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

Gabriel Capeletto dos Santos

Desenvolvimento de métodos para determinação de resíduos de trifenilestanho em água e solo por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série

Santa Maria, RS
2018

Gabriel Capeletto dos Santos

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM SÉRIE

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

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria - RS

2018

Gabriel Capeletto dos Santos

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM SÉRIE

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

Aprovado em 29 de março de 2018:

Renato Zanella, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Liziara da Costa Cabrera, Dr. (UFFS)

Aline Lima Hermes Müller, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS

2018

dos Santos, Gabriel Capeletto
Desenvolvimento de métodos para determinação de resíduos de trifenilestanho em água e solo por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série / Gabriel Capeletto dos Santos.- 2018.
80 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientador: Osmar Damian Prestes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, RS, 2018

1. SPE 2. QuEChERS 3. organoestânico 4. agrotóxicos 5. LC-MS/MS I. Zanella, Renato II. Damian Prestes , Osmar III. Título.

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

Dedico este trabalho à minha família e amigos,
coadjuvantes na luta diária para cada conquista alcançada.

“Na vida, não vale tanto o que temos, nem importa o que somos.
Vale o que realizamos com aquilo que possuímos e,
acima de tudo, importa o que fazemos de nós!”
Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

À **UFSM** pela possibilidade de formação profissional e ao **Programa de Pós Graduação em Química da UFSM,** pela oportunidade de execução do trabalho.

Ao Prof. Dr. **Renato Zanella**, pela orientação, pelas oportunidades proporcionadas ao longo da minha trajetória acadêmica, além da transmissão de conhecimentos e exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. **Osmar Damian Prestes**, pelo suporte desde a graduação até a pós graduação apostando seus créditos em mim. Agradeço à paciência, orientação, dedicação e companheirismo, e pelo exemplo profissional.

À Profª. Drª. **Liziara da Costa Cabrera**, pelas contribuições e sugestões como banca examinadora.

À Profª. Drª. **Aline Lima Hermes Müller**, pela participação como banca examinadora e pelas sugestões que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos demais professores e colegas do LARP. Em especial, agradeço aos colegas **Lucila Cendon**, **Jorge Rios**, **Graziela Iop**, **Larissa Toniolo**, **Juliana Kuntz** e **Andressa Soares** pela parceria e execução nas tarefas laboratoriais.

Aos amigos **Fábio de Matos**, **Filipe Donato** e **Nelson Bandeira** que estiveram ao lado durante minha trajetória dentro do laboratório, tornando-se peças-chave direta ou indiretamente na execução deste trabalho. Obrigado pela parceria, troca de conhecimentos, descontração e apoio em todos os momentos.

Aos meus pais **Andreia Capeletto**, **Carlos Fagundes** e **Lourival dos Santos**, e irmãos **Millena**, **Ígor**, **Bárbara** e **Lara**, pelo amor incondicional e incentivo. Em especial, à minha mãe que não mediu esforços para que eu pudesse manter-me firme em cada decisão.

Aos amigos, **Jucelino Marques** e **Bernardo Razera** pela amizade e pelo apoio durante toda a formação acadêmica.

Ao **CNPq**, **CAPES**, pelo auxílio financeiro.

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM SÉRIE

AUTOR: Gabriel Capeletto dos Santos
ORIENTADOR: Renato Zanella

O trifenilestanho tem sido amplamente empregado como fungicida em diversas culturas, porém seu uso é proibido na cultura do arroz irrigado no Brasil por oferecer alto risco ao meio ambiente. Neste trabalho, métodos foram desenvolvidos e validados para determinação de resíduos de trifenilestanho (TPhT) em amostras de água e solo por cromatografia líquida com espectrometria de massa em série (LC-MS/MS). Para análise de água empregou-se a extração em fase sólida (SPE) avaliando-se univariadamente algumas variáveis como: volume de amostra, pH da amostra, tipo e volume de solvente de eluição. Para análise do solo, um planejamento completo de experimentos 2^3 foi aplicado ao método QuEChERS para otimizar o preparo de amostras de solo avaliando multivariadamente as variáveis como partição, tipo e concentração de ácido no solvente de extração. Os limites de quantificação (LOQ) dos métodos foram 0,1 µg L^{-1} e 10 µg kg^{-1} para amostras de água e solo, respectivamente. Exatidão satisfatória, com recuperações de 84 a 113% para amostras de água e de 72 a 99% para amostras de solo, bem como boa precisão, com desvio padrão relativo (RSD) de 3 a 18% e 2 a 7% para água e solo, respectivamente. Os métodos validados foram aplicados em amostras reais e nenhum resíduo de TPhT foi encontrado. Porém, os métodos propostos apresentaram desempenho adequado utilizando o procedimento de adição de padrão. Os resultados indicaram que os métodos propostos são adequados para análises de rotina de resíduos de TPhT em amostras de água e solo.

Palavras-chave: SPE, QuEChERS, organoestânico, agrotóxicos, LC-MS/MS.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF METHODS FOR DETERMINATION OF TRIPHENYLTIN RESIDUES IN WATER AND SOIL BY LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH TANDEM MASS SPECTROMETRY

AUTHOR: Gabriel Capeletto dos Santos
ADVISOR: Renato Zanella

Triphenyltin has been widely used as fungicide in several crops, but its use in irrigated rice crop was banned in Brazil because it poses a high risk to the environment. In this work, methods for determination of triphenyltin (TPhT) residues in water and soil samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were developed and validated. For water analysis, solid phase extraction (SPE) was used to evaluate univariate variables such as: sample volume, sample pH, type and volume of elution solvent. For soil analysis, a complete design of experiments 2^3 was applied to the QuEChERS method to optimize sample preparation for soil evaluating variables such as partition, type and acid concentration in the extraction solvent. Practical methods limits of quantification (LOQ) were 0.1 µg L^{-1} and 10 µg kg^{-1} for water and soil samples, respectively. Satisfactory accuracy, with recoveries from 84 to 113% for water samples and 72 to 99% for soil samples, as well as good precision, with overall relative standard deviation (RSD) from 3 to 18% for water samples and 2 to 7% for soil samples were achieved. The validated methods were applied to real samples and no residues of TPhT were found. Although, the proposed methods presented adequate performance using standard addition procedure. Results indicated that proposed methods are suitable for routine analysis of TPhT residues in water and soil samples.

Keywords: SPE, QuEChERS, organotin, pesticides, LC-MS/MS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura geral do trifenilestanho ($(C_6H_5)_3Sn$-X), onde X é um ânion ou grupamento aniônico. Fonte: WHO, 1999. 25

Figura 2. Caramujo *Pomacea canaliculata*..... 27

Figura 3. Pontos de amostragem ao longo da bacia hidrográfica do rio Soturno. 49

Figura 4: Resultados das áreas obtidas na determinação de resíduos de trifenilestanho por LC-MS/MS em função da variação do volume de amostra (50, 100 e 200 mL) 56

Figura 5: Resposta em área para os ensaios variando o ajuste de pH da amostra na extração de resíduos de trifenilestanho em amostras de água por SPE e determinação por LC-MS/MS..... 57

Figura 6: Cromatogramas obtidos por LC-MS/MS no modo SRM de amostras de água fortificadas a 50 µg L^{-1} eluídas com diferentes soluções. 59

Figura 7: Comparação dos cromatogramas obtidos por LC-MS/MS no modo SRM de amostras de água fortificadas a 50 µg L^{-1} para acetonitrila 1% (v/v) ácido acético (verde) e metanol1% (v/v) ácido acético (vermelho). 60

Figura 8: Resultados de recuperação para avaliação do volume de solvente na etapa de eluição da SPE para determinação de resíduos de trifenilestanho por LC-MS/MS..... 61

Figura 9: Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para partição, tipo de ácido e concentração de ácido e suas interações na recuperação de resíduos de TPhT de amostras de solo. 62

Figura 10: Gráfico de médias marginais de partição (A), tipo de ácido (B) e concentração de ácido (C). 63

Figura 11: Resultados de recuperação obtidos para os 8 experimentos do planejamento fatorial completo..... 64

