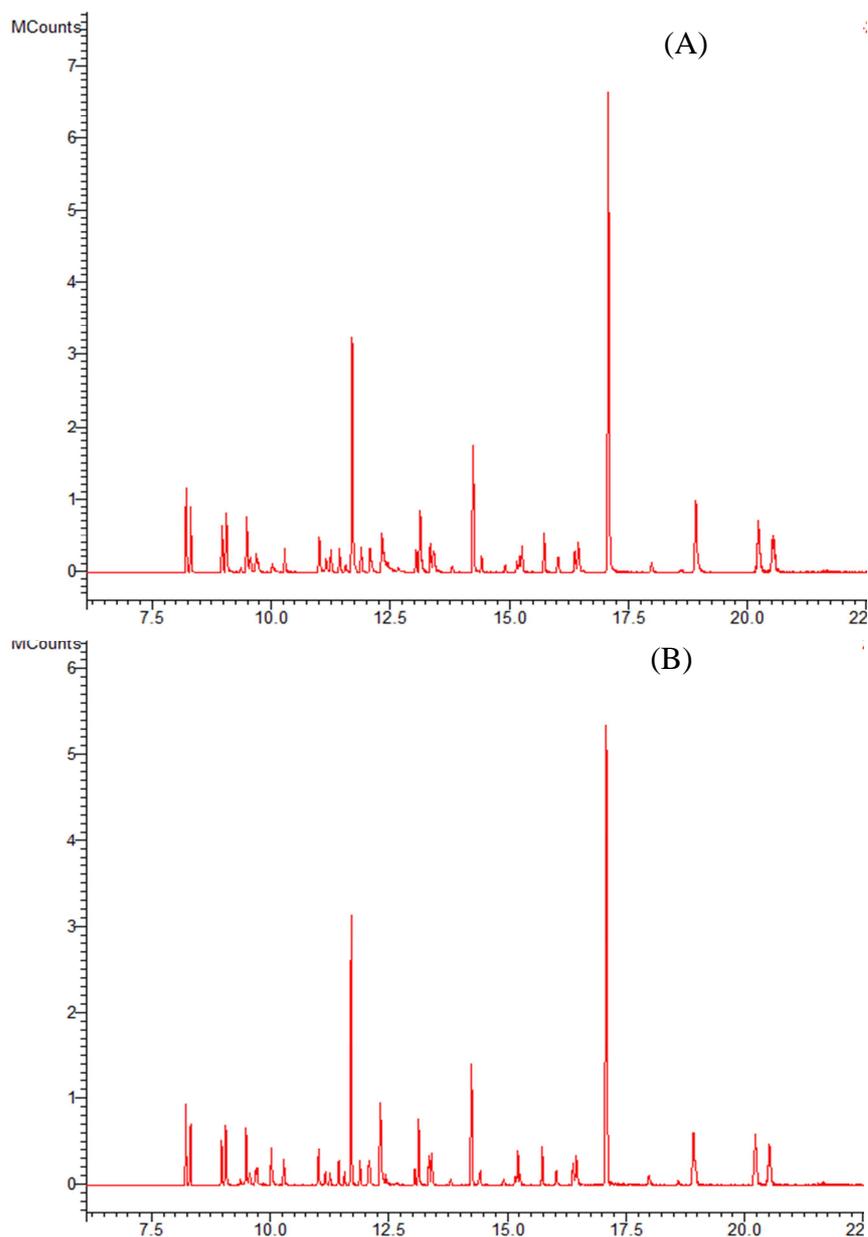
**Tabela 6** – Agrotóxicos determinados por GC-(TQ)-MS/MS, utilizando o modo de ionização EI, aquisição de espectro no modo MRM com seus respectivos segmentos de análise, tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação.

Nome do Composto	Segmento	$t_R$ (min)	Primeira Transição - Quantificação			Segunda Transição - Confirmação		
			Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)
Trifluralina Deuterada	1	8,24	315	267	8	315	209	10
Trifluralina	1	8,33	306	264	10	306	206	15
Alfa-HCH	2	8,99	219	183	10	219	147	20
HCB	2	9,09	284	214	35	284	249	30
Atrazina	3	9,38	215	200	10	215	173	10
Beta-HCH	3	9,50	219	183	10	219	147	20
Quintozeno (PI)	3	9,59	295	237	10	295	265	10
Clomazone	3	9,60	204	107	15	204	77	30
Lindano	3	9,71	219	183	10	219	147	20
Diazinona	3	9,74	304	179	10	304	162	10
Clorotalonil	4	10,03	266	133	35	266	168	35
Delta HCH	4	10,30	219	183	10	219	147	20
Clorpirifós Metílico	4	10,89	286	208	10	286	241	25
Parationa Metílica	5	11,03	263	109	25	263	136	10
Alaclor	5	11,03	188	160	10	188	130	40

Nome do Composto	Segmento	t <sub>R</sub> (min)	Primeira Transição - Quantificação			Segunda Transição - Confirmação		
			Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)
Metalaxil	5	11,18	206	132	15	206	120	10
Heptacloro	5	11,28	274	239	20	274	237	20
Pirimifós Metílico	6	11,45	290	151	15	290	180	10
Fenitrotiona	6	11,57	277	260	10	277	109	25
Malationa	6	11,71	173	99	15	173	127	10
Clorpirifós Etílico	7	11,90	314	258	15	314	286	15
Simazina	7	11,91	201	138	15	201	173	15
Aldrin	7	12,10	263	193	30	263	191	30
Tetraconazol	7	12,13	336	204	20	336	156	20
Dicofol	8	12,23	139	111	10	139	75	25
Pirimifós Etílico	8	12,33	333	168	25	333	180	5
Bromofós Metílico	8	12,44	331	93	40	331	287	40
Fipronil	8	12,47	352	255	15	352	257	20
Heptacloro epóxido endo	9	13,06	272	237	18	272	141	30
Procimidona	9	13,14	283	96	10	283	67	20
Bromofos Etílico	10	13,37	358	303	10	358	285	20
Metidationa	10	13,40	145	85	10	145	58	15

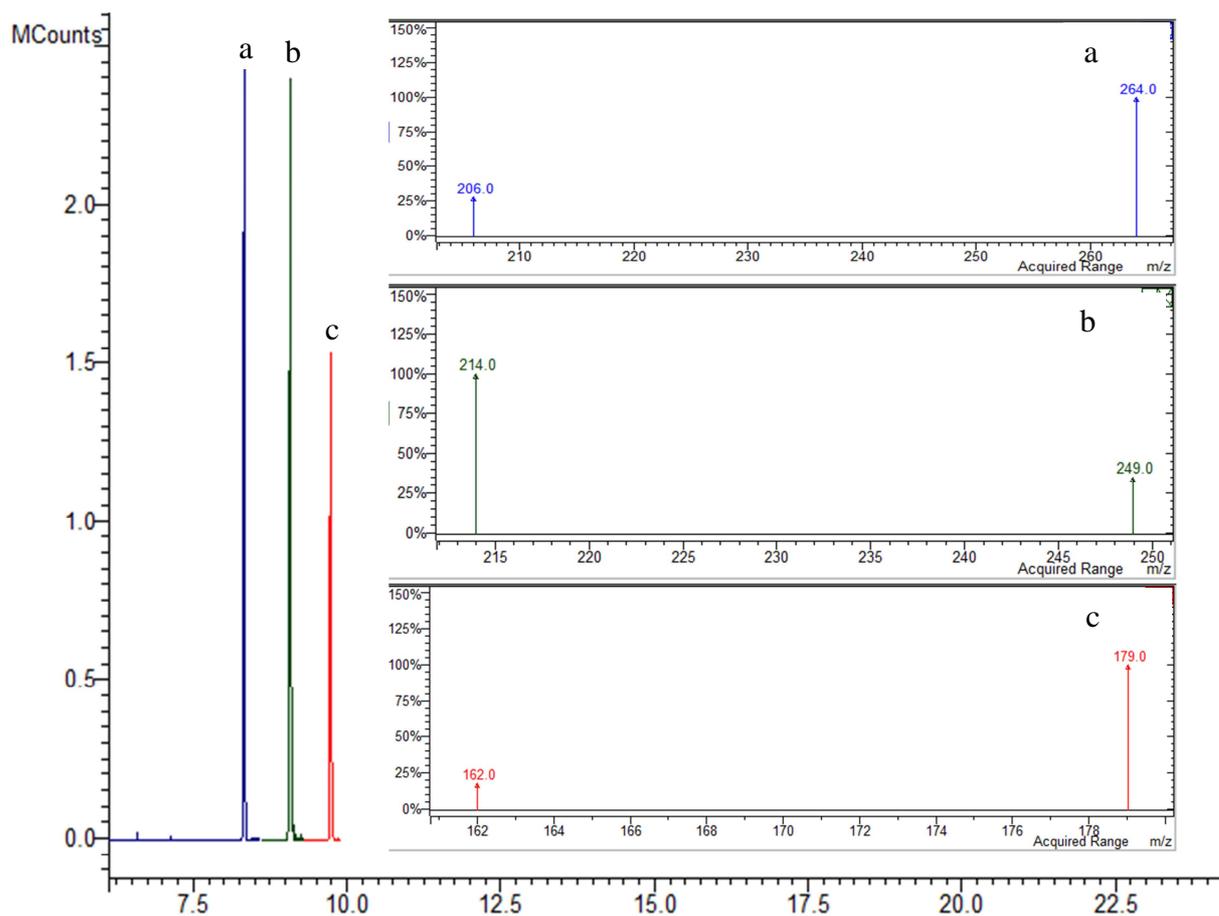
Nome do Composto	Segmento	t <sub>R</sub> (min)	Primeira Transição - Quantificação			Segunda Transição - Confirmação		
			Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)
Alfa Endossulfan	10	13,82	241	170	15	241	172	15
4,4-D,D,E	11	14,24	246	176	25	318	246	25
DDT I	11	14,41	235	165	20	235	199	20
2,4-D,D,D	11	14,45	235	165	20	235	199	20
Dieldrin	11	14,45	277	206	15	277	241	10
Endrin	12	14,95	263	193	30	263	191	30
Beta Endossulfan	12	15,18	241	170	15	241	172	15
DDT II	12	15,21	235	165	20	235	199	20
Trifloxistrobina	13	15,74	222	162	10	222	190	5
Endossulfan Sulfato	14	16,05	272	237	15	272	235	10
Tebuconazol	14	16,38	250	125	15	250	163	10
Trifenilfosfato (PI)	14	16,46	325	169	18	325	226	18
Bifentrina	15	17,07	181	165	20	181	166	10
Tetradifona	15	17,99	229	201	15	229	199	15
Mirex	16	18,95	272	237	10	272	143	40
Permetrina	16	20,21	165	91	10	165	127	5

A Figura 7 representa o cromatograma de íons totais para as fortificações na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  preparadas no extrato da matriz (água de açude) e em solvente orgânico (acetonitrila) para todos os compostos avaliados neste trabalho.



**Figura 7** – Cromatogramas de íons totais obtidos por GC-(TQ)-MS/MS para a fortificação no extrato da matriz (A) e em solvente acetonitrila (B), para os agrotóxicos em estudo neste trabalho na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .

A Figura 8 representa o cromatograma bem como os íons de quantificação e qualificação obtidos através do modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas (MRM) para a trifluralina (a), hexaclorobenzeno (b) e diazinona (c), para a fortificação na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  preparada no extrato da matriz.



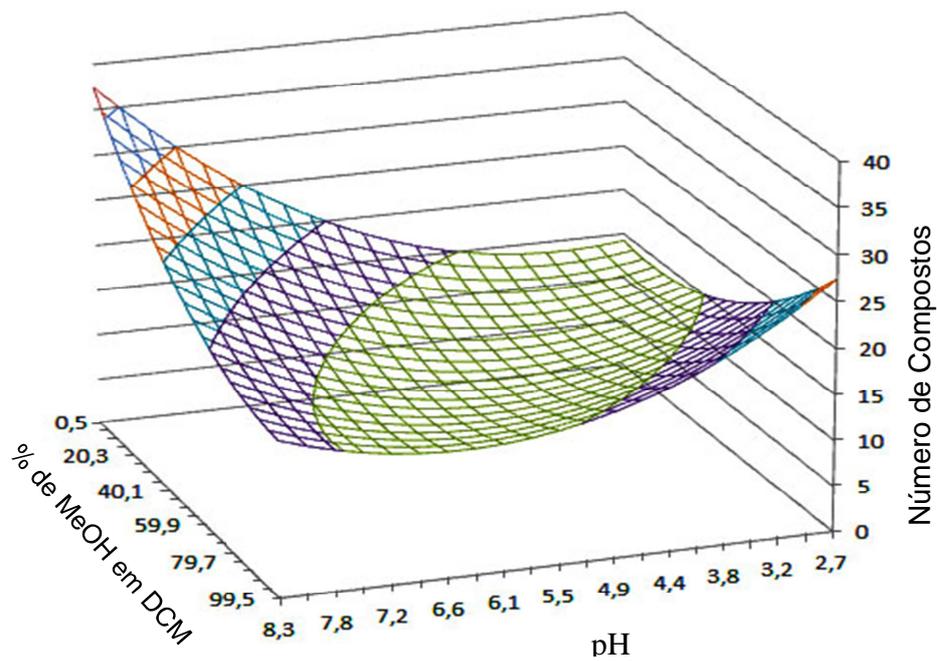
**Figura 8** – Cromatogramas e suas respectivas transições obtidas no modo MRM obtido por GC-(TQ)-MS/MS, a partir de fortificação no extrato da matriz na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  para: trifluralina em (a), hexaclorobenzeno em (b) e diazinona em (c).