Figura 12: Cromatograma SRM obtido através de LC-MS/MS para o composto TPhT em amostras “branco” de solo (verde), fortificação na amostra na concentração de 100 µg kg^{-1}(azul) e solução padrão em solvente na concentração de 50 µg L^{-1} (vermelho). 66

Figura 13: Equação da reta e r^2 para curvas de analítica preparadas em metanol (CTS) e extrato “branco” da matriz solo (CTM) na faixa de trabalho de 2 a 100 µg L^{-1}. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Gradiente da fase móvel para a eluição do TPhT determinado por LC-MS/MS. 44

Tabela 2- Planejamento de experimentos fatorial completo 2^3 para avaliação da influência da adição de sais, tipo de ácido e concentração de ácido na eficiência da etapa de extração de resíduos dede trifenilestanho em amostras de solo. 47

Tabela 3 - Íons precursores, íons produto (m/z), energia do capilar (V) e energia de colisão (eV) para determinação de resíduos de TPhT com atrazina-d5 como padrão de controle e TPP como padrão interno por LC-MS/MS. 54

Tabela 4 - Resultados de recuperação para os ensaios de fortificação com concentrações de 0,1 a 2 µg L^{-1} para água e 10 a 200 µg kg^{-1} para o solo. 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACT – Azocicloestanho, do inglês *azocyclotin*

ANA – Agência Nacional de Águas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI – Ionização química à pressão atmosférica, do inglês *atmospheric-pressure chemical ionization*

C_{18} – Sílica modificada com hidrocarboneto linear C_{18}, octadecilsilano

CAR/PDMS – Carboxen/polidimetilsiloxano, do inglês *carboxen/polydimethylsiloxane*

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CE-TOF-MS – Eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas com tempo de vôo, do inglês *capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry*

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CTM – Curva de trabalho preparada no extrato da matriz

CTS – Curva de trabalho preparada em solvente

DBT – Dibutilestanho, do inglês *dibutyltin*

DMT – Dimetilestanho, do inglês *dimethyltin*

DOT – Dioctilestanho, do inglês *dioctylltin*

DQ – Departamento de Química

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ESI – Ionização por eletronebulização, do inglês *electrospray ionization*

ESI (-) – Ionização por eletronebulização no modo negativo, do inglês *electrospray ionization in negative mode*

ESI (+) – Ionização por eletronebulização no modo positivo, do inglês *electrospray ionization in positive mode*

eV – Elétron-volt

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

FBT – Febutanestanho, do inglês *febutantin*

GC – Cromatografia gasosa, do inglês *gas chromatography*

GC-AED – Cromatografia gasosa com detecção por emissão atômica, do inglês *gas chromatography – atomic emission detection*

GC-FPD – Cromatografia gasosa com detecção fotométrica de chama, do inglês *gas chromatography- flame-photometric detection*

GC-HRMS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução, do inglês *gas chromatography-high-resolution mass spectrometry*

GC-ICP-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês *gas chromatography - inductively coupled plasma - mass spectrometry*

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography coupled to mass spectrometry*

GC-MS/MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em série, do inglês *gas chromatography coupled to tandem mass*

GC-PFPD – Cromatografia gasosa com detecção fotométrica de chama pulsada, do inglês *gas chromatography-pulsed flame-photometric detection*

GC-QFAAS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de absorção atômica com forno de quartzo, do inglês *gas chromatography* – quartz furnace atomic absorption spectrometry

HILIC – Cromatografia líquida com interação hidrofílica, do inglês *hydrophilic-interaction liquid chromatography*

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *high performance liquid chromatography*

HPLC-ICP-MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês *high performance liquid chromatography- inductively coupled plasma-mass spectrometry*

HPLC-UV – Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta, do inglês *high performance liquid chromatography with ultraviolet detection*

HS-SPME – Microextração em fase sólida no modo headspace, do inglês *headspace solid phase microextraction*

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

K_{oc} – Coeficiente de partição

K_{ow} – Coeficiente de partição octanol água

LARP – Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas

LC – Cromatografia líquida, do inglês *liquid chromatography*

LC-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês *liquid chromatography coupled to mass spectrometry*

LC-MS/MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*

LOD – limite de detecção, do inglês *limit of detection*

LOD_i – limite de detecção do instrumento, do inglês *limit of detection of the instrument*

LOD_m – limite de detecção do método, do inglês *limit of detection of the method*

LOQ – limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*

LOQ_i – limite de quantificação do instrumento, do inglês *limit of quantification of the instrument*

LOQ_m – limite de detecção do método, do inglês *limit of quantification of the method*

m/z – Razão massa carga

MAE – Extração assistida por micro-ondas, do inglês *microwave-assisted extraction*

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MBT – Monobutilestanho, do inglês *monobutyltin*

MMLLE – Extração líquido-líquido com membrana microporosa, do inglês *microporous membrane liquid-liquid extraction*

MMT – Monometilestanho, do inglês *monomethyltin*

MOT – Monoctilestanho, do inglês *monoctylltin*

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

OHBuDBT – 4-hidroxibutildibutilestanho, do inglês *4-hydroxybutyldibutyltin*

PDMS/DVB – Polidimetilsiloxano/divinilbenzeno, do inglês *polydimethylsiloxane/divinylbenzene*

PI – Padrão Interno

r^2 – coeficiente de determinação

rec – Recuperação

RSD – Desvio Padrão Relativo, do inglês Relative Standard Deviation

RSD_{PI} – Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

S/R – Relação sinal ruído

SBSE – Extração sortiva em barra de agitação, do inglês *stir bar sorptive extraction*

SiBCS – Sistema Brasileiro de Classificação de Solos

SPE – Extração em fase sólida, do inglês *solid phase extraction*

SPME – Microextração em fase sólida, do inglês *solid phase micro extraction*

SRM – Monitoramento de reações selecionadas, do inglês *selected reaction monitoring*

TBT – Tributilestanho, do inglês *tributyltin*

TCyHT – Triciclo-hexilestanho, do inglês *tricyclohexyltin*

TeBT – Tetrabutilestanho, do inglês *tetrabutyltin*

TeET – Tetraetilestanho, do inglês *tetraetyltin*

TePhT – Tetrafenilestanho, do inglês *tetraphenyltin*

TET – Trietilestanho, do inglês *trietyltin*

TMAH – Hidróxido de tetrametilamônio, do inglês *tetramethylammonium hydroxide*

TMT – Trimetilestanho, do inglês *trimethyltin*

TOT – Trioctilestanho, do inglês *trioctylltin*

TPhT – Trifenilestanho, do inglês *triphenyltin*

TPP – Trifenilfosfato, do inglês *triphenylphosphate*

TQ – Triplo quadrupolo

UAE – Extração assistida por ultrassom, do inglês *ultrasound-assisted extraction*

UHPLC-ICP-MS – Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês *ultra high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry*

v/v – Volume por volume

VMP – Valor Máximo Permitido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20
2.1 ÁGUA 20
2.2 SOLO 21
2.3 AGROTÓXICOS 22
2.4 HISTÓRICO DO USO DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS ... 23
2.5 USO DO COMPOSTO TRIFENILESTANHO NA AGRICULTURA... 26
2.5.1 Bacia hidrográfica do Rio Jacuí 28
2.6 RESÍDUOS DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS 29
2.7 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO 31
2.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO 37
2.8.1 Seletividade (ou especificidade) 38
2.8.2 Linearidade, curva analítica e faixa de trabalho 38
2.8.3 Precisão (Precisão Intermediária) 39
2.8.4 Exatidão 39
2.8.5 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) 39
3 MATERIAIS E MÉTODOS 41
3.1 INSTRUMENTAÇÃO 41
3.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS 42
3.3 ESCOLHA DO PADRÃO DE CONTROLE E DO PADRÃO INTERNO 43
3.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS 43
3.5 CONDIÇÕES DO SISTEMA LC-MS/MS 44
3.6 OTIMIZAÇÃO DA SPE PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA 45
3.7 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM SOLO 47
3.8 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS EM AMOSTRAS REAIS 48
3.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO SPE E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM AMOSTRA DE ÁGUA 50
3.9.1 Seletividade 50