## 4.2 Planejamento experimental para otimização do método de extração por fase sólida (SPE)

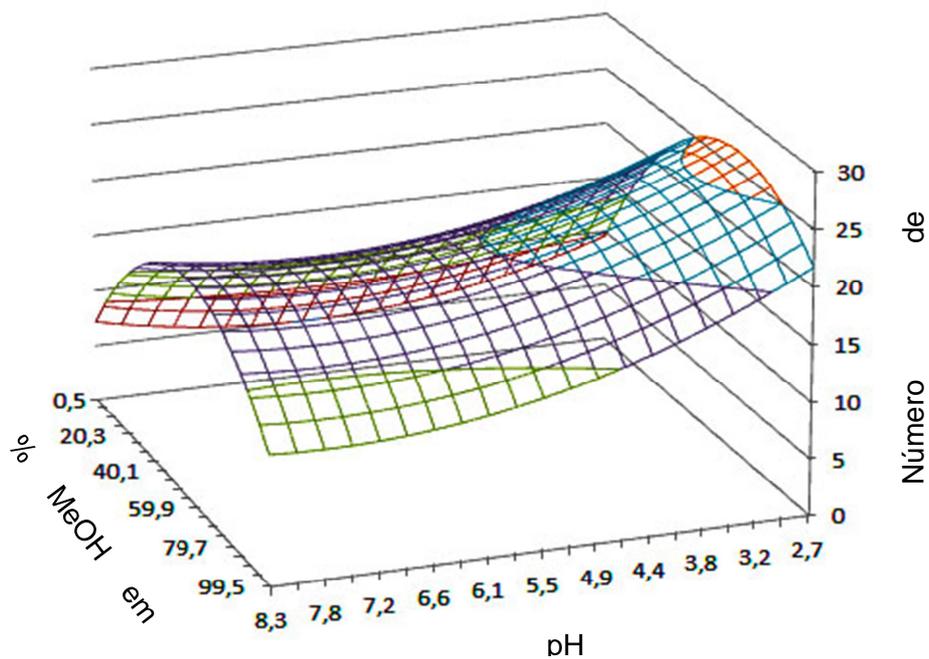
As melhores condições experimentais para a execução do método de extração por fase sólida foram encontradas a partir da realização de planejamento experimental, mais especificamente o planejamento fatorial  $2^2$  (planejamento em estrela).

Foi avaliado para cada tipo de sorvente: Strata-X<sup>®</sup> 200 mg, Strata C18 500 mg, Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg, as influências durante o processo de extração causadas por alterações no pH, diferentes percentagens entre os solventes metanol e diclorometano, alterando assim a força de eluição do solvente.

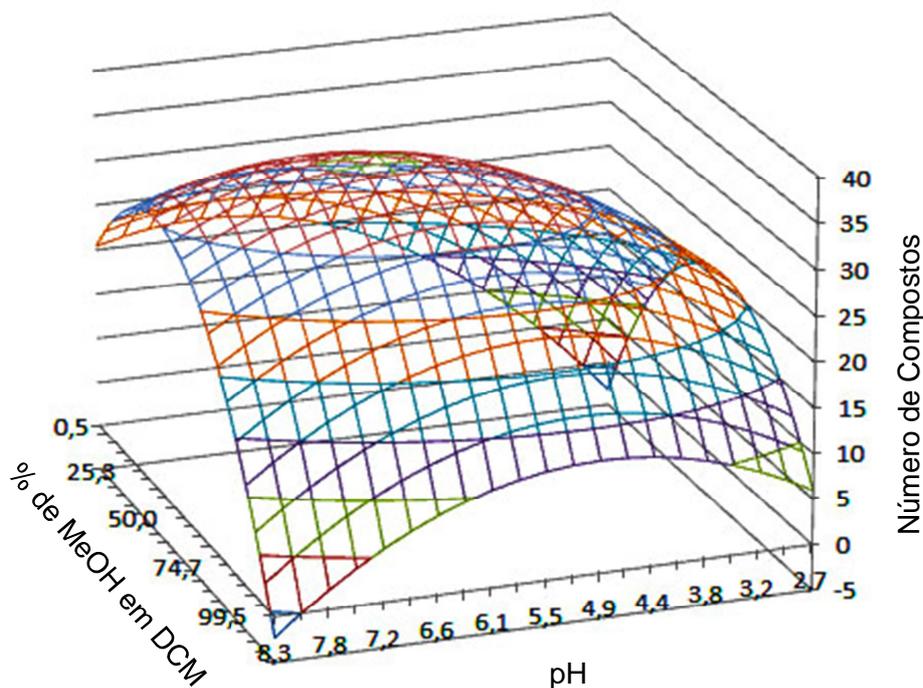
Os resultados das fortificações realizadas no extrato da matriz, no nível de concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  pelo conjunto de ensaios gerados, apresentados previamente no item 3.9 Tabela 2, estão representados através da superfície de resposta em relação ao número de compostos recuperados dentro da faixa aceitável (70-120%), diferentes valores de pH e diferentes proporções entre os dois tipos de solventes, conforme demonstrado na Figura 9 para o sorvente Strata C18 500 mg, Figura 10 para o sorvente Strata-X<sup>®</sup> 200 mg e Figura 11 para o sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg.



**Figura 9** – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Strata C18.

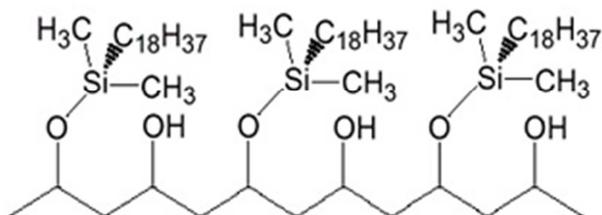


**Figura 10** – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Strata-X<sup>®</sup>.



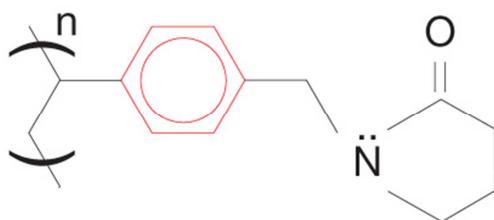
**Figura 11** – Superfície de resposta gerada através do planejamento experimental em estrela, para diferentes valores de pH e percentagens MeOH em DCM para o sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB.

O resultado observado para o sorvente Strata C18 evidencia um máximo de recuperação em um valor de pH de 8,3 utilizando como eluente somente diclorometano. Levando em conta que o sorvente C18 tem característica bastante apolar (Figura 12), para que ocorra uma eficiente dessorção dos compostos retidos no mesmo é justificável a relação entre o incremento da recuperação à medida que a força de eluição do solvente aumenta. Assim quanto mais apolar o eluente, mais eficiente será a interação entre o solvente e os compostos retidos, facilitando desta forma a sua remoção do sorvente.



**Figura 12** – Estrutura química do sorvente C18.

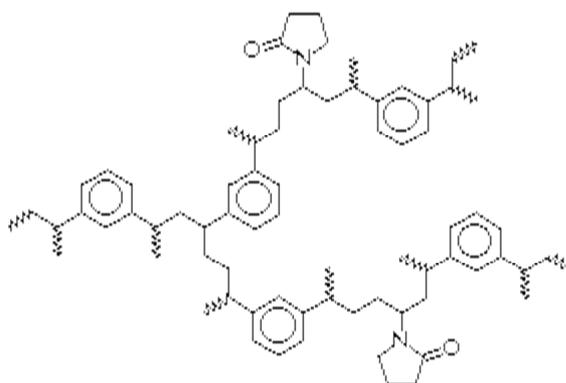
Avaliando a superfície e a densidade de resposta para o sorvente Strata-X<sup>®</sup>, é observado que o melhor valor de pH para a retenção dos compostos situa-se em torno de 2,7 e o melhor eluente para os compostos, consiste em uma solução de MeOH:DCM, 65:35 (v,v). O sorvente polimérico Strata-X<sup>®</sup> consiste em uma superfície composta por divinilbenzeno (apolar) e N-vinilpirrolidona (polar), conforme demonstrado na Figura 13. Esta composição facilita a extração de agrotóxicos de diferentes polaridades em uma única etapa de extração. O melhor sistema de eluição, contendo alta proporção de MeOH pode estar relacionado com as características mais polares do sorvente Strata-X<sup>®</sup>, sendo que um acréscimo na concentração de MeOH facilita a dessorção dos compostos retidos. Estes sorventes são recomendados para extração de substâncias ácidas, básicas e neutras com média à alta polaridade (CARDOSO, 2011; BROUSMICHE *et al.*, 2008).



**Figura 13** – Estrutura química do sorvente Strata-X<sup>®</sup>.

Quando observado os resultados do planejamento experimental através da superfície de resposta na avaliação da recuperação dos compostos utilizando o sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB, as melhores condições são: extração em pH 6,2 e eluição com uma mistura de MeOH:DCM 45:55 (v,v). O sorvente polimérico Oasis<sup>®</sup> HLB (Figura 14) também apresenta um grupo N-vinilpirrolidona com características polares, juntamente com o divinilbenzeno com características apolares, com uma ligação entre estes dois extremos através de uma cadeia carbônica um pouco mais longa do que a encontrada para o sorvente polimérico Strata-X<sup>®</sup>, o que confere um pouco mais de hidrofobicidade ao sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB.

O aumento da força do solvente quando comparado à utilizada para eluição dos compostos no teste com o Strata-X<sup>®</sup> pode ser atribuída à característica mais apolar do sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB, como evidenciado pelo incremento na concentração de diclorometano necessário para remoção dos compostos adsorvidos no sorvente.



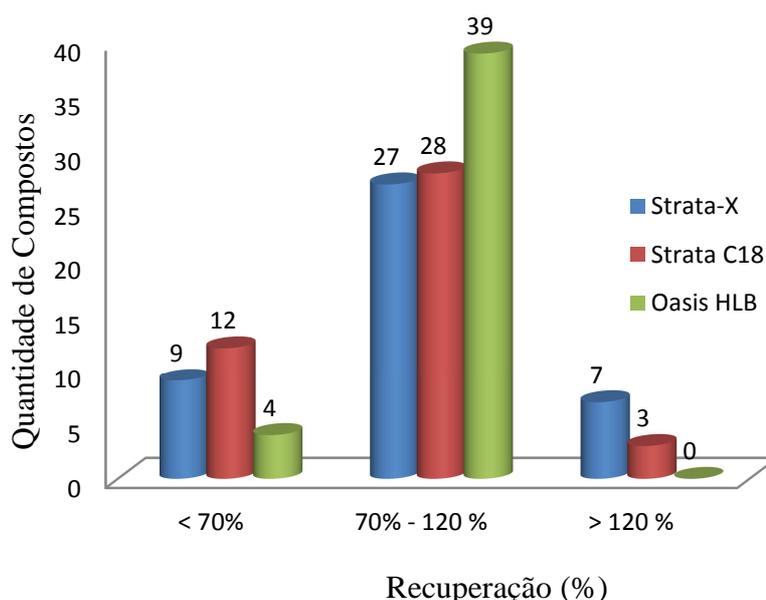
**Figura 14** – Estrutura química do sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB

Quando é feita uma comparação entre os resultados obtidos na avaliação da extração dos agrotóxicos utilizando as condições otimizadas obtidas através da superfície de resposta, é possível observar um comportamento bem característico levando em consideração a polaridade de cada sorvente, podendo ser observado uma ordem crescente de polaridade para os sorventes: Strata C18 > Oasis<sup>®</sup> HLB > Strata-X<sup>®</sup> e uma ordem decrescente na força do solvente de eluição

Dentre os agrotóxicos avaliados há uma grande quantidade de compostos que não são dissociados em água. Desta forma a relação entre o pH parece não estar ligada somente entre o equilíbrio iônico dos compostos, levando em consideração se a forma presente será a dissociada ou não. O efeito do pH na extração destes compostos pode estar relacionado as melhores condições para o sorvente presente em cada cartucho, bem como para aqueles compostos que apresentam dissociação, também é observado que o melhor pH para o Strata C18 foi em 8,3 mas a recuperação esperada neste pH,

segundo a superfície de resposta não foi observada quando efetuados os testes nas condições otimizadas, sendo sugestivo que a faixa de pH para a extração de compostos no C18 seja mais restritiva em valores mais elevados de pH, pois pode estar ocorrendo desprotonação dos hidrogênios do grupos silanois o que pode fornecer mais interações aumentando a retenção de compostos.

As melhores condições apresentadas através do planejamento experimental, foram testadas novamente para cada tipo de sorvente, sendo possível avaliar a recuperação nas condições otimizadas. A Figura 15 apresenta a recuperação encontrada na utilização dos diferentes sorventes, evidenciando uma melhor recuperação para o sorvente Oasis<sup>®</sup> HLB, sendo o mesmo utilizado para a validação do método analítico.

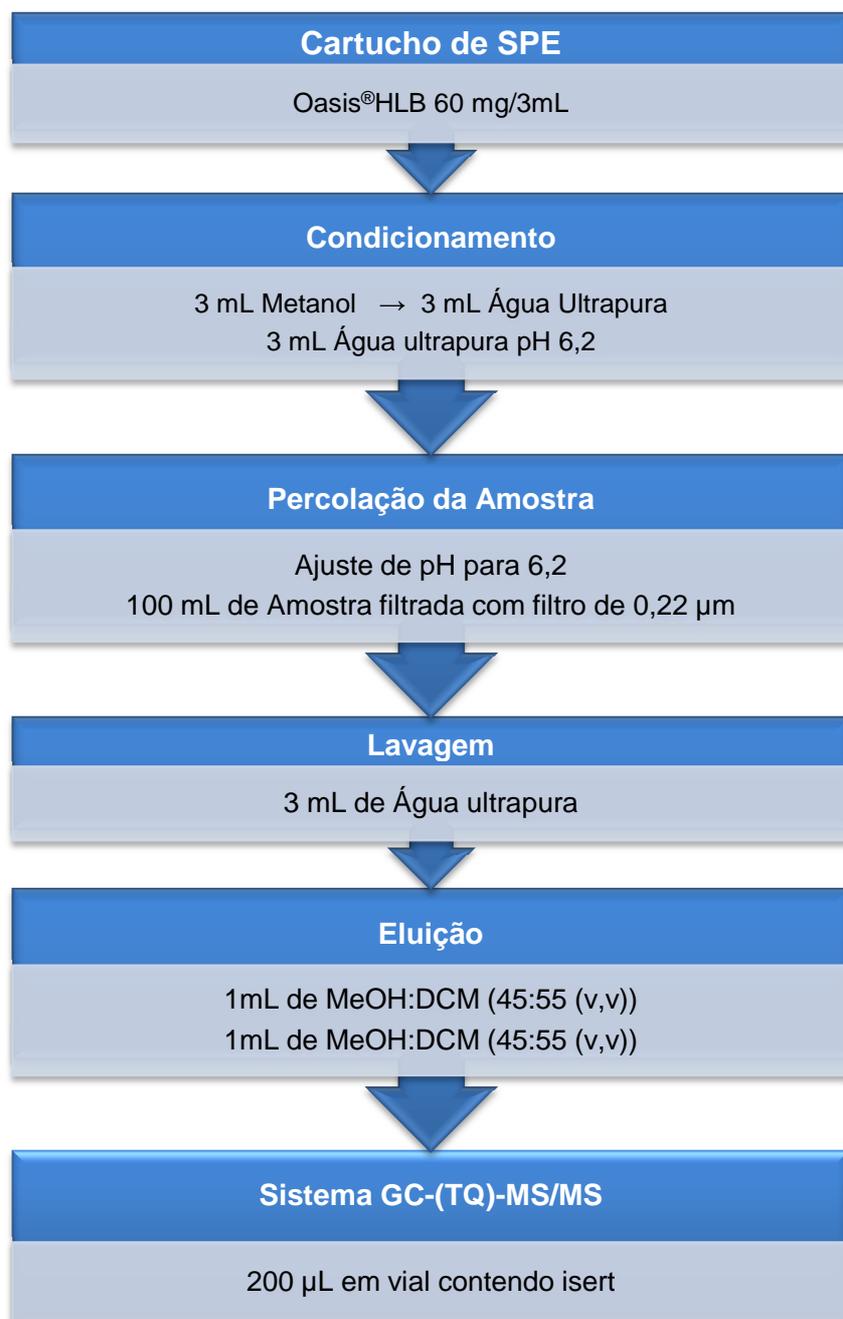


**Figura 15** – Recuperação dos compostos para a melhor condição obtida através da superfície de resposta para cada um dos três sorventes avaliados.

A partir dos dados apresentados, obteve-se o procedimento de extração otimizado para os agrotóxicos em estudo neste trabalho. A Figura 16 apresenta

o procedimento de extração otimizado, utilizando cartucho SPE com o sorvente polimérico Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg. Para a remoção de sólidos em suspensão a amostra foi previamente filtrada com membrana de nylon com 0,22 µm de diâmetro de poro. Visando condicionar o sorvente utilizado, foi adicionado 3 mL de metanol, seguido de 3 mL de água ultrapura e 3 mL de água ultrapura com pH (6,2). A percolação da amostra foi efetuada através da passagem de 100 mL da mesma, previamente acidificada em pH 6,2 com solução aquosa de ácido fosfórico 1 mol L<sup>-1</sup>.

Para a dessorção dos agrotóxicos foi utilizada uma mistura de MeOH:DCM 45:55 (v,v), com duas adições de 1 mL, deixando dois minutos o solvente em contato com o sorvente antes da eluição. Após a eluição foi retirado uma alíquota de 200 µL e transferida para *vials* contendo *inserts* e analisado por GC-(TQ)-MS/MS.



**Figura 16** – Esquema do Procedimento de Extração para determinação dos agrotóxicos.

### 4.3 Validação do Método Empregando Extração em Fase Sólida (SPE) e GC-(TQ)-MS/MS

Para a etapa de validação do método analítico utilizado neste trabalho, utilizou-se o procedimento de extração descrito na Figura 20, seguido da determinação por GC-(TQ)-MS/MS.

#### 4.3.1 Seletividade do método analítico

A seletividade do método foi assegurada pela ausência de interferentes na amostra de água de açude, considerada “branco”. Os cromatogramas apresentados na Figura 11 evidenciam a ausência de resíduos de agrotóxicos acima do LOD para o método em estudo. Sendo assim esta amostra “branco”, foi empregada na avaliação de todos os níveis de fortificação abordados neste trabalho, possibilitando investigar a influência da matriz no sinal analítico para cada componente (efeito matriz), bem como o desenvolvimento das curvas analíticas utilizadas e os demais testes efetuados.

#### 4.3.2 Curva analítica e linearidade

A Tabela 7 apresenta as equações obtidas para as curvas analíticas, bem como o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) para todos os agrotóxicos em estudo. Para a confecção das curvas analíticas foi utilizada a média das áreas das triplicatas de cada nível de concentração que compõem a curva, preparadas no extrato da matriz.

**Tabela 7** – Resultados obtidos para as curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas no extrato da matriz, empregando SPE e CG-(TQ)-MS/MS

<b>Nome do Composto</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
2,4-DDD	$y = 6532,4x + 15605$	0,9988
4,4-DDE	$y = 156834x + 119528$	0,9991
Alaclor	$y = 34741x + 63570$	0,9990
Aldrin	$y = 30631x - 10285$	0,9992
Alfa Endossulfan	$y = 8545,4x + 6244,9$	0,9998
Alfa HCH	$y = 27208x - 15921$	0,9993
Atrazina	$y = 12022x - 23273$	0,9990
Beta Endossulfan	$y = 8388,9x + 17284$	0,9995
Beta HCH	$y = 56270x + 15215$	0,9991
Bifentrina	$y = 521400x + 841612$	0,9995
Bromofós Etílico	$y = 45276x + 7114,7$	0,9988
Bromofós Metílico	$y = 6203,7x - 16343$	0,9992
Clomazone	$y = 44771x - 346287$	0,9967
Clorotalonil	$y = 66603x - 30084$	0,9996
Clorpirifós Etílico	$y = 42278x - 67314$	0,9990
Clorpirifós Metílico	$y = 27094x + 37902$	0,9996
DDT I	$y = 6528,4x + 16314$	0,9988
DDT II	$y = 61162x + 79833$	0,9996
Delta HCH	$y = 20017x + 33764$	0,9995
Diazinona	$y = 32127x - 22557$	0,9996
Dicofol	$y = 116787x + 168882$	0,9977
Dieldrin	$y = 8534x + 9900,4$	0,9998
Endossulfan Sulfato	$y = 38654x + 18588$	0,9990
Endrin	$y = 7811,5x + 5566$	0,9996
Fenitrotiona	$y = 14157x - 50376$	0,9992
Fipronil	$y = 2269x + 675,12$	0,9999
Heptacloro	$y = 28866x - 21109$	0,9991

Nome do Composto	Equação da reta	$r^2$
Heptacloro Epóxido Endo	$y = 15294x + 19927$	0,9992
Hexaclorobenzeno (HCB)	$y = 44232x + 63171$	0,9997
Lindano	$y = 24775x + 12573$	0,9996
Malationa	$y = 421933x + 334661$	0,9997
Metalaxil	$y = 25089x - 6166,3$	0,9991
Metidationa	$y = 53929x - 135697$	0,9991
Mirex	$y = 125416x + 16350$	0,9996
Parationa Metílica	$y = 18505x - 64475$	0,9991
Permetrina	$y = 82593x + 168871$	0,9985
Pirimifós Etilíco	$y = 108251x - 471617$	0,9993
Pirimifós Metílico	$y = 31921x - 7869,4$	0,9984
Procimidona	$y = 47685x - 55818$	0,9985
Tebuconazol	$y = 79354x + 164456$	0,9988
Tetraconazol	$y = 18373x + 44129$	0,9993
Tetradifona	$y = 19699x - 27505$	0,9992
Trifloxistrobina	$y = 12532x + 18442$	0,9989
Trifluralina	$y = 46404x - 52069$	0,9994
Trifluralina d-14 <sup>(1)</sup>	$y = 64286x - 2869,6$	0,9993

<sup>(1)</sup> Padrão de substituição utilizado no GC-MS/MS.

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o modelo de regressão linear é adequado, visto que todos os agrotóxicos apresentaram coeficientes de determinação ( $r^2$ ) maiores que 0,99 para as curvas analíticas preparadas no extrato da matriz. Desta forma, este parâmetro está de acordo com as orientações do INMETRO (2011) e ANVISA (2003), que regulamentam um coeficiente de determinação maior ou igual a 0,99. Todos os compostos avaliados apresentaram faixa linear entre 5,0 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

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

Para a determinação dos valores de LOD e LOQ, injetou-se uma mistura dos compostos em estudo obtida através de fortificação na matriz nas concentrações de 5, 10 e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os cromatogramas obtidos a partir das injeções foram avaliados, e definida a concentração que apresentasse uma relação sinal-ruído para todos os analitos igual ou superior a 10 vezes o ruído da linha base ( $\text{LOQ}_i=10\text{S/R}$ ) para o Limite de Quantificação do instrumento. Da mesma forma, para determinar o Limite de Detecção do instrumento utilizou-se uma relação sinal-ruído igual ou superior a 3,33 ( $\text{LOD}_i = 3,33\text{S/R}$ ).

Para a obtenção do Limite de Detecção do método ( $\text{LOD}_m$ ) e o do Limite de Quantificação do método ( $\text{LOQ}_m$ ), foi levado em consideração o fator de concentração obtido através do método de extração, visto que ele possibilita junto com a etapa de extração um fator de pré-concentração dos analitos, levando em conta o volume de amostra percolada no cartucho. Os valores para estes limites foram encontrados dividindo-se o  $\text{LOD}_i$  e o  $\text{LOQ}_i$  pelo fator de concentração, proveniente do método de extração SPE (fator = 50).

O valor encontrado para o Limite de Quantificação foi utilizado como o primeiro nível de fortificação para a construção da curva analítica para todos os compostos em estudo neste trabalho. A Tabela 8 representa os Limites de Detecção do instrumento e do método, bem como os Limites de Quantificação do instrumento e do método para os compostos extraídos conforme o procedimento descrito na Figura 20.

**Tabela 8** – Valores de LOD e LOQ pra o instrumento e o método

$\text{LOD}_i (\mu\text{g L}^{-1})$	$\text{LOQ}_i (\mu\text{g L}^{-1})$	$\text{LOD}_m (\mu\text{g L}^{-1})$	$\text{LOQ}_m (\mu\text{g L}^{-1})$
1,50	5,0	0,03	0,10

Estes valores podem ser considerados satisfatórios, uma vez que permitem a identificação de compostos a níveis de ultratrazo em matrizes ambientais, permitindo a identificação da presença dos mesmos em águas superficiais, inclusive este limite de quantificação atinge para alguns agrotóxicos valores para monitoramento dos mesmos a fim de verificar se amostras de rios ou nascentes, atendem aos padrões de potabilidade segundo os estabelecidos pela portaria 2914, de 14 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

#### 4.3.4 Exatidão através do Ensaio de Recuperação e Precisão (Repetitividade)

Os valores de recuperação foram calculados fazendo uso das curvas analíticas preparadas nos extratos da matriz, utilizando o método de extração otimizado. De acordo com RIBANI e SANCO, valores de recuperação entre 70 e 120% e que apresentem  $RSD \leq 20\%$ , são considerados satisfatórios (RIBANI et al., 2004; SANCO, 2012).