3.9.2 Linearidade e Curvas Analíticas 50
3.9.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) 51
3.9.4 Ensaios de recuperação para avaliar a exatidão e a precisão 51
3.10 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM AMOSTRA DE SOLO 51
3.10.1 Seletividade 52
3.10.2 Linearidade e Curvas Analíticas 52
3.10.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) 52
3.10.4 Ensaios de recuperação para avaliar a exatidão e a precisão 53
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 54
4.1 CONDIÇÕES OTIMIZADAS DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO 54
4.2 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE SPE PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA 55
4.2.1 Volume de amostra 55
4.2.2 pH da amostra 57
4.2.3 Solvente de eluição 58
4.2.4 Volume do solvente de eluição 60
4.3 MÉTODO SPE OTIMIZADO 61
4.4 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM SOLO 62
4.5 MÉTODO QuEChERS OTIMIZADO 65
4.6 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZANDO SPE E QuEChERS PARA A EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO E DETERMINAÇÃO POR LC-MS/MS 65
4.6.1 Seletividade 65
4.6.2 Linearidade e curva analítica 67
4.6.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação do método 68
4.6.4 Exatidão (recuperação), precisão (RSD) e precisão intermediária 68
4.7 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SOLO 69
5 CONCLUSÕES 70
REFERÊNCIAS 72

1 INTRODUÇÃO

O meio ambiente vem continuamente sendo alvo de poluição por inúmeras vias. Dessa forma, a qualidade de recursos naturais como água e solo tem sido comprometida ao longo dos anos pela dispersão constante de substâncias persistentes no ambiente. Parte dessa poluição é oriunda do uso indiscriminado de agrotóxicos que acabam contaminando também os seres vivos direta ou indiretamente. Dentre estas substâncias, os compostos organoestânicos tiveram um crescimento exponencial na sua utilização desde os anos 60. Isto porque estes compostos apresentam além de suas propriedades estabilizantes um alto poder biocida. Assim, triorganoestânicos vêm sendo utilizados na agricultura para o combate de doenças em inúmeras culturas (HOCH, 2001).

O trifenilestanho, por exemplo, tem sido amplamente empregado como fungicida em culturas de algodão, arroz e feijão. No Brasil, a formulação comercial Mertin® 400 possui como ingrediente ativo o hidróxido de trifenilestanho, classificado como fungicida e indicado para controle de culturas como feijão e algodão (SYNGENTA, 2017). Atualmente, este produto foi impedido de ser comercializado no estado do Rio Grande do Sul por uso constatado em culturas de arroz irrigado. A proibição tem como justificativa o risco ao meio ambiente, uma vez que, o trifenilestanho apresenta alta persistência e bioacumulação (BRASIL, 2017). Além disso, o trifenilestanho é conhecido por atuar como disruptor endócrino. Há relatos na literatura da relação entre a contaminação por trifenilestanho em organismos aquáticos com a ocorrência de *imposex*, caracterizada pelo desenvolvimento de canal deferente e pênis em fêmeas de caramujos (YI et al., 2012).

A ocorrência dessas substâncias no ambiente mesmo em baixas concentrações evidencia a importância de se monitorar o trifenilestanho em amostras ambientais como a água e o solo. Os métodos de extração descritos na literatura para determinação de trifenilestanho nessas matrizes empregam a extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE), extração assistida por ultrassom (UAE) como também técnicas de microextração como a microextração em fase sólida (SPME), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), entre outras (COLE et al., 2015).

A determinação de resíduos organoestânicos pode ser realizada por cromatografia gasosa (GC) posterior ao procedimento de derivatização ou por cromatografia líquida (LC) que dispensa esta etapa. Uma vez que, a determinação por GC necessita de uma derivatização prévia do trifenilestanho, fatores como tempo de preparo da amostra e a exatidão são afetados pelo procedimento, especialmente no que diz respeito à determinação em amostras complexas. Além disso, os reagentes derivatizantes podem interagir com componentes indesejáveis da matriz (COLE et al., 2015; GUI et al., 2016). Assim, o uso da LC é preferível, uma vez que, o procedimento de preparo de amostra não envolve tantas etapas.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e validar métodos para determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de água e solo utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS) para posterior aplicação em amostras de diferentes pontos da bacia hidrográfica do rio Soturno, localizado na região central do estado do Rio Grande do Sul.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ÁGUA

A água é considerada um bem de domínio público e um recurso natural limitado, dotado de valor econômico (BRASIL, 1997). O Brasil tem ocupado uma posição privilegiada comparada aos demais países em relação à disponibilidade de recursos hídricos (GOVERNO DO BRASIL, 2010). O território brasileiro contém cerca de 12% de toda a água doce do planeta, sendo esta quantidade espalhada em 12 regiões hidrográficas, como as bacias do São Francisco, Paraná e Amazônica (MMA, 2018). Este recurso é empregado em diversos setores como o abastecimento urbano, rural, industrial, pecuária e irrigação. Segundo informações da Agência Nacional de Águas (ANA), no ano de 2016, no Brasil, o volume de água doce retirado de mananciais ou destinado à rede pública de abastecimento foi de 2.275 m^3 s^{-1} (metros cúbicos por segundo), sendo 55% dessa quantidade destinada ao setor de irrigação (GOVERNO DO BRASIL, 2017).

No entanto, apesar de não haver dados globais precisos que contabilizem o volume retirado dos mananciais ou que é derivado do sistema de abastecimento urbano boa parte acabam tornando-se águas residuais (GOVERNO DO BRASIL, 2017). Mesmo que a agricultura possa poluir pontualmente (descarte direto de agrotóxicos em canais, por exemplo), geralmente, a poluição ocorre de forma indireta, difusa e complexa (ANA, 2017). O uso indiscriminado de agrotóxicos pode afetar diretamente a qualidade da água empregada para diversas funções como o abastecimento, o solo, os alimentos e a vida aquática. Isso porque estes compostos alcançam os recursos hídricos devido a ineficiência da aplicação dos agrotóxicos acarretando na sua dispersão no ambiente. A parcela das perdas (ou da ineficiência) da irrigação que não é evapotranspirada e que fica retida no solo pode carrear sais, sedimentos, matéria orgânica e poluentes até os corpos hídricos superficiais e subterrâneos, contribuindo para sua contaminação (NAKAMURA, 2015).

2.2 SOLO

O solo é uma coleção de corpos naturais, constituídos por partes sólidas, líquidas e gasosas, sendo elas materiais minerais e orgânicos que ocupam a maior parte do manto superficial do planeta. Além disso, contém matéria orgânica viva que podem sofrer modificação por interferentes antrópicos (EMBRAPA, 2007). De acordo com a nova definição, solos são camadas de material mineral e/ou orgânico que ao longo dos anos são submetidos a diversos processos físicos, químicos e/ou biológicos em ou próximo à superfície do planeta. Geralmente, contem em sua composição: líquidos, gases, biota e vegetação (ES, 2017). Além disso, são compostos por incontáveis quantidades de minerais, matéria orgânica, água da zona não saturada e saturada, ar e organismos vivos, que incluem plantas, bactérias, fungos, protozoários, invertebrados e outros animais (CETESB, 2012).

A classificação de um solo é baseada na avaliação de parâmetros físicos, químicos e mineralógicos do perfil que o representam. Aspectos ambientais do local tais como clima, vegetação, material originário, condições hídricas, características externas ao solo são também utilizadas (EMBRAPA, 2007).

No Brasil, quem classifica os tipos de solos é o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (SiBCS). Devido à extensão territorial do país, há uma variedade de solos que é classificada de acordo com a tonalidade, granulação, composição e produção, etc (EMBRAPA, 2013). O Rio Grande do Sul apresenta uma grande variedade de tipos de solo, sendo alguns deles denominados alissolos, argissolos, chernossolos, gleissolos, discriminados com base no índice de drenagem, teor de acidez, profundidade, presença de material orgânico, etc. Essa variedade de solos é consequência da complexidade da formação geológica e da ação climática existente (SPGG, 2017).

Algumas características do solo, como por exemplo, textura, permeabilidade, quantidade de matéria orgânica, podem promover a interação com compostos orgânicos como os agrotóxicos. Além disso, as propriedades fisico-químicas destes compostos orgânicos também podem predizer se há sorção/dessorção no solo. No entanto, a persistência dos agrotóxicos no solo depende não somente dessas propriedades bem como da eficiência dos processos de retenção, transformação e transporte (RIBAS & MATSUMURA, 2009).