Na Tabela 9 são apresentados os resultados das médias dos percentuais de recuperação ( $n=7$ ) e RSDr (%) (repetitividade) para os 43 agrotóxicos avaliados nos níveis de concentração de 0,5; 1,0 e 2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 9** – Percentuais de recuperação e RSDr% para a precisão (repetitividade) do método analítico em três níveis de fortificação.

Nome do Composto	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )					
	0,5		1,0		2,0	
	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)
2,4-DDD	78,5	7,2	80,2	8,4	97,2	7,4
4,4-DDE	70,0	2,6	74,1	8,9	73,0	6,1
Alaclor	114,0	6,8	97,8	7,9	100,8	7,4

Nome do Composto	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )					
	0,5		1,0		2,0	
	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)
Aldrin	70,4	7,1	70,2	7,5	70,9	9,0
Alfa Endossulfan	95,6	3,8	83,1	8,1	94,6	4,4
Alfa HCH	98,4	4,0	89,8	6,6	104,1	2,4
Atrazina	104,3	5,4	98,7	6,1	100,4	6,8
Beta Endossulfan	88,5	6,4	83,8	7,3	91,9	4,3
Beta HCH	88,6	2,1	89,7	9,6	90,7	13,4
Bifentrina	59,5	17,2	50,4	7,8	57,6	17,0
Bromofós Etílico	77,7	7,2	73,2	6,7	74,8	5,3
Bromofós Metílico	94,3	5,9	78,7	14,6	86,6	2,4
Clomazone	100,1	6,7	95,2	10,6	120,0	17,1
Clorotalonil	106,5	7,5	89,4	5,3	101,4	4,4
Clorpirifós Etílico	95,8	4,9	79,8	7,4	92,7	2,6
Clorpirifós Metílico	78,5	18,6	84,9	18,8	72,40	19,4,
DDT	70,5	8,4	79,7	8,5	76,9	12,9
Delta HCH	101,5	5,9	88,8	5,6	101,3	3,8
Diazinona	104,0	6,0	87,1	7,7	97,7	6,8
Dicofol	90,7	8,0	85,4	4,5	96,8	5,1
Dieldrin	86,3	9,7	79,3	3,9	89,7	4,9
Endossulfan Sulfato	91,5	6,4	91,5	3,5	110,1	4,4
Endrin	87,2	8,3	83,5	9,5	89,6	4,7
Fenitrotiona	114,2	2,1	85,5	6,4	90,1	4,4
Fipronil	115,5	9,9	116,1	11,1	110,9	16,5
Heptacloro	79,2	11,5	70,7	8,0	71,0	16,2
Heptacloro Epóxido Endo	87,1	5,8	79,7	5,8	96,2	4,6
Hexaclorobenzeno (HCB)	70,8	5,1	71,6	13,1	74,1	5,9
Lindano	100,7	6,1	87,9	7,0	95,8	3,9
Malationa	92,2	7,5	81,3	3,9	98,0	3,4
Metalaxil	106,4	8,3	96,1	6,2	102,3	2,8
Metidationa	96,3	6,0	83,3	7,1	93,3	3,6
Mirex	28,8	23,7	22,0	26,4	25,1	16,4

Nome do Composto	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )					
	0,5		1,0		2,0	
	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)	Rec. (%)	RSDr (%)
Parationa Metílica	102,6	4,8	84,2	8,5	92,7	5,4
<b>Permetrina</b>	<b>41,6</b>	<b>25,1</b>	<b>33,2</b>	<b>30,4</b>	<b>38,2</b>	<b>16,5</b>
<b>Pirimifós Etílico</b>	<b>26,3</b>	<b>7,5</b>	<b>16,9</b>	<b>12,9</b>	<b>13,1</b>	<b>13,4</b>
Pirimifós Metílico	91,7	7,2	79,5	6,3	96,7	2,8
Procimidona	102,6	5,4	86,6	3,9	99,9	2,4
Tebuconazol	89,2	6,6	84,7	8,6	92,9	3,0
Tetraconazol	87,4	5,0	81,8	5,9	96,8	4,4
Tetradifona	98,7	6,3	88,3	8,4	99,0	2,8
Trifloxistrobina	87,8	6,8	72,6	10,2	83,6	3,9
Trifluralina	84,8	5,6	75,9	12,8	80,5	5,2
Trifluralina d-14 (PS)	89,2	6,72	87,5	7,8	88,9	8,3

A Tabela 9 mostra que 39 dos 43 compostos avaliados neste trabalho apresentaram percentuais de recuperação entre 70 e 120%, demonstrando que o método efetivamente possui boa capacidade na extração dos mesmos. Os ensaios para avaliação da precisão (repetitividade), apresentaram resultados para aqueles compostos dentro da faixa aceitável de recuperação (70 - 120%) RSDr% variando entre 2,4 - 19,4%, assegurando para esta gama de compostos variabilidade dentro do permitido para análise de resíduos de contaminantes (RIBANI et al., 2004; SANCO, 2012).

Foi possível a avaliação do procedimento de extração através do uso do padrão de substituição deuterado trifluralina d-14, sendo observada pequena variação quando utilizado o padrão de substituição em concentração não variável (fixo) nos três níveis de fortificação avaliados, indicando que a execução do procedimento de extração foi adequada. Quando se faz uso de compostos deuterados como padrão de substituição, há vantagens pois os mesmos não são utilizados na agricultura como agrotóxicos, portanto não estão presentes em amostras ambientais.

#### 4.3.5 Precisão Intermediária

A avaliação da precisão intermediária para os 43 agrotóxicos em estudo foi realizada empregando-se dias diferentes daqueles que envolveram os ensaios para a repetitividade. Na tabela 10 podem ser visualizados os valores de recuperação e a precisão intermediária avaliada, na concentração de  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 10** – Percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método analítico em um nível de fortificação.

Nome do Composto	Nível de Fortificação $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$	
	Rec. (%)	RSDr (%)
2,4-DDD	82,9	10,3
4,4-DDE	71,8	8,3
Alaclor	84,2	18,1
Aldrin	71,3	10,7
Alfa Endossulfan	82,3	10,1
Alfa HCH	90,9	7,3
Atrazina	93,4	9,4
Beta Endossulfan	86,8	12,1
Beta HCH	71,0	7,0
<b>Bifentrina</b>	<b>51,3</b>	<b>12,5</b>
Bromofós Etílico	75,2	16,3
Bromofós Metílico	84,0	4,2
Clomazone	90,4	4,4
Clorotalonil	101,4	6,7
Clorpirifós Etílico	81,5	8,5
Clorpirifós Metílico	84,9	15,0
DDT	74,2	12,8

Nome do Composto	Nível de Fortificação 1,0 µg L <sup>-1</sup>	
	Rec. (%)	RSDr (%)
Delta HCH	100,6	10,0
Diazinona	84,9	9,8
Dicofol	87,7	4,7
Dieldrin	88,7	4,5
Endossulfan Sulfato	97,1	7,1
Endrin	76,2	6,8
Fenitrotiona	86,8	6,2
Fipronil	106,6	18,0
Heptacloro	70,2	14,5
Heptacloro Epóxido Endo	84,1	7,9
Hexaclorobenzeno (HCB)	72,1	7,2
Lindano	85,3	8,1
Malationa	87,4	9,0
Metalaxil	82,5	7,5
Metidationa	87,2	9,4
<b>Mirex</b>	<b>29,8</b>	<b>22,8</b>
Parationa Metílica	87,3	9,8
<b>Permetrina</b>	<b>37,8</b>	<b>28,9</b>
<b>Pirimifós Etilico</b>	<b>17,3</b>	<b>14,8</b>
Pirimifós Metílico	88,2	12,1
Procimidona	86,3	6,1
Tebuconazol	86,6	5,3
Tetraconazol	85,9	3,4
Tetradifona	92,0	7,8
Trifloxistrobina	75,6	11,2
Trifluralina	75,3	6,9
Trifluralina d-14 (PS)	89,8	7,0

Os valores para o estudo da recuperação e precisão intermediária para a maioria dos compostos variaram na faixa de 70,2 a 106,6%, com variabilidades indicadas através do RSDpi% oscilando na faixa entre 3,4 a 18,1%, o que reflete uma precisão adequada para os compostos com recuperações dentro da faixa aceitável. O padrão de substituição (trifluralina d-14) manteve seus valores de recuperação constante em relação aos encontrados para os ensaios nos quais foram avaliados a precisão a nível de repetitividade.

Cabe salientar que para matrizes ambientais a precisão depende da matriz avaliada, da concentração do analito e da técnica de análise, podendo variar entre 2% e mais de 20% (SANCO, 2012). Desta forma podemos inferir através dos resultados observados que para a maioria dos compostos analisados, os resultados obtidos estão dentro dos limites sugeridos.

#### 4.3.6 Robustez

A possibilidade de efetuar a extração dos agrotóxicos e armazenar os cartuchos com os compostos retidos a baixas temperaturas pode trazer benefícios quando não há possibilidade de determinação imediata, no entanto é extremamente importante conhecer os dados sobre a estabilidade destes compostos quando armazenados por um determinado tempo e acondicionado a baixas temperaturas.

Os resultados referentes à avaliação da estabilidade dos compostos estão descritos na Tabela 11 e compreendem os percentuais de recuperação para uma fortificação no extrato da matriz correspondendo a uma concentração de  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . Através dos quais é possível observar que logo após uma semana de armazenamento já temos uma redução na recuperação para 5 compostos abaixo dos 70 – 120% (4,4-DDE, Aldrin, Bromofós Etilico, Hexaclorobenzeno, Malationa), e 16 compostos com decréscimo de 10% ou mais em sua concentração quando comparado à recuperação inicial. Após

duas semanas temos 11 compostos com redução de 20 % ou mais em sua concentração em relação à recuperação inicial e após três semanas temos 21 compostos com redução de 30% ou mais na concentração em relação à recuperação inicial, o que representa quase 50% dos compostos passíveis de determinação através deste trabalho.

Dentre os compostos com menor estabilidade pode-se citar o fipronil e a malationa com uma redução bastante acentuada já na primeira semana de avaliação, chegando a 68,7% e 53,1% respectivamente, em relação a sua recuperação inicial.

Salienta-se também que alguns compostos praticamente mantêm-se estáveis após as três semanas de armazenamento, sendo o caso do beta HCH, dicofol, tebuconazol e tetraconazol.

Se considerado o desvio padrão relativo, que permite uma variabilidade percentual de até 20% (RSD%) com recuperações chegando a 70-120 %, mesmo na primeira semana de armazenamento, já há compostos com variabilidade superior aos 20% e com níveis de recuperação inferiores aos 70%.

**Tabela 11** – Estabilidade dos compostos para uma fortificação de 0,5 µg L<sup>-1</sup> quando armazenados nos cartuchos em diferentes tempos.

Nome do Composto	Tempo de Armazenamento							
	Não Armazenado*		Após 1 semana		Após 2 semanas		Após 3 semanas	
	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)
2,4-DDD	78,5	<b>100</b>	71,8	<b>91,5</b>	69,2	<b>88,1</b>	50,8	<b>64,8</b>
4,4-DDE	70,0	<b>100</b>	50,9	<b>72,7</b>	53,7	<b>76,8</b>	45,5	<b>65,0</b>
Alaclor	114,0	<b>100</b>	91,1	<b>79,9</b>	89,8	<b>78,8</b>	75,5	<b>66,3</b>
Aldrin	70,4	<b>100</b>	60,4	<b>85,8</b>	52,6	<b>74,8</b>	40,1	<b>57,0</b>
Alfa Endossulfan	95,6	<b>100</b>	84,4	<b>88,3</b>	83,4	<b>87,2</b>	59,4	<b>62,2</b>
Alfa HCH	98,4	<b>100</b>	96,9	<b>98,5</b>	91,3	<b>92,8</b>	78,0	<b>79,3</b>
Atrazina	104,3	<b>100</b>	95,6	<b>91,6</b>	92,4	<b>88,6</b>	91,0	<b>87,3</b>
Beta Endossulfan	88,5	<b>100</b>	81,0	<b>91,5</b>	79,6	<b>89,9</b>	62,0	<b>70,0</b>