2.3 AGROTÓXICOS

Desde a Revolução Verde, na década de 1950, novas tecnologias vêm sendo inseridas no processo tradicional de produção agrícola visando o aumento da produção de *commodities* agrícolas. Durante o processo de produção destaca-se o uso extensivo de agrotóxicos (MMA, 2016). De acordo com a Lei Federal nº 7.802 de 11 de julho de 1989 agrotóxico é definido por:

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

Os agrotóxicos podem ser divididos em:

- Agrícolas, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens e nas florestas plantadas;

- Não-agrícolas, destinados ao uso na proteção de florestas nativas, outros ecossistemas ou de ambientes hídricos. E também destinados ao uso em ambientes urbanos e industriais, domiciliares, públicos ou coletivos, ao tratamento de água e ao uso em campanhas de saúde pública (MMA, 2018).

Quando aplicados, os agrotóxicos podem seguir diferentes caminhos como, se dispersar, degradar ou acumular no meio ambiente (ar, solo e sistemas aquáticos), bem como acumular-se nos seres vivos. O destino de agrotóxicos no ambiente é conduzido por processos como retenção (sorção, absorção), transformação (degradação química e biológica) e transporte (deriva, volatilização, lixiviação e carreamento superficial), e também por interações desses processos (SPADOTTO et al., 2004). A dinâmica desses compostos no meio ambiente depende da forma de uso dos agrotóxicos, por exemplo, pó molhável, concentrado emulsionável, suspensão concentrada, etc. Além disso, as condições e características ambientais (temperatura, radiação solar, volume de chuva, intensidade dos ventos, tipo de vegetação e solo), e propriedades físico-químicas dos agrotóxicos (PINHEIRO et al., 2011; GOMES;

CERDEIRA; SPADOTTO, 2013; PROTAS; MADAIL, 2003). Outro motivo diz respeito à baixa eficácia da aplicação dos agrotóxicos sobre a cultura, uma vez que, apenas parte do que é aplicado atinge o alvo esperado, enquanto a maior fração dispersa-se no meio ambiente.

O comportamento dos agrotóxicos no meio ambiente é bastante complexo. Quando um determinado agrotóxico é utilizado, independente do modo de aplicação, a probabilidade que este composto possui de atingir o solo e as águas (superficiais e subterrâneas) é alta. Além disso, as dispersões por deriva (ocacionada pelos ventos) e por lixiviação e escoamento superficial (ocacionado pelas chuvas) são intensificados por fenômenos naturais (BRASIL, 2018; KÖHNE et al., 2009).

2.4 HISTÓRICO DO USO DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS

Os compostos organoestânicos tiveram origem na década de 1850 quando Edward Frankland sintetizou o di-iodeto de dietilestanho e o tetraetilestanho. No entanto, os organoestânicos não tinham valor comercial, uma vez que, as propriedades desses compostos não eram conhecidas, mantendo estes estudos apenas sob cunho científico (COLE et al., 2015).

A primeira aplicação destes compostos ocorreu no século seguinte, em 1925, através de uma patente onde são descritos como possíveis “agentes anti-traças”, fato até então não constatado (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003). Por volta de 1940 o emprego dos compostos organoestânicos teve um grande destaque, principalmente no que diz respeito à produção industrial de cloreto de polivinila (PVC). Este polímero apresenta instabilidade sob ação do calor ou da luz, sofrendo degradação, descoloramento e enfraquecimento. Dessa forma, as propriedades estabilizantes de alguns compostos organoestânicos que inibem este efeito foram estudadas. Esta descoberta intensificou o emprego de compostos organoestânicos nos Estados Unidos e na Europa (OLIVEIRA & SANTELLI, 2010).

A aplicação de organoestânicos com ação biocida surgiu de um estudo realizado pelo Conselho Internacional de Pesquisas sobre Tintas, no Instituto de Química Orgânica na cidade de Utrecht na Holanda por volta de 1950. Este estudo consistia na potencial ação desses compostos frente a fungos e bactérias, organismos marinhos, vermes parasitas, caramujos aquáticos e insetos. A partir da descoberta de

suas propriedades biocidas, os compostos trialquil e triarilestânicos ganharam enfoque comercial. Além do uso como biocida, os compostos triorganoestânicos, principalmente contendo tributilestanho (TBT), trifenilestanho (TPhT) e triciclo-hexilestanho (TCyHT) eram utilizados como aditivos para a preservação da madeira e como anti-incrustrantes, e em menores casos como desinfetantes e tratamento algicida em materiais de construção (HOCH, 2001).

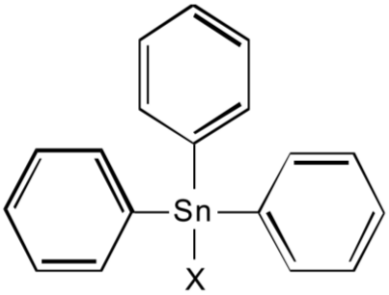
No período de 1955 a 1992 houve uma grande produção dos compostos organoestânicos devido à ampla aplicação, chegando a 50.000 toneladas (HOCH, 2001). Estima-se que os organoestânicos sejam os organometálicos mais empregados no mundo com um consumo registrado na faixa de 40 a 80 mil toneladas por ano (COLE et al., 2015). O aumento significativo do uso destes compostos organoestânicos facilitou a ocorrência destes compostos em diversos ecossistemas causando assim, a contaminação do meio ambiente.

A preocupação com a contaminação por estes compostos está atrelada as suas propriedades teratogênicas. Estas propriedades podem causar disrupções à função reprodutiva de mamíferos, bem como atuar como disruptores endócrino, hepatotoxinas, imunotoxinas e neurotoxinas (COLE et al., 2015). Além disso, a hidrofobicidade dos compostos organoestânicos, ou seja, baixa afinidade pela água, tem sido de fato o principal parâmetro na bioconcentração no ambiente. Diversos estudos mostraram que as microalgas são capazes de adaptarem-se aos organoestânicos acarretando no acúmulo desses compostos quando próximas àquelas que ocorrem em águas naturais (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003).

Diferentes estudos reportaram a presença de TBT em água (BIRJANDI et al., 2008; SEGOVIA-MARTÍNEZ et al., 2010; SANO et al., 2010; NENG et al., 2014; MOSCOSO-PÉREZ et al., 2015) e em sedimento (WU; MESTER; PAWLISZYN, 2001; BOWLES et al., 2004; BERTO et al., 2007; ÜVEGES et al., 2007; XIAO et al., 2008; BRAVO et al., 2012). Este composto tem atraído maior atenção da comunidade científica, uma vez que, apresenta um alto efeito tóxico à vida aquática mesmo que em níveis residuais devido à sua baixa solubilidade em água (HOCH, 2001). O TBT ainda é considerado um dos poluentes mais prejudiciais para os ecossistemas e saúde humana, sendo listado entre os poluentes prioritários de legislações nacionais e das convenções internacionais (NOVENTA et al., 2015).

Ainda, dentre esta classe de organoestânicos, tem os compostos trifenilestânicos. Estes organoestânicos tem como fórmula geral $(C_6H_5)_3Sn$-X, sendo X um ânion ou grupo aniônico, como, por exemplo, cloreto, hidróxido ou acetato (Figura 1). Estes compostos são hidrofóbicos devido à presença de substituintes de hidrocarbonetos e, portanto, sua solubilidade em água é relativamente pequena (RÜDEL, 2003). Em faixa de pH entre 6 e 8 as solubilidades do cloreto de trifenilestanho em água é de aproximadamente 1 mg L^{-1} a 25 °C (INABA; SHIRAISHI; SOMA, 1995). No ambiente marinho, os trifenilestânicos podem ser hidrolisados em hidróxido de trifenilestanho e nesta condição, os complexos de hidroxila neutros representam mais de 93% dos resíduos destes compostos na água do mar (ARNOLD et al., 1997; VELTMAN et al., 2006). Os valores dos coeficientes de partição octanol/água (log K_{ow}) dos trifenilestânicos estão entre 3 e 5, o que sugere que esses compostos sejam potencialmente bioacumuláveis (TSUDA et al., 1990; WHO, 1999; YI et al., 2012).

Figura 1. Representação da estrutura geral do trifenilestanho ($(C_6H_5)_3Sn$-X), onde X é um ânion ou grupamento aniônico. Fonte: WHO, 1999.



O trifenilestanho apresenta também um alto poder biocida (HOCH, 2001). Por esta razão, o acetato de trifenilestanho é usado como fungicida e algicida em adição as suas propriedades moluscicidas (WARE, 1993).

Devido à ampla aplicação dos compostos trifenilestânicos no meio ambiente, estes podem ser detectados nos diversos compartimentos ambientais, como solo, ar e águas (superficiais e subterrâneas). O trifenilestanho também pode atingir ambientes aquáticos marinhos através da lixiviação de produtos anti-incrustantes aplicados no casco de navios. Esta substância pode ser biomagnificado de fitoplâncton e zooplâncton para peixes. Apesar de uma possível fotólise dos trifenilestânicos em água e sedimentos, apresentam resistência à biotransformação

(YI et al., 2012). Os compostos trifenilestânicos utilizados na agricultura podem atingir recursos hídricos superficiais através da erosão dos solos, escoamento superficial e lixiviação (YI et al., 2012).

2.5 USO DO COMPOSTO TRIFENILESTANHO NA AGRICULTURA

Alguns compostos organoestânicos como, por exemplo, os triaquilestânicos, não têm aplicabilidade na agricultura. Isso se dá, principalmente, devido à alta fitotoxidade, ou seja, prejudicam o desenvolvimento da planta. Além disso, podem apresentar efeitos tóxicos em mamíferos. Por outro lado, os compostos trifenilestânicos, apresentam baixa fitotoxidade e podem ser utilizados como fungicidas e moluscicidas. Desde os anos 1960, diferentes formulações contendo estes compostos foram empregadas na agricultura. A companhia Hoechst produziu a formulação Brestan®, baseado em acetato de trifenilestanho. A empresa Philips Dufan introduziu no mercado o Du-ter® baseado em hidróxido de trifenilestanho, que provou ser efetivo no controle de fungos fitopatogênicos (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003).

Os organoestânicos eram utilizados como fungicidas na prevenção de doenças em diferentes tipos de plantas como amendoim, nozes, café e cacau. Os triorganoestânicos também podiam ser empregados como inseticidas contra moscas domésticas, baratas, larvas de mosquitos e etc (THAYER, 1984). Os compostos trifenilestanhos foram amplamente utilizados na agricultura como fungicidas na produção de batatas, beterraba açucareira, lúpulo e arroz e contra doenças fúngicas em algas e moluscos (YI et al, 2012). Tanto o hidróxido de trifenilestanho como o acetato de trifenilestanho eram usados no controle de fungos causadores de mancha foliar em aipo, cenouras, cebolas, etc. (THAYER, 1984).

No Brasil, a formulação comercial Mertin® 400, que tem o hidróxido de trifenilestanho como princípio ativo (40% m/v), é registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob nº: 03788200. Em sua bula o produto é classificado como um fungicida e as instruções de uso indicam a sua aplicação para culturas de algodão e feijão no tratamento de mancha de alternária, antracnose, mancha angular e ferrugem. O intervalo de segurança para colheita após aplicação, por exemplo, é de 30 dias para algodão e 21 dias para feijão conforme descrição de bula. Esta formulação é classificada como muito perigosa ao meio

ambiente (Classe II), ou seja, altamente persistente, bioconcentrável e tóxica (SYNGENTA, 2017).

Conforme reportado na bula do produto, o princípio ativo atua sobre o sistema nervoso central do ser humano. Embora o mecanismo exato não seja totalmente conhecido, o produto causa a inibição da fosforilização oxidativa e aumenta a permeabilidade da membrana mitocondrial para os ions de K^+, Na^+, Cl^-, maleato, citrato e fumarato. A intoxicação aguda por trifenilestanho pode causar letargia, perda da mobilidade, diarréia moderada e anorexia, fraqueza generalizada, depressão e ainda paralisia dos membros. Ainda, pode ser fatal se ingerido ou inalado, provocar lesões oculares graves, irritação à pele e às vias respiratórias. Além de ser um composto potencialmente carcinogênico (SYNGENTA, 2017).

As concentrações atuais de trifenilestanho no meio ambiente representariam um risco mínimo para os seres humanos. Entretanto há incertezas significativas na avaliação de riscos para humanos devido a limitações em ambas as estimativas de exposição e previsão de limiares para efeitos desta avaliação (YI et al., 2012).

No sul do Brasil, uma grande praga para a cultura de arroz pré-germinado é o caramujo *P. canaliculata* (Figura 2), juntamente com outras espécies nocivas de gastrópodes, como *Physella acuta*, *Physa marmorata*, *Biomphalaria tenagophila*, *Biomphalaria peregrine*. A água das zonas húmidas, usada para irrigação, e as épocas de grande precipitação permitem que esses caramujos invadam as plantações de arroz e se alimentam de sementes de arroz que estão brotando, resultando em danos extensivos nas culturas (DE BRITO & JOSHI, 2016). Um dos moluscicidas conhecidos para o controle deste tipo de praga é o trifenilestanho (WARE, 1993).

Figura 2. Caramujo *Pomacea canaliculata*.

Fonte: http://applesnail.net/content/species/pomacea_canaliculata.htm

Como os compostos organoestânicos são conhecidos como disruptores endócrinos de organismos aquáticos a presença de resíduos de trifenilestanho, por exemplo, tem sido associada à ocorrência de imposex em organismos aquáticos desde meados da década de 1990. Este efeito se caracteriza pelo desenvolvimento de canal deferente e pênis em fêmeas de caramujos (YI et al., 2012).

Por este motivo, em 2017, a Justiça do estado do Rio Grande do Sul, determinou a proibição da venda do produto comercial Mertin® 400 com multa de 1 milhão de de reais ao mês em casos comprovados de uso do agrotóxico em lavouras de arroz irrigado. O risco é de que, devido à alta persistência do trifenilestanho no meio ambiente, o produto possa contaminar a bacia hidrográfica do Rio Jacuí, uma das mais importantes do estado (BRASIL, 2017).

2.5.1 Bacia hidrográfica do Rio Jacuí

A bacia hidrográfica do rio Jacuí tem área de 71.600 km^2. O rio Jacuí tem a sua nascente no Planalto Médio, nos municípios de Passo Fundo e Marau. Ao longo de toda sua extensão destaca-se o uso intensivo do solo para agricultura e pecuária. Ainda, é utilizado para geração de energia nos municípios de Ernestina, Passo Real, Salto do Jacuí, Itaúba e Dona Francisca onde estão instaladas usinas hidroelétricas. Na área de drenagem da bacia do Jacuí encontram-se aglomerações urbanas de porte significativo, destacando-se as cidades de Santa Maria (face leste), Cachoeira do Sul, Rio Pardo, São Jerônimo, Triunfo, Caxias do Sul (face norte drena para o rio das Antas), Bento Gonçalves (drena para o rio das Antas), Lajeado (rio Taquari), Estrela (rio Taquari) e Taquari (rio Taquari). Na área norte do rio Jacuí predominam as culturas intensivas de soja e trigo, através do sistema de cultura rotativa. Na área sul, além destas culturas, o cultivo do arroz e a pecuária são atividades que se destacam (FEPAM, 2018).