Nome do Composto	Tempo de Armazenamento							
	Não Armazenado*		Após 1 semana		Após 2 semanas		Após 3 semanas	
	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)
Beta HCH	88,6	100	85,56	96,6	84,6	95,5	84,3	95,2
Bromofós Etílico	77,7	100	63,7	82,0	61,8	79,5	46,2	59,4
Bromofós Metílico	94,3	100	74,0	78,5	72,3	76,6	60,1	63,8
Clomazone	100,1	100	98,1	98,0	99,3	99,2	80,6	80,5
Clorotalonil	106,5	100,0	99,1	93,1	99,7	93,7	82,7	77,6
Clorpirifós Etílico	95,8	100,0	79,1	82,6	78,6	82,1	64,1	67,0
Clorpirifós Metílico	78,5	100,0	82,7	105,4	85,5	108,9	67,2	85,6
DDT I	70,5	100,0	70,5	100,0	66,8	94,8	57,1	81,0
Delta HCH	101,5	100,0	86,4	85,1	80,9	79,7	75,4	74,3
Diazinona	104,0	100,0	89,7	86,3	82,9	79,7	69,6	66,9
Dicofol	90,7	100,0	91,8	101,2	97,5	107,5	91,9	101,3
Dieldrin	86,3	100,0	78,3	90,7	76,4	88,5	57,8	67,0
Endossulfan Sulfato	91,5	100,0	94,6	103,4	85,1	93,0	59,8	65,4
Endrin	87,2	100,0	70,5	80,9	65,4	75,0	59,3	68,1
Fenitrotiona	114,2	100,0	85,0	74,5	84,2	73,7	65,8	57,6
Fipronil	115,5	100,0	79,4	68,7	62,2	53,9	56,4	48,8
Heptacloro	79,2	100,0	83,5	105,4	73,7	93,1	51,3	64,8
Heptacloro Epóxido Endo	87,1	100,0	90,2	103,6	81,1	93,1	58,5	67,2
Hexaclorobenzeno	70,8	100,0	69,9	98,7	65,7	92,8	48,4	68,4
Lindano	100,7	100,0	97,3	96,6	98,0	97,3	73,5	73,0
Malationa	92,2	100,0	48,9	53,1	48,9	53,1	34,0	36,9
Metalaxil	106,4	100,0	98,4	92,5	91,7	86,2	84,2	79,1
Metidationa	96,3	100,0	91,4	94,9	107,8	111,9	68,7	71,3
Parationa Metílica	102,6	100,0	74,0	72,2	86,9	84,7	80,6	78,6
Pirimifós Metílico	91,7	100,0	87,6	95,5	85,6	93,3	70,2	76,6
Procimidona	102,6	100,0	91,4	89,0	97,4	94,9	85,3	83,2
Tebuconazol	89,2	100,0	95,5	107,1	91,7	102,8	84,2	94,3
Tetraconazol	87,4	100,0	84,1	96,2	87,9	100,6	81,96	93,8

Nome do Composto	Tempo de Armazenamento							
	Não Armazenado*		Após 1 semana		Após 2 semanas		Após 3 semanas	
	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)	Rec. (%)	Est. (%)
Tetradifona	98,7	<b>100,0</b>	96,0	<b>97,2</b>	81,0	<b>82,0</b>	65,1	<b>66,0</b>
Trifloxistrobina	87,8	<b>100,0</b>	81,5	<b>92,8</b>	75,7	<b>86,2</b>	68,5	<b>78,0</b>
Trifluralina	84,8	<b>100,0</b>	73,2	<b>86,3</b>	70,1	<b>82,7</b>	54,6	<b>64,3</b>
Trifluralina d-14 (PS)	89,8	<b>100,0</b>	75,7	<b>84,3</b>	72,2	<b>80,9</b>	58,8	<b>65,5</b>

\* Não armazenado compreende a extração e determinação imediata, sem tempo de armazenamento. (PS) Padrão de substituição.

#### 4.3.7 Avaliação do Efeito Matriz

Os dados referentes à avaliação do efeito matriz estão descritos na Tabela 12, demonstrando a relevância da avaliação do mesmo, quando se trabalha com técnicas suscetíveis a alterações do sinal analítico por intermédio das mais diferentes interações entre os compostos presentes na matriz, o sistema de análise e os analitos.

**Tabela 12** – Efeito matriz para os agrotóxicos avaliados por GC-(TQ)-MS/MS

Nome do Composto	c.a. <sup>1</sup>	c.a. <sup>2</sup>	Efeito Matriz (%)
2,4-DDD	6532,4	5254,3	24,3
4,4-DDE	156834	135153	16,0
Alaclor	34741	31118	11,6
Aldrin	30631	25150	21,8
Alfa Endossulfan	8545,4	6839,6	24,9
Alfa HCH	27208	27814	-2,2
Atrazina	12022	11309	6,3
Beta Endossulfan	8388,9	47393	-82,3
Beta HCH	56270	26513	112,2
Bifentrina	521400	431548	20,8

<b>Nome do Composto</b>	<b>c.a.<sup>1</sup></b>	<b>c.a.<sup>2</sup></b>	<b>Efeito Matriz (%)</b>
Bromofós Etilico	45276	36121	25,3
Bromofós Metílico	6203,7	3201,1	93,8
Clomazone	44771	65368	-31,5
Clorotalonil	66603	32497	105,0
Clorpirifós Etilico	42278	34810	21,5
Clorpirifós Metílico	27094	12210	121,9
DDT I	6528,4	5170,1	26,3
DDT II	61162	7986,2	665,8
Delta HCH	20017	15294	30,9
Diazinona	32127	27142	18,4
Dicofol	116787	85612	36,4
Dieldrin	8534	7556,6	12,9
Endossulfan Sulfato	38654	35281	9,6
Endrin	7811,5	5796,1	34,8
Fenitrotiona	14157	10019	41,3
Fipronil	2269	1854,1	22,4
Heptacloro	28866	23875	20,9
Heptacloro Epóxido Endo	15294	14122	8,3
Hexaclorobenzeno (HCB)	44232	36029	22,8
Lindano	24775	23614	4,9
Malationa	421933	318851	32,3
Metalaxil	25089	20666	21,4
Metidationa	53929	39541	36,4
Mirex	125416	122180	2,6
Parationa Metílica	18505	13347	38,6
Permetrina	82593	64843	27,4
Pirimifós Etilico	108251	13007	732,3
Pirimifós Metílico	31921	25151	26,9
Procimidona	47685	42037	13,4

<b>Nome do Composto</b>	<b>c.a.<sup>1</sup></b>	<b>c.a.<sup>2</sup></b>	<b>Efeito Matriz (%)</b>
Tebuconazol	79354	59110	34,2
Tetraconazol	18373	14517	26,6
Tetradifona	19699	17562	12,2
Trifloxistrobina	12532	10593	18,3
Trifluralina	46404	39232	18,3
Trifluralina d-14	64286	53426	20,3

c.a.<sup>1</sup> coeficiente angular da curva na matriz. c.a.<sup>2</sup> coeficiente angular da curva no solvente (acetonitrila).

Quando é observada variação decorrente de incremento ou supressão de sinal analítico para um determinado composto (>10%), podemos identificar a presença de efeito da matriz sobre o sistema, quando comparado com o sinal analítico obtido para o mesmo composto em solvente orgânico. O efeito matriz é mais significativo na análise de agrotóxicos quando estes se encontram em concentrações mais baixas ou quando a proporção de componentes da matriz/analito é muito alta (GOSETTI *et al.*, 2010; HAJŠLOVÁ & ZROSTLÍKOVÁ, 2003; SANCO, 2012).

É possível identificar através da avaliação dos dados descritos na Tabela 11 que a matriz exerce influência no sinal analítico, com valores inclusive bastante expressivos, tendo nos dois extremos o pirimifós etílico com 732,3% e o beta endossulfam com -82,3%.

Como já destacado para a técnica de cromatografia em fase gasosa é mais frequente o incremento de sinal analítico como resultado do efeito matriz do que a supressão de sinal. Dos compostos avaliados apenas dois apresentam efeito matriz com supressão de sinal analítico, seis não apresentam efeito matriz e 35 efeito matriz com incremento no sinal analítico.

Estes dados refletem a relevância desta avaliação a fim de correção desta interferência, justificando/necessitando o preparo das soluções analíticas no extrato da matriz, possibilitando uma correta determinação e quantificação dos compostos de interesse. Quando os valores encontrados para o efeito

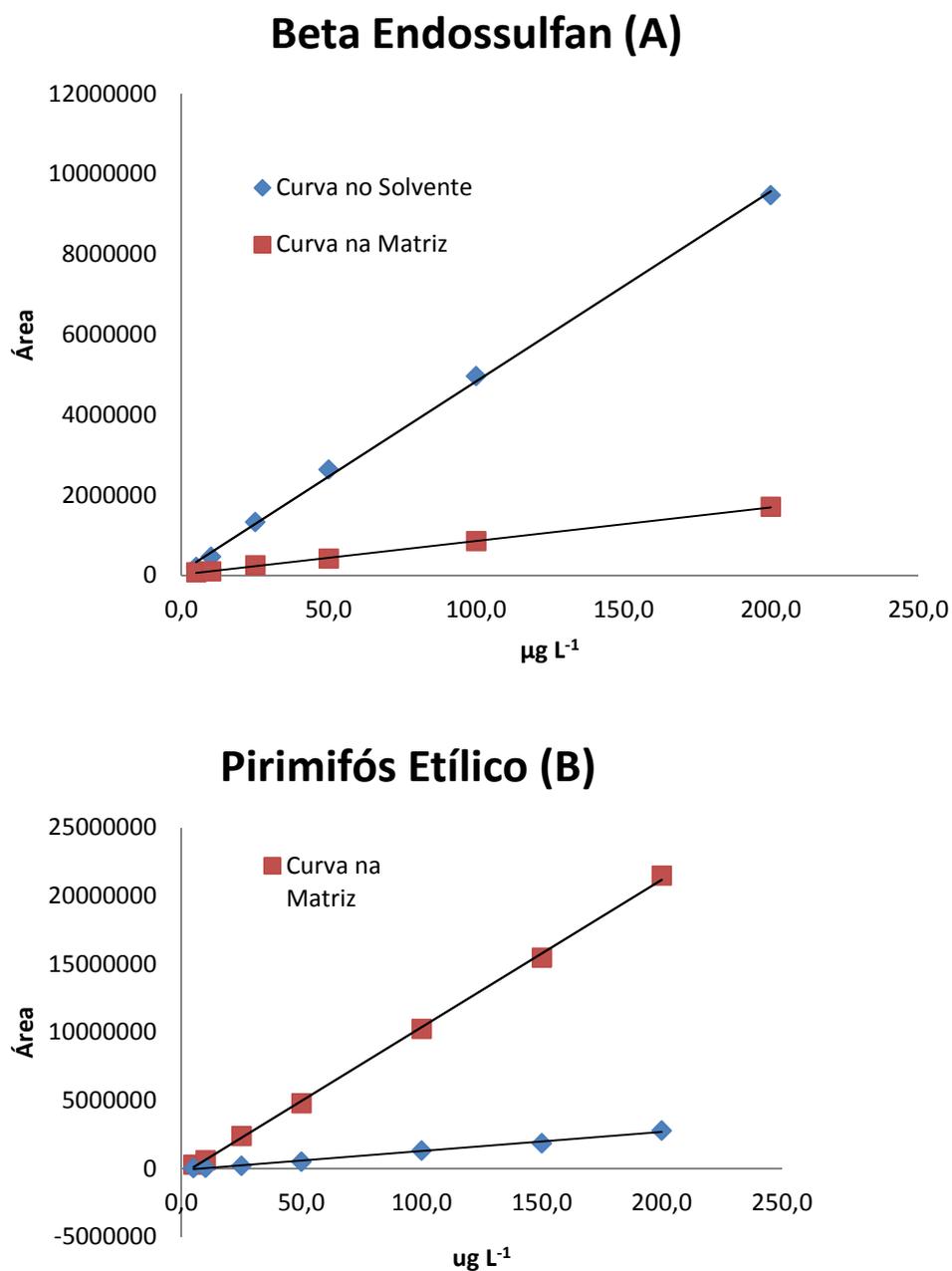
matriz são superiores a 50% revelam grande sinal de alerta, visto que são fontes de erro quantitativo bastante importante (ECONOMOU *et al.*, 2009).

Pinho *et al.* (2009) destacam que para amostras aquosas as fontes mais relevantes que exercem interferência na análise estão relacionados à matéria orgânica, ácidos húmicos, os diferentes sólidos dissolvidos na amostra. Os ácidos húmicos compreendem uma mistura complexa de moléculas com alto peso molecular, semelhantes entre si e formadas pela decomposição de plantas e organismos aquáticos (PINHO *et al.*, 2009; TOSCANO *et al.*, 2000).

As características físico-químicas da matriz que podem ser observadas na Tabela 4, evidenciam presença de sólidos totais dissolvidos na concentração de  $34,5 \text{ mg L}^{-1}$  e condutividade de  $71,4 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$ , parâmetros que estão ligados a quantidade de íons presentes na amostra branco. A avaliação da carga orgânica presente, pode ser feita através da demanda química de oxigênio, que está ligada à necessidade de oxigênio para estabilizar a matéria orgânica referente à parcela biodegradável quanto a não biodegradável, que esteja presente na amostra. As inferências obtidas através destes dados apresentam ligações diretas com o efeito matriz observado, já que estão envolvidos com na variação do sinal analítico oriundos do efeito matriz.

A relação existente entre a interferência causada pelas substâncias húmicas com outros compostos orgânicos, aqui podendo ser destacado os agrotóxicos, está relacionado às interações através de adsorção, efeitos solubilizantes, hidrólises e efeitos fotossensibilizantes. Fatores que mesmo em pequenas proporções acabam tendo dimensões significativas na ionização de compostos ou na adsorção a superfícies no sistema de injeção da amostra (TOSCANO *et al.*, 2000).

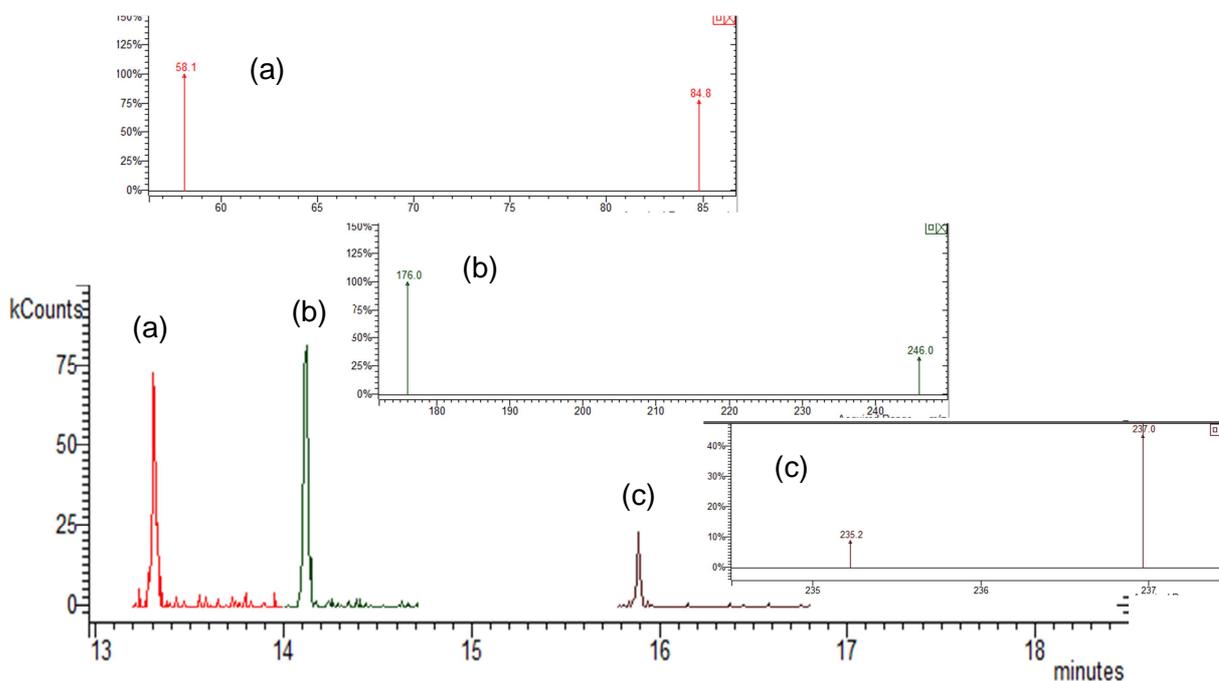
Na figura 17 é possível observar a variação que ocorre na curva de calibração, através das curvas analíticas preparadas no extrato da matriz e em solvente orgânico (acetonitrila) para os agrotóxicos: (A) beta endossulfan e (B) pirimifós etílico, ambos representando dentre todos os agrotóxicos avaliados os valores mais extremos para o efeito matriz de - 82,3% e 732,3%, respectivamente.



**Figura 17** – Curvas analíticas preparadas no extrato da matriz e em solvente orgânico (acetonitrila), para os agrotóxicos: (A) beta endossulfan e (B) pirimifós etílico obtidas por GC-(TQ)-MS/MS.

#### 4.3.8 Aplicação do Método

O método desenvolvido foi aplicado em 10 amostras reais visando investigar a presença de resíduos dos agrotóxicos avaliados. A Tabela 13 representa os resultados obtidos na avaliação das amostras analisadas, através da qual é possível perceber a presença de até 09 agrotóxicos em uma das amostras avaliadas, indicando a importância de programas de monitoramento, principalmente nos períodos relacionados à aplicação de agrotóxicos nas diferentes culturas cultivadas na região. As amostras 09 e 10 não apresentaram resíduos de agrotóxicos avaliados através deste método e passíveis de determinação. A Figura 18 mostra o cromatograma e o espectro de massas para 3 compostos encontrados na amostra 04, onde temos: metidationa em (a), 4,4-DDE em (b) e endossulfan sulfato em (c).



**Figura 18** – Cromatogramas e suas respectivas transições obtidas no modo MRM para 3 compostos encontrados na amostra 04, sendo: metidationa em (a), 4,4-DDE em (b) e endossulfan sulfato em (c).

**Tabela 13** – Agrotóxicos encontrados nas amostras analisadas por SPE e GC-(TQ)-MS/MS

<b>Amostra 01</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 02</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 03</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 04</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>
Clomazone	10,47	Clorotalonil	1,25	Beta HCH	0,38	Clomazone	8,51
Clorotalonil	1,17	Clomazone	9,73	Clorotalonil	1,08	Trifluralina	1,54
Metidationa	4,41	Metidationa	3,67	Metidationa	3,65	Diazinona	1,20
DDT	13,45	DDT	0,40	trifluralina	1,47	Clorotalonil	1,06
-	-	-	-	Clorpirifos etílico	2,30	Procimidona	2,05
-	-	-	-	-	-	Metidationa	4,71
-	-	-	-	-	-	4,4-DDE	0,19
-	-	-	-	-	-	Endossulfan Sulfato	0,32
-	-	-	-	-	-	Clorpirifos etílico	2,49
-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Amostra 05</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 06</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 07</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>	<b>Amostra 08</b>	<b>µg L<sup>-1</sup></b>
Trifluralina	1,38	Clorotalonil	0,89	Clomazone	9,35	Trifluralina	1,39
Clomazone	8,47	Metidationa	4,54	Clorotalonil	0,54	Clomazone	8,36
Clorotalonil	0,68	Trifluralina	1,25	Metidationa	3,23	Clorotalonil	1,08
Metidationa	9,21	-	-	-	-	Metidationa	4,21

## 5 CONCLUSÕES

Através do presente trabalho obteve-se um método multirresíduo, que possibilita a avaliação da presença de agrotóxicos em águas superficiais, sejam elas águas de rios, nascentes, ou açudes.

A realização de uma etapa de planejamento experimental no desenvolvimento de métodos analíticos mostra-se essencial, visto que possibilita a obtenção de condições experimentais otimizadas, principalmente quando se trabalha com grande quantidade de compostos e ainda com características físico-químicas diferentes, buscando-se condições que sejam favoráveis para a determinação do maior número de analitos possíveis. O planejamento fatorial em estrela permitiu encontrar as condições otimizadas para a extração dos agrotóxicos avaliados neste trabalho, bem como comparar o mesmo processo para três tipos diferentes de sorvente, sendo identificada a fase polimérica componente do cartucho Oasis<sup>®</sup> HLB como a mais indicada para a execução deste trabalho em função da quantidade de compostos recuperados.

A avaliação das figuras de mérito para o método proposto foram satisfatórias, com os agrotóxicos avaliados apresentando curvas analíticas lineares com coeficientes de determinação superiores a 0,99 na faixa de 5 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com valores de  $\text{LOD}_m$  e  $\text{LOQ}_m$  de 0,03 e 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Quando avaliada as recuperações empregando SPE, foi encontrado valores entre 70 e 120% para a maioria dos agrotóxicos, com exceção da bifentrina, pirimifós etílico, mirex e permetrina, quando avaliada a precisão os valores obtidos ficaram dentro do limite aceitável ( $\text{RSD} \leq 20\%$ ).

Quando avalia-se o custo dos cartuchos, é importante destacar que o sorvente Strata C18 apresenta um valor comercial reduzido quando comparado aos outros dois sorventes poliméricos avaliados. A possibilidade de adaptação do método utilizando o sorvente Strata C18 torna-se possível à medida que haja necessidade de redução de custos, levando em consideração que o

número de compostos recuperados utilizando este tipo de sorvente consta de 28 agrotóxicos na faixa de recuperação de 70-120%, podendo ser considerado uma quantidade expressiva para a determinação em apenas uma corrida cromatográfica.

Por fim a aplicação do método em amostras reais corrobora a necessidade de programas de monitoramento para as atividades de piscicultura, bem como a obtenção dos objetivos traçados para este trabalho, na busca pelo desenvolvimento de um método que possibilitasse a investigação de resíduos de agrotóxicos que pudessem estar presentes em amostras ambientais.

## **6 PERSPECTIVAS FUTURAS**

- Ampliar o escopo dos compostos avaliados neste trabalho;
- Avaliar outros tipos de matrizes como o filé de peixe e também o sedimento dos açudes.
- Fazer um estudo mais aprofundado do planejamento experimental avaliando mais fatores a fim de buscar a otimização das condições para um número maior de compostos inclusive os que puderem ser acrescentados.
- Investigar a possibilidade de implantação de monitoramento nas regiões de piscicultura.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RE n. 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA) 2010. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>, acessada em Março de 2013.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**, 4ª ed., Bookman: Porto Alegre, 2011.

BARBOSA, L. C. A. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. Viçosa: UFV, 2004, p. 15-34.

BARCELÓ, D.; HENNION, M.C. **Trace Determination of Pesticides and their degradation products in water**. 2ª ed., Elsevier: Amsterdam, 2003.

BIZKARGUENAGA *et al.* Solid-phase extraction combined with large volume injection-programmable temperature vaporization–gas chromatography–mass spectrometry for the multiresidue determination of priority and emerging organic pollutants in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1247, p. 104-117, 2012

BORTOLUZZI, E. C. *et al.* Investigation of the occurrence of pesticide residues in rural wells and surface water following application to tobacco. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1872-1876, 2007.

BORTOLUZZI, E.C. Caracterização quali-quantitativa de sedimento fluvial oriundo da micro bacia hidrográfica fumageira de Agudo, Rio Grande do Sul Brasil. Brasília: Bortoluzzi, E.C., 2004. 75p. Relatório Técnico CNPq.

BCPC (BRITISH CROP PRODUCTION COUNCIL). Disponível em <<http://www.bcpc.org/>>. Acesso em janeiro de 2013

BRASIL. Lei n.º 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos,

seus componentes e afins, e da outras providencias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 jul. 1989.

BRASIL. Lei nº. 9.433 de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei no 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei no 7.990, de 28 de dezembro de 1989. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jan. 1997. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/l9433.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/l9433.htm). Acesso em Março de 2013.

BRASIL. Lei nº. 9.433 de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei no 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei no 7.990, de 28 de dezembro de 1989. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jan. 1997. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/l9433.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/l9433.htm). Acesso em Março de 2013.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e da procedência, **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 de março de 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Agência Nacional das Águas. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil, 2011. Disponível em: [http://conjuntura.ana.gov.br/conjuntura/abr\\_nacional.htm](http://conjuntura.ana.gov.br/conjuntura/abr_nacional.htm). Acesso em 02 mai. 2013a.

BRASIL. Ministério do Meio ambiente. Conselho Nacional de Recursos Hídricos. Resolução nº 32, de 15 de outubro de 2003. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, de 17/12/2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Segurança Química, Agrotóxicos. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>. Acesso em 02 mai. 2013b.

BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e da outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em 14 abr. 2012.

BRASIL. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Nº 92, de 16/05/2011.

BROUSMICHE, D. W. et al. Functionalization of divinylbenzene/N-vinylpyrrolidone copolymer particles: Ion exchangers for solid phase extraction. **Journal of Chromatography**, v. 1191, p. 108-117, 2008.

BUTTON, T. S. Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados. Programa de Pós Graduação em engenharia mecânica. Universidade Estadual de Campinas, 2012.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduo de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, p. 1604-1617, 2011.

CALDAS, S, S.; ZANELLA, R.; PRIMEL, E, G. Herbicides and Environment. In:\_\_\_\_\_. **Risk Estimate of Water Contamination and Occurrence of Pesticides in the South of Brazil**. Rijeka: InTech, Cap. 23, p. 471-492, 2001.

CARDOSO, L. V. **Otimização e validação de método empregando SPE e LCAPCI-MS/MS para determinação de fármacos em água de superfície e de abastecimento público**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.

CARRO, M.A. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with programmed temperature vaporization-large volume injection-gas chromatography-tandem mass spectrometry for multiclass pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1253, p. 134-143, 2012

CAVALIERE, B. et al. Solid-phase microextraction-gas chromatographic approach combined with triple quadrupole mass spectrometry for the assay of carbamate pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1257, p. 149-157, 2012

COSCOLLÀ, C.; CASTILLO, M.; PASTOR, A.; YUSÀ, V. Determination of 40 currently used pesticides in airborne particulate matter (PM10) by microwave-assisted extraction and gas chromatography coupled to triplequadropole mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.693, p.72-81, 2011.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS, METHOD VALIDATION, JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME, Codex on Methods of Analysis and Sampling, Budapeste, 2001.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**, 2ª ed., Unicamp: Campinas, 2009, cap.: 8 e 9.