Dentre os afluentes da bacia hidrográfica do Alto Jacuí está o rio Soturno. O Rio Soturno é afluente da margem direita do Rio Jacuí, localizado na região central do estado do Rio Grande do Sul. A Sub-Bacia Hidrográfica do Rio Soturno drena parte dos municípios de Dona Francisca, São João do Polêsine, Faxinal do Soturno, Ivorá, Silveira Martins, Restinga Seca, Nova Palma e Júlio de Castilhos. Na região sudeste da cidade de Dona Francisca, o rio Soturno desemboca na margem direita do rio Jacuí

onde é conduzido até a Bacia Hidrográfica do Guaíba. Ao longo da bacia do rio Soturno há extensas áreas de cultivo do arroz irrigado nesta região que se beneficiam das águas dessa bacia. Problemas com estiagem têm sido crescentes nesta Sub-Bacia, o que acaba afetando a quantidade e qualidade das águas superficiais e subterrâneas (FILHO, 2007; ALBERTI, 2015). A demanda de água para irrigação de lavouras de arroz, no período de novembro a abril, é de cerca de 140.000 m^3 s^{-1} para suprir uma área plantada de cerca de 78 mil hectares. Além disso, a exploração negligente do solo agrícola associada à aplicação indiscriminada de agrotóxicos leva à degradação da qualidade ambiental nesta bacia. (FEPAM, 2018).

2.6 RESÍDUOS DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Nos últimos anos houve um aumento nas preocupações com os recursos hídricos naturais, principalmente aqueles potencialmente utilizados pelas populações para o seu abastecimento (NETO; SARCINELLI, 2009). Sendo assim é de extrema importância a existência de instrumentos de gestão ambiental que induzam à modificação do comportamento dos diversos usuários de recursos hídricos de forma a racionalizar o consumo e controlar possíveis contaminações (DEMAJOROVIC; CARUSO; JACOBI, 2015).

No Brasil a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH) criou o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos (SINGREH) através da Lei nº 9.433/97 também conhecida como Lei das Águas. Dentre outras, o documento tem por finalidade assegurar às futuras gerações a disponibilidade de água, em padrões de qualidade adequados aos respectivos usos e garantir a proteção dos recursos hídricos (BRASIL, 1997).

No ano de 2005 foi criada a Resolução 357 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), que classifica corpos d’água e também dispõe de diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Este enquadramento tem por finalidade garantir às águas os parâmetros de qualidade compatíveis com os usos de maior exigência a que foram destinadas. Além de diminuir custos de combate à poluição das águas, por meio de ações permanentes. Dentre os diversos parâmetros que são

utilizados no enquadramento dos corpos hídricos, alguns agrotóxicos também possuem limites máximos de concentração estabelecidos (BRASIL, 2005).

Outra ferramenta é a Portaria de Consolidação n° 5, de 28 de setembro de 2017, Anexo XX. Esta portaria inclui a Portaria n° 2.914 de dezembro de 2011, publicada pelo Ministério da Saúde, e ainda dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade. No anexo 7 do anexo XX são exigidas análises de 27 parâmetros referentes a resíduos de agrotóxicos por parte dos responsáveis pelo abastecimento público de água (BRASIL, 2017).

No Estado do Rio Grande do Sul, a Secretaria Estadual da Saúde (SES) elaborou e publicou em 2014 a Portaria SES RS 320. Esta portaria estadual acrescenta parâmetros adicionais de agrotóxicos, ou seja, 46 compostos à exigência de análises dos responsáveis pelo abastecimento público no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no RS. Entretanto, é importante salientar que nenhuma das ferramentas de garantia da potabilidade da água destinada ao consumo humano leva em consideração a concentração de resíduos de trifenilestanho (SES, 2014).

Por outro lado, a União Europeia de acordo com a Diretiva 98/83 CE estabeleceu o valor de 0,1 µg L^{-1} como concentração máxima permitida para qualquer agrotóxico individualmente e de 0,5 µg L^{-1} para o total de agrotóxicos em águas destinadas para o consumo humano (UNIÃO EUROPEIA, 1998). O monitoramento das concentrações de agrotóxicos nas águas é um passo necessário para a avaliação dos riscos destes poluentes no meio ambiente, e atualmente, é uma exigência dos mercados nacional e internacional da legislação ambiental.

No que diz respeito à concentração máxima de resíduos de trifenilestanho em solo trabalhos na literatura tem sido publicados. No entanto, não há diretrizes ditando a quantidade máxima deste poluente em solo. As ocorrências de resíduos de agrotóxicos no solo indicam a aplicação desses compostos em dada cultura. Assim, o monitoramento de resíduos de TPhT em solo é necessário a fim de rastrear se houve aplicação desse agrotóxico. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos capazes de determinar esses resíduos de TPhT em matrizes como água e solo facilitarão a rastreabilidade de aplicação ilegal no RS desse composto.

2.7 MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO

Diversos métodos foram descritos na literatura ao longo dos anos onde determinaram resíduos de compostos organoestânicos, como o trifenilestanho em matrizes complexas.

TOLOSA et al. (1996) desenvolveram um método para determinação de butilestanhos (MBT, DBT, TBT) e fenilestanhos (MPhT, DPhT, TPhT) em amostras de água do mar. Previamente, ajustou-se o pH das amostras para 5 utilizando um tampão acetato. Em seguida empregou-se uma LLE com diclorometano simultaneamente a etapa de derivatização com $NaBEt_4$ sob agitação vigorosa. O extrato foi então colocado no rotaevaporador com hexano, onde posteriormente o mesmo foi seco com sulfato de sódio anidro. Por fim, aplicou-se um fluxo suave de nitrogênio para redução do volume e concentração do extrato. Para a análise dos compostos empregou-se a GC-MS. Os LODs do método variaram entre 0,5 e 1,4 ng L^{-1} com recuperações entre 79 e 105% e RSDs <10% para todos os compostos.

MIZUISHI et al. (1998) determinaram TBT, TPhT em amostras de água do mar empregando a GC-MS. Utilizou-se a técnica LLE no preparo de amostra, onde uma mistura de metanol e acetato de etila em meio ácido foi utilizada para a extração dos compostos. A fase orgânica foi então retirada e passou por uma coluna de florisil e sulfato de sódio anidro para a concentração dos compostos. Posteriormente eluiu-se com uma mistura de hexano/acetato de etila (75:25, v/v) acidificada 1% (v/v) com ácido acético e foi injetado no sistema cromatográfico. Os LODs do método foram 0,10 ng L^{-1} para TBT e 0,13 ng L^{-1} para TPhT. As recuperações do método foram de 98 e 93% para TBT e TPhT, respectivamente, com RSD de 4% e 7% para TBT e TPhT, respectivamente.

AGUERRE e colaboradores (2000) empregaram a SPME para especiação de compostos organoestânicos em água, sendo eles o TBT e seus metabólitos DBT e MBT como também o TPhT, o DPhT e o MPhT. No preparo de amostra acidificou-se as mesmas a pH 2 com ácido nítrico e utilizou-se o $NaBEt_4$ para derivatização dos compostos. Após, extraiu-se os compostos empregando SPME no modo direto utilizando uma fibra de sílica. Posteriormente a fibra foi colocada diretamente no sistema de cromatografia gasosa com detecção por fotometria em chama (GC-FPD), utilizando o gás hélio como gás de arraste. O método apresentou LODs de 0,006-

0,031 ng L^{-1} para os butilestanhos e 0,2-0,6 ng L^{-1} para os fenilestanhos com RSD <20%.

NDUNGU et al. (2000) combinaram a extração líquido-líquido com extração líquido-líquido com membrana microporosa (MMLLE) e GC-MS para determinação de compostos organoestânicos (MBT, DBT, TBT, TeBT, DPhT, TeET eTPhT) em amostras de água. A amostra passou pela etapa de derivatização com $NaBEt_4$ a pH 5 sob agitação constante por 5 minutos. A fase orgânica da mistura foi coletada e introduzida no sistema para análise dos compostos. Os LODs do método variaram entre 13 a 265 ng L^{-1} para os analitos estudados.

GONZÁLEZ-TOLEDO et al. (2002) empregaram a SPE para extração de TBT e TPhT em água e posterior análise por LC-MS. Previamente as amostras foram acidificadas a pH 2 com HCl antes da análise. Utilizou-se cartuchos C18 condicionados com metanol seguidos de água a pH 2. Percolou-se 250 mL de amostra e a eluição foi realizada utilizando-se 2 mL de fase móvel empregada na análise. A separação dos compostos foi realizada no modo isocrático empregando uma coluna C_{18} e uma fase móvel contendo 0.02% ácido trifluoroacético em acetonitrila-água (50:50, v/v). As recuperações do método variaram entre 80 e 110% com RSD <6%. Os limites de detecção alcançados foram 5 µg L^{-1} para TPhTe 10 µg L^{-1} para TBT.