COUNCIL DIRECTIVE. Relating to the quality of water intended for human consumption. European Communities, 1980. Disponível em: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/site/en/consleg/1980/L/01980L077819950101-en.pdf>>. Acesso em dezembro de 2012.

D'ARCHIVIO, A. A. *et al.* Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography **Talanta** 2007, 71, 25.

DOBSON, R. *et al.* Comparison of the efficiencies of different types of adsorbents at trapping currently used pesticides in the gaseous phase using the technique of high-volume sampling. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 6, p. 1781–1789, 2006.

DONATO, F. F. *et al.* Simultaneous determination of pesticide and antibiotic residues at trace levels in water samples by SPE and LC-MS/MS. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 7, p. 331-340, 2012.

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

ECONOMOU, A. *et al.* Determination of multi-class pesticides in wines by solidphase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1216 (2009) 5856.

Eaton, A.D.; Clesceri, L.S.; Greenberg, A. E.; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, American Public Health Association, Washington, **2005**.

FRENICH, A. G. *et al.* Compensation for matrix effects in gas chromatography – tandem mass spectrometry using a single point standard addition. **Journal of Chromatography A**, 1216 (2009) 4798.

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

FRITZ, J. S.; MACKA, M. Solid-Phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. **Journal of Chromatography A**, 2000, 902,137.

GAMA, A. F. *et al.* Inventário de agrotóxicos e risco de contaminação química dos recursos hídricos no semiárido cearense. **Química Nova**, v. 36, p. 462-467, 2013.

GATIDOU, G. *et al.* Determination of the antifouling booster biocides irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography-diode array detector; **Analítica Chimica Acta** 2005, 528, 89.

GOSETTI, F. *et al.* Signal suppression/ enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.1217, p. 3929-2933, 2010.

GROSS, J. H. **Mass spectrometry**. A textbook. 1a ed. Springer, Alemanha, 2004.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Carlos Alberto da Silva Riehl e Alcides Wagner Serpa Guarino (Trad.). 5. ed. Rio de Janeiro : LTC, 862p, 2001.

HAJSLOVÁ, J.; ZROSTLÍKOVÁ, J. Matrix effects in (ultra) trace analyses of pesticides residues in food and biotic matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 181, 2003.

HILDEBRANDT, A.; LACORTE, S.; BARCELÒ, D. Assessment of priority pesticides, degradation products, and pesticide adjuvants in groundwaters and top soils from agricultural areas of the Ebro river basin. **Anal Bioanal Chem**, v. 387, p. 1459-1468, 2007.

HUSKÓVA, et al. Analysis of pesticide residues by fast gas chromatography in combination with negative chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 6326-6334, 2009.

IBANEZ, M. *et al.* Residue determination of glyphosate, glufosinate and aminomethylphosphonic acid in water and soil samples by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. **J. Chromatography A**, 1081 (2005) 145.

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

ICH (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **Validation of Analytical Procedures: Methodology**, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

ISO (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION). General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, ISO/EC 17025, 2005.

ISO (INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION). Statistics-Vocabulary and Symbols - Part 1: Probability and General Statistical Terms, ISO 3534-1, 1993.

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

KASTENHOLZ, U.; UBINIOK, J.; KUNKEL, R. Modèle de répartition géoécologique du Cesium137 à la suite de l'accident du réacteur nucléaire de Tchernobyl: contribution à la protection des sols en Sarre. **Étude et Gestion des Sols**, Ardon, v.8, n.3, p.189-202, 2001.

KURZ, M. H. S. *et al.* Development of a Fast Method for the Determination of the Insecticide Fipronil and its Metabolites in Environmental Waters by SPE and GC-ECD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 631-638, 2013.

LAABS, V.; AMELUNG, W.; PINTO, A.; ZECH, W. Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, p. 256 -268, 2002.

LAMBERTUS, G. A. *et al.* Design, fabrication, and evaluation of microfabricated columns for gas chromatography. **Analytical Chemistry**, 2004, 76, 2629.

LINS, M.; BRAMORSKI, J.; PINHEIRO, A.; BREUCKMANN, H. Influência da cobertura do solo e do comprimento da vertente no transporte de sedimentos.

In: Paiva, E.M.C.D.; Paiva, J.B.D. (eds.). Caracterização quali-quantitativa da produção de sedimentos. Santa Maria: ABRH/UFSM, 2001. cap.1, p.11-23.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO), 2010. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acessado em: 14 de Maio de 2013.

MARTINI, L. F. D. *et al.* Imazethapyr and imazapic runoff under continuous and intermittent irrigation of paddy rice. **Agricultural Water Management**, v. 125, p. 26-34, 2013.

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

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

PEREIRA, M. B. **Avaliação da técnica de extração por SPE e GC-(EI)-MS/MS na análise de agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado.** 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

PICÓ, Y.; BLASCO, C.; FONT, G. **Environmental and food applications of LC tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview.** Mass Spectrometry Reviews, v. 23, p. 45, 2004.

PINHO, G. P. *et al.* Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Quim. Nova**, 32 (2009) 987.

PIZZUTTI, I. R. *et al.* Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization. **J. Chromatogr. A**, 1142 (2007) 123.

PRESTES, O. D. **Método rápido para a determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em alimentos de origem animal por LC-MS/MS.** 2011. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

PRESTES, O. *et al.* Desenvolvimento e validação de um método analítico para a determinação de histamina em vinhos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. **Quim. Nova**, v. 30, p.18-21, 2007.

QUEIROZ, S. C. N.; MELO, L. F.C.; J, I. C. S. F. Novos sorventes baseados em poli(metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 29, p. 637-640, 2006.

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M.; Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2342-2357, 2010.

RHEINHEIMER, D.S.; GONÇALVES, C.S.; PELLEGRINI, J.B.R. Impacto das atividades agropecuárias na qualidade da água. **Ciência & Ambiente**, n. 27, p 85-96. 2003.

RIAL-OTERO, R.; GASPAR, E. M.; MOURA, I.; CAPELO, J. L. Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview; **Talanta** 2007, 71, 503.

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

RIDGWAY, K., *et al.* Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v.1153, p. 36-53, 2007.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual do Meio Ambiente. Resolução n.º 128/2006. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: CONSEMA, 2006.

SABIN, G. P.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Multiresidue determination of pesticides in drinking water by gas chromatography – mass spectrometry after solid-phase extraction. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 918-925, 2009.

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

SANCO (EUROPEAN COMMISSION) **Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis**, 4ª Edição, Documento N° SANCO/12495/2011, 01 de Fevereiro 2012, Bruxelas, Bélgica. 2012.

SANTOS, I. N.; HORBE, A. M. C.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F.; **Acta Amazônica**, 2006, 36, 229.

SCHEYER, A. *et al.* Variability of atmospheric pesticide concentrations between urban and rural areas during intensive pesticide application. **Atmospheric Environment**, v. 41, p. 3604–3618, 2007.

SENRA, J. B. **A paisagem da água no Brasil**. In: NEUTZLING, I. (Org.) *Água: bem público universal*. São Leopoldo: Ed. Unisinos, 2004, p. 33-56.

SHOMAR, B. H.; MULLER, G.; YAHYA, A.; Occurrence of Pesticides in groundwater and soil of Gaza Strip. **Water, Air, Soil Pollut.** 2006, 171, 237.

SKOOG, D. A. *et al.* **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookmann, 1056p, 2009.

SPADOTTO, C. A., *et al.* Fundamentos e aplicações da modelagem ambiental de agrotóxicos. Campinas: **Embrapa**, (Embrapa Meio Ambiente Documentos, 78), 49p, 2010.

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

SPADOTTO, C. A.; FILIZOLA, H.; GOMES, M. A.; Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. 2001, 11, 127.

SPONGBERG, A. L.; MARTIN-HAYDEN, J. M. Pesticide stratification in an engineered wetland delta. **Environmental Science and Technology**, v. 31, n. 11, p. 3161-3165. 1997.

WALORCZYK, S. Gas chromatographic–tandem mass spectrometric analysis of pesticides residues in produce using concurrent solvent recondensation-large volume injection. **Journal of Chromatography A**, v. 1222, p. 98-108, 2012.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. GC-MS: Más de un Analizador de Masas, ¿para qué? **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 25-33, 2010.

TARLEY, C. R. T. *et al.* Chemometric Tools in Electroanalytical Chemistry: Methods for Optimization Based on Factorial Design and Response Surface Methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, n. 1, p. 58-67, 2009.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Quím. Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

TOSCANO, I. A. S. *et al.* Determinação de carbaril utilizando testes ELISA (EnzymeLinked Immunosorbent Assay) e CLAE com detecção por arranjo de diodos. **Quím. Nova**, v 23, p. 466-471, 2000.

TRAN, A. T. K.; HYNNE R. V.; DOBLE P. Determination of Commonly used Polar Herbicides in Agricultural Drainage Waters in Australia by HPLC. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p. 944-953, 2007.

U.S.EPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY), 1997a. <<http://www.epa.gov/ncer/rfa/archive/grants/97/endocrine.html>> Acesso: 23 de Julho de 2011.

VEGA, A. B.; GARRIDO Frenich, A.; MARTINEZ Vidal, J. L.; Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 538, n. 1-2, p. 117-27, 2005.

VEIGA, M. M. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2391-2399, 2006.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS), 2005. <<http://faostat.fao.org/site/379/DesktopDefault.aspx?PageID=379>> Acesso em 03 de Maio de 2011.

## **8 DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS**

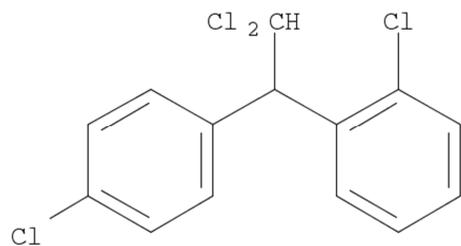
A busca pela redução de resíduos nas atividades humanas é etapa fundamental em todos os processos, as desenvolvidas em laboratórios não fogem a esta regra e mesmo com esta crescente busca sempre há a geração de resíduos líquidos e sólidos proveniente dos ensaios analíticos, que devem ser tratados e descartados de forma adequada.

Neste sentido os resíduos líquidos e sólidos foram recolhidos, e armazenados em recipientes separados e rotulados devidamente, sendo os líquidos como halogenados e não halogenados e logo após, encaminhados para o Almoxarifado do departamento de química, responsável pelo destino final destes resíduos na UFSM, através de uma empresa terceirizada com competência técnica nesta área.

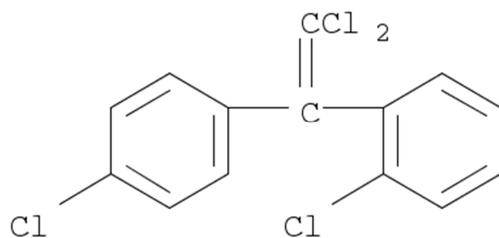
## 9 ANEXO

Anexo I: Fórmulas Estruturais dos compostos em estudo neste trabalho.