IKONOMOU et al. (2002) desenvolveram um método para determinação de nove compostos organoestânicos empregando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (GC-HRMS) em água, sedimento e tecido de mexilhão. Os compostos analisados foram o MBT, DBT, TBT, TeBT, MPhT, DPhT, TPhT, diciclo-hexilestanho (DCyHT) e (TCyHT) O preparo das amostras de água consistiu no ajuste do pH a 4,5 seguida de extração dos compostos com hexano em conjunto à derivatização com $NaBEt_4$. Para as amostras de sedimento e tecido adicionou-se hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) para quebra de lipídios. Em seguida ajustou o pH a 4,5 e extraiu-se os compostos com uma mistura de dietileter e hexano em conjunto à derivatização com $NaBT_4$. Os extratos foram evaporados para concentrar os mesmos e injetou-se no sistema cromatográfico. Os limites de detecção do método foram entre 7 e 29 ng L^{-1} para água e 0,35 a 1,45 µg L^{-1} para tecido e sedimento.

WANG et al. (2006) empregaram a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UV) para determinação de TBT, TPhT,

tetrafenilestanho (TePhT), trietilestanho (TET) e tetraetilestanho (TeET) em amostras de farinha. O preparo de amostra foi realizado pela extração assistida por micro-ondas com uma mistura de hexano-ácido acético (80/20, v/v). A separação dos organoestânicos foi realizada no modo isocrático utilizando uma coluna com fase reversa cianopropil e fase móvel de hexano-acetonitrila-trihidrofurano (97:1:2, v/v). Assim, o método obteve recuperações na faixa de 88 a 101% com RSD entre 3 e 8%. Os LODs obtidos foram 0,95; 0,46; 0,97; 0,75 e 0,96 mg L^{-1} para TBT, TPhT, TePhT, TET e TrET, respectivamente.

BRAVO et al. (2005) determinaram MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT, MOT e DOT em amostras de água e sedimento. As amostras de sedimento foram extraídas com ácido acético glacial sob agitação constante durante 12 horas. Empregou-se a HS-SPME e a GC-PFPD para a determinação dos analitos. Os LODs obtidos variaram entre 0,003 e 0,73 ng L^{-1} com RSDs ≤ 20%.

HEROULT et al. (2008) desenvolveram um método para determinar resíduos de butilestanhos (MBT, DBT, TBT), fenilestanhos (MPhT, DPhT, TPhT) e octilestanhos (MOM, DOT, TOT) em amostras de solo empregando a cromatografia gasosa com detecção fotométrica de chama pulsada (GC-PFPD). Uma extração sólido-líquido com ácido acético foi aplicada à amostra durante 15 horas com agitação mecânica no escuro. Por fim, o sobrenadante foi centrifugado a 4000 rpm durante 15 min. Os LODs e limites de quantificação (LOQ) do método variaram entre 5 e 7 µg kg^{-1} e 7 e 12 µg kg^{-1}, respectivamente. As recuperações para os compostos avaliados variaram entre 95-109% com RSDs <16%.

BIRJANDI et al. (2008) especiaram compostos butilestânicos (MBT, DBT, TBT), e fenilestânicos (MPhT, DPhT, TPhT) em amostras de água. A DLLME foi utilizada no preparo da amostra para aumentar o fator de concentração do método. Ajustou-se previamente o pH das amostras para 5 com 500 µL do tampão ácido acético-acetato de sódio (1 mol L^{-1}). Uma derivatização com $NaBEt_4$ foi necessária para tornar os compostos voláteis e possíveis de serem analisados por GC. O solvente utilizado foi uma mistura de etanol/tetracloreto de carbono como solvente dispersor e extrator, respectivamente. A determinação dos organoestânicos foi realizada por GC-FPD. O alto fator de concentração proporcionado pela técnica DLLME explica os baixos valores de LODs, os quais variaram entre 0,2 e 1 ng L^{-1}. Os valores de recuperação obtidos estiveram na faixa de 82 a 105% com RSD entre 2 e 6%.

ZULIANI et al. (2008) determinaram MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT, MOT, DOT, TOT em amostras de lodo de esgoto. O preparo de amostras consistiu em uma extração utilizando ácido acético sob agitação mecânica. O sobrenadante foi centrifugado e então levado à etapa de derivatização. Utilizou-se $NaBEt_4$ como agente derivatizante simultaneamente à extração dos compostos com iso-octano em pH 4,8. A mistura foi agitada e parte do extrato foi introduzido no sistema cromatográfico. Os compostos foram analisados por GC-PFPD. Os LODs e os LOQs do método variaram entre 5,1 e 16,3 µg kg^{-1} e 11,4 e 37,1 µg kg^{-1}, respectivamente para todos os compostos avaliados. As recuperações variaram entre 84 e 115% com RSD ≤20%.

EVANS et al. (2009) determinaram MMT, DMT, MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT e triciclo-hexilestanho (TCyHT) em amostras de água. O preparo da amostra consistiu em uma extração líquido-líquido com hexano a pH 5 em conjunto com o derivatizante $NaBEt_4$. O extrato após remoção da fase aquosa foi seco com sulfato de sódio (Na_2SO_4). Um sistema GC-PFPD foi empregado para a determinação dos compostos em estudo. O método proposto obteve LODs na faixa de 0,19 a 0,30 ng L^{-1} com recuperações entre 80 e 124% com RSD <6%.

ZULIANI et al. (2010) determinaram MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT, MOT, DOT, TOT em amostras de lodo de esgoto. A extração dos compostos foi empregando UAE utilizando ácido acético glacial como extrator durante 30 min. A agitação manual obteve valores de LOD, recuperação e RSD semelhantes à UAE porém o tempo de extração foi de 16 horas. Para a quantificação dos compostos utilizou-se um GC-MS com gás hélio como gás de arraste. Os LODs do método variaram entre 7 e 43 µg kg^{-1} para todos os compostos avaliados com recuperações entre 92 e 100% com RSDs <7%.

SANO et al. (2010) avaliaram a aplicação da cromatografia à líquido de interação hidrofílica (HILIC) acoplada à espectrometria de massas para determinação de TBT e TPhT em amostras de água do mar. A separação dos compostos foi realizada no modo isocrático empregando uma coluna Atlantis HILIC sílica e uma fase móvel de acetonitrila-água 0,1% ácido fórmico (86:14, v/v). Para a extração dos compostos empregou-se a SPE com cartuchos WAX, de troca aniônica fraca. A eluição dos triorganoestânicos foi realizada com uma mistura de diclorometano e acetonitrila (1:1, v/v). Posteriormente evaporou-se com nitrogênio (N_2) e reconstituiu-

se com acetonitrila-água (9:1, v/v). Os LODs alcançados foram 5 µg L^{-1} para ambos os compostos com RSD <6%.

SEGOVIA-MARTÍNEZ et al. (2010) empregaram a SPME e GC-MS para determinação de TET, TBT, DPhT, TPhT em amostras de água. A extração com SPME foi realizada no modo headspace onde a amostra foi adicionada no sistema junto a um tampão ácido acético/acetato de sódio para ajuste do pH a 5 e ao agente derivatizante $NaBEt_4$. Após o período de extração a fibra foi introduzida no sistema cromatográfico. Os LODs obtidos com o método foram 0,025 ng L^{-1} para TBT e DPhT, 0,5 ng L^{-1} para TPhT e 1 ng L^{-1} para TET com RSDs <20% para todos os compostos estudados.

CAMPILLO et al. (2012) empregaram a SPME para especiação de compostos organoestânicos em amostras de mel e vinho. Os compostos analisados foram o MBT, DBT, TBT, monofenilestanho (MPhT), difenilestanho (DPhT), trifenilestanho (TPhT) e o febutanestanho (FBT) utilizando a GC-MS e a cromatografia a gás com detecção por emissão atômica (GC-AED). Os LODs dos compostos utilizando a GC-MS estiveram na faixa de 0,3 a 4,3 ng kg^{-1} para mel e de 0,1 a 2,0 ng kg^{-1} para vinho. Já os LDs utilizando a GC-AED estiveram na faixa de 2,0 a 22 ng kg^{-1} para mel e de 0,5 a 11,1 ng kg^{-1} para vinho. O desvio padrão relativo (RSD) para ambas as técnicas foi menor que 12%.