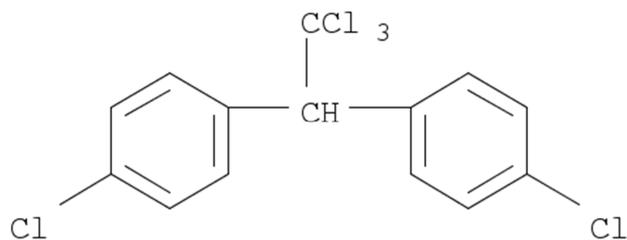
2,4-DDD [53-19-0]



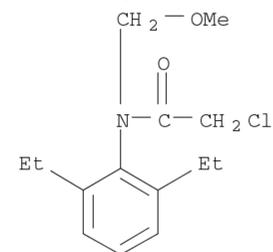
4,4-DDE [3424-82-6]



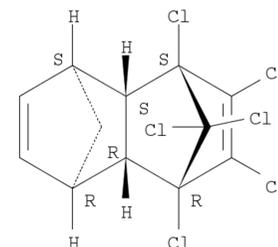
DDT [50-29-3]



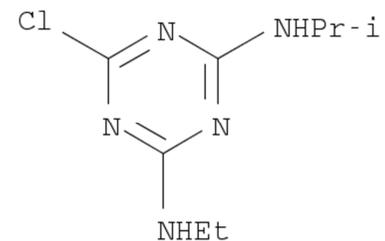
Alaclor [15972-60-8]

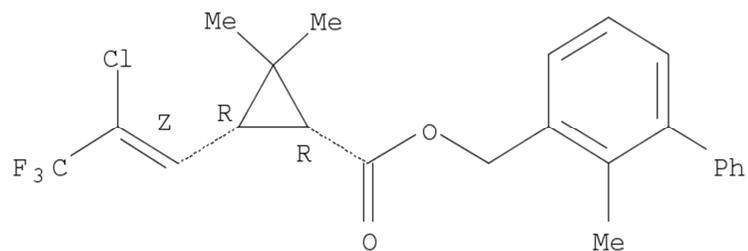
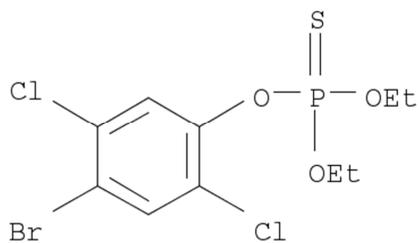
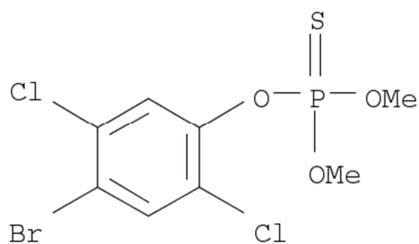
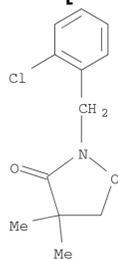
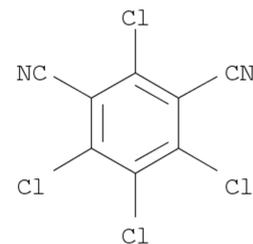
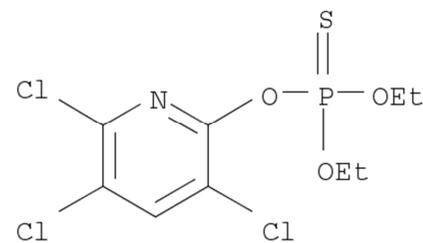
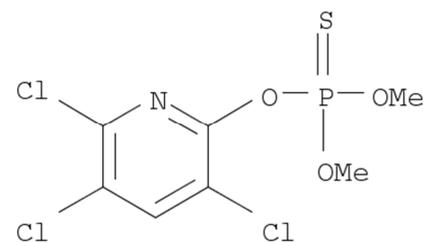
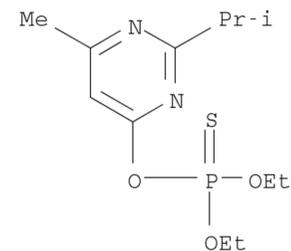


Aldrin [309-00-2]

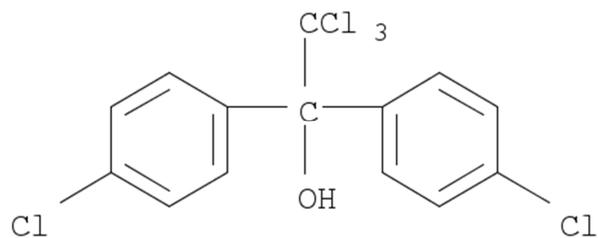


Atrazina [1912-24-9]

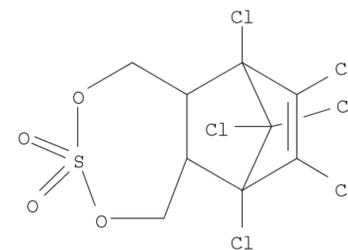


**Bifentrina [82657-04-3]****Bromofós Etílico [4824-78-6]****Bromofós Metílico [2104-96-3]****Clomazone [81777-89-1]****Clorotalonil [1897-45-6]****Clorpirifós Etílico [2921-88-2]****Clorpirifós Metílico [5598-13-0]****Diazinona [333-41-5]**

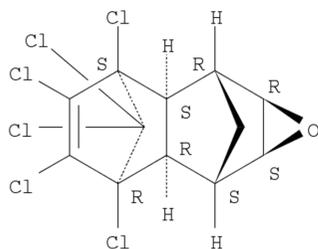
Dicofol [115-32-2]



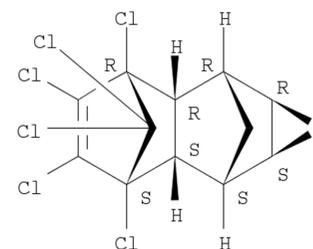
Endossulfan Sulfato [1031-07-8]



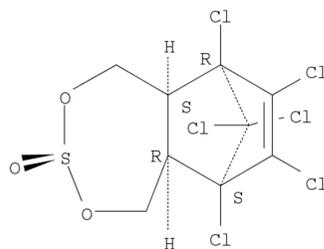
Dieldrin [60-57-1]



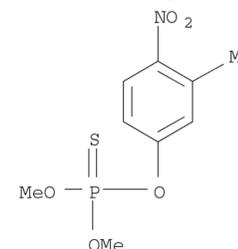
Endrin [7220-8]



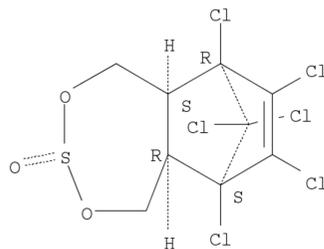
Endossulfan alfa [959-98-8]



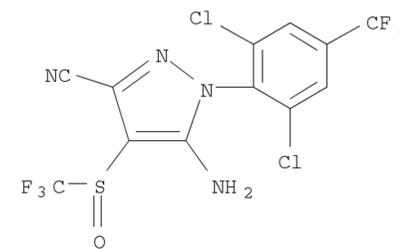
Fenitrotiona [122-14-5]



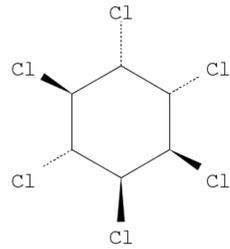
Endossulfan beta [19670-15-6]



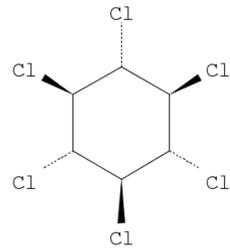
Fipronil [120068-37-3]



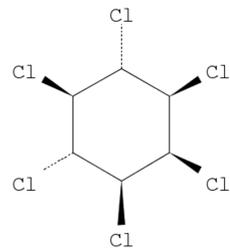
HCH alfa [319-84-6]



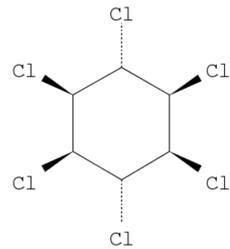
HCH beta [319-85-7]



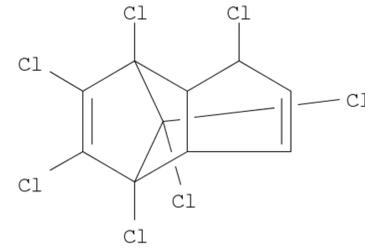
HCH delta [319-86-8]



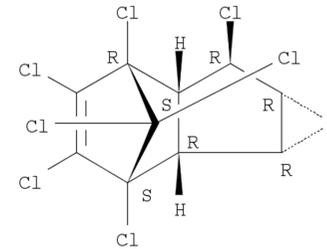
HCH gamma – Lindano [58-89-9]



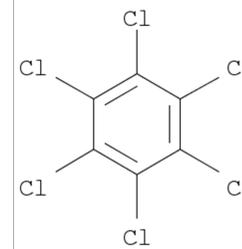
Heptacloro [76-44-8]



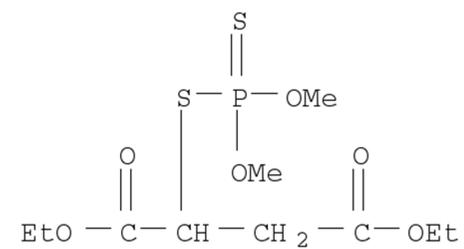
Heptacloro Epóxido Endo [28044-83-9]

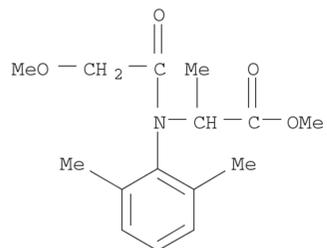
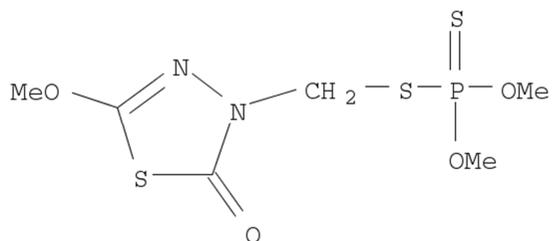
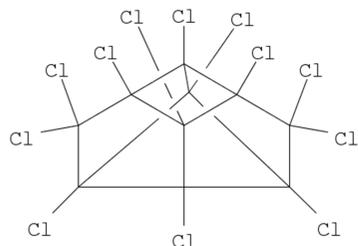
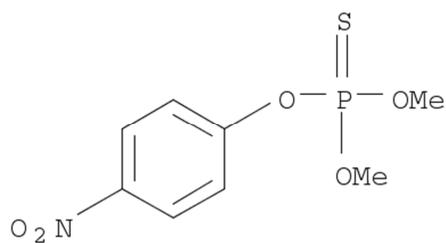
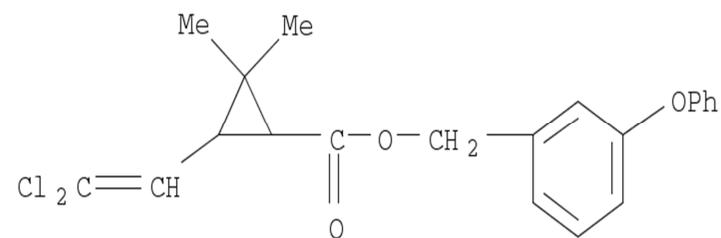
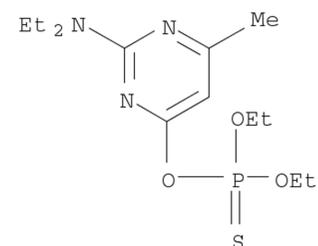
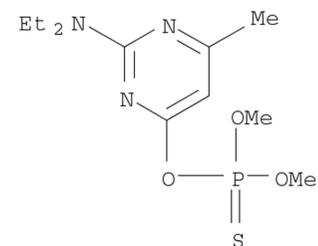
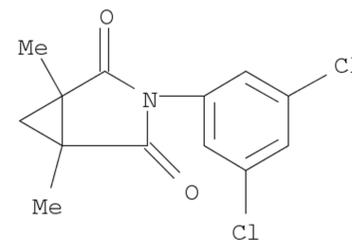


Hexaclorobenzeno[118-74-1]

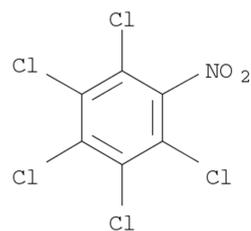


Malationa [121-75-5]

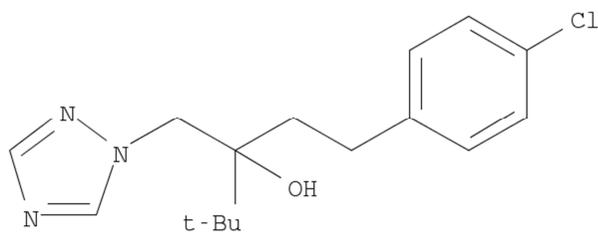


**Metalaxil [57837-19-1]****Metidationa [950-37-8]****Mirex [2385-85-5]****Parationa Metílica [298-00-0]****Permetrina [52645-53-1]****Pirimifós Etílico [23505-41-1]****Pirimifós Metílico [29232-93-7]****Procimidona [32809-16-8]**

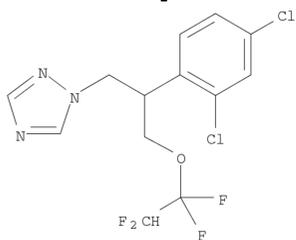
---

 Quintozeno [82-68-8]


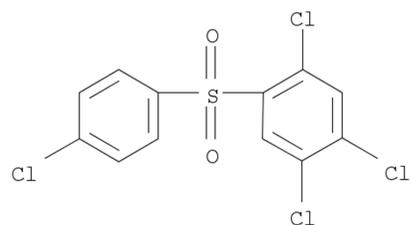

---

 Tebuconazol [107534-96-3]


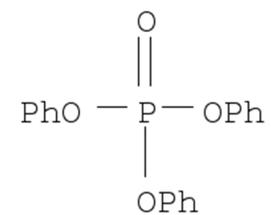

---

 Tetraconazol [112281-77-3]


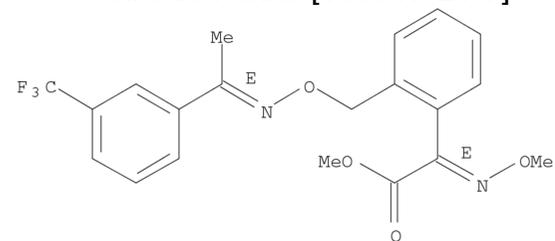

---

 Tetradifona [116-29-0]



---

 Trifenilfosfato [115-86-6]



---

 Trifloxistrobina [141517-21-7]



---

 Trifluralina [1582-09-8]