BRAVO et al. (2012) determinaram mono-, di- e trimetilestanho (MMT, DMT, TMT), além do MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT e TPhT em amostras de água do mar e sedimento. O preparo das amostras de sedimento consistiu em uma extração com ácido acético, seguida de derivatização em meio ácido com $NaBEt_4$. Uma fibra de SPME foi utilizada para extração dos compostos no modo *headspace* para posterior inserção no sistema cromatográfico. Já para as amostras de água ajustou-se o pH a 2 e então introduziu-se no meio reacional para derivatização e extração dos compostos com uma fibra de carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS). O sistema empregado para análise dos analitos em estudo foi um GC-PFPD. Os LODs e LOQs obtidos para todos os compostos variaram entre 0,02 e 0,13 ng L^{-1} e 0,07 e 0,43 ng L^{-1}, respectivamente.

MALIK et al. (2013) determinaram DBT, TBT, DPhT, TPhT em água empregando para a determinação a eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas com tempo de vôo (CE-TOF-MS). O preparo de amostra foi realizado

empregando SPE com adsorvente do tipo strata C18. As amostras foram acidificadas a pH 2, filtradas e percoladas posteriormente. A eluição dos compostos foi realizada com tampão de acetato de amônio e ácido acético (50 mmol L^{-1} e 1 mmol L^{-1}) em uma mistura de acetonitrila:metanol (80:20). Os LODs do método foram 3,2; 1,8; 0,94 e 0,46 µg L^{-1} para DBT, TBT, DPhT e TPhT, respetivamente. As recuperações apresentaram valores na faixa de 44 a 77% com RDS <16% para todos os compostos.

VALENZUELA et al. (2014) desenvolveram um método empregando a HS-SPME e a GC-PFPD para determinação de compostos organoestânicos em amostras de urina humana. Os analitos avaliados neste estudo foram os metilestanhos (MMT, DMT, TMT), os butilestanhos (MBT, DBT, TBT) os fenilestanhos (MPhT, DPhT, TPhT) e os octilestanhos (MOT, DOT). Para o preparo da amostra, uma alíquota de urina foi introduzida diretamente no frasco de derivatização. Em seguida, adicinou-se um tampão ácido acético/acetato para manter o pH em 4,8 e também $NaBEt_4$ como agente derivatizante. Após agitação, a fibra foi exposta à amostra e posteriormente inserida no sistema cromatográfico para a determinação dos compostos. Os LODs do método variaram entre 0,5 e 4,9 ng L^{-1} com recuperações entre 87 e 104% e RSDs <7% para todos os compostos.

COSCOLLÀ et al. (2014) desenvolveram um método para determinação de MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT e TPhT em amostras de água. Um tampão ácido acético/acetato de sódio com pH 5,3 foi previamente adicionado às amostras. O método foi baseado na derivatização com $NaBEt_4$ e microextração simultânea dos compostos derivados (HS-SPME) seguidos de determinação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em série (GC-MS/MS). Os limites de quantificação obtidos pelo método desenvolvido foram 1 µg L^{-1} para TBT, MPhT e TPhT, e 2 µg L^{-1} para MBT, DBT e DPhT. As recuperações estiveram na faixa de 70 a 130% e RSD entre 1-25%.

LEVINE et al. (2015) desenvolveram e validaram um método para determinação de MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT e TPhT em soro humano. Este método não realizou um preparo de amostra para a matriz em estudo. Para a determinação dos analitos empregou-se a cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (UHPLC-ICP-MS). A fase móvel utilizada foi 65% MeOH, 29% H_2O, 5,5% HAc, 0,5% trietilamina (Et_3N) e 0,075% tropolona. Os LODs do método foram 0,350 µg L^{-1} para MPhT, 0,500 µg L^{-1}

para MBT, 0,300 µg L^{-1} para TPhT e 0,250 µg L^{-1} para DPhT, DBT e TBT com RSDs <9% para todos os compostos.

GUI et al. (2016) determinaram TPhT, azocicloestanho (ACT) e FBT em amostras de solo e sedimento empregando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de masssas com plasma indutivamente acoplado (HPLC-ICP-MS). As amostras foram extraídas com diclorometano seguidas de uma evaporação do sobrenadante com fluxo de N_2 e redissolução em metanol. A fase móvel utilizada no sistema foi uma mistura de acetonitrila e metanol (1:1). Os limites de detecção do método foram 0,13 µg L^{-1} para os compostos em estudo. As recuperações obtidas estiveram na faixa de 74 a 120%.

As diversas metodologias desenvolvidas ao longo do tempo para determinação de resíduos de trifenilestanho mostram um crescimento em termos científicos. Isto se dá pela busca por alternativas à cromatografia gasosa que sejam capazes de suprir esta demanda quando se deseja evitar a derivatização dos compostos. Com base nos trabalhos publicados na literatura, ainda é possível constatar a tendência por técnicas que aumentem o fator de concentração do método para se obter melhores LODs e LOQs consequentemente. Devido ao aparecimento de resíduos desses compostos em água e solo é de grande importância o monitoramento desses compostos nestas matrizes. Para isto, métodos confiáveis capazes de determinar esses compostos que empreguem a cromatografia líquida necessitam ser desenvolvidos a fim de suprir essa demanda.

2.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO

Uma avaliação denominada de validação deve ser realizada para comprovar a confiabilidade, rastreabilidade, comparabilidade e capacidade de gerar informações confiáveis e interpretáveis de um método analítico sobre uma determinada amostra (ZANELLA et al., 2015). O objetivo da validação é demostrar que determinado procedimento analítico atende os parâmetros de desempenho e a critérios de aceitação recomendados por normas que regulamentam a validação de métodos analíticos (BRASIL, 2011). A norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017 define que os laboratórios devem confirmar que têm condições de operar adequadamente os métodos normalizados antes da implantação dos ensaios (ABNT, 2017).

No Brasil, existem guias que auxiliam no processo de validação de um método analítico, como por exemplo, o guia publicado em 2003 pela ANVISA (“Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”). Além disso, em 2016 o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), publicou o documento “orientação sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008, revisão 05). Alguns órgãos internacionais também dispõem de guias como, por exemplo, o Guia de Controle de Qualidade Analítica (SANTE, 2017) cujo o objetivo foi publicar um guia direcionado para a determinação de agrotóxicos em alimentos e servir de apoio a implementação do sistema ISO/IEC 17025:2017.

Na validação de métodos cromatográficos para análise de resíduos de agrotóxicos devem ser avaliados os parâmetros: seletividade, faixa de trabalho, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (INMETRO, 2016; SANTE, 2017).

2.8.1 Seletividade (ou especificidade)

Seletividade é a habilidade que o método possui para determinar, de forma inequívoca, o analito de interesse na presença de componentes de matriz, outros analitos ou potenciais interferentes. A seletividade assegura que o pico cromatográfico obtido seja unicamente do analito de interesse (INMETRO, 2016; SANTE, 2017).

2.8.2 Linearidade, curva analítica e faixa de trabalho

A linearidade é definida como o intervalo entre os níveis superior e inferior da concentração entre as quais a resposta do detector é proporcional à quantidade do analito e no qual é possível determinar a concentração com precisão e exatidão (ROZET et al., 2007). A faixa de trabalho linear deve incluir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado e a concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho (INMETRO, 2016; ZANELLA et al., 2015).

2.8.3 Precisão (Precisão Intermediária)

Neste parâmetro, avalia-se o grau de concordância entre os resultados analíticos independentes obtidos através da aplicação do método experimental, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão é usualmente expressa pela estimativa de desvio padrão (s) ou estimativa do desvio padrão relativo (RSD). A precisão pode ser expressa em termos de repetibilidade, reprodutibilidade (precisão interlaboratorial) e precisão intermediária (SANTE, 2017; INMETRO, 2016).

2.8.4 Exatidão

A exatidão de um método analítico é a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. As principais formas normalmente utilizadas para determinar a exatidão são a determinação da concentração do analito em um material de referência específico e comparado o resultado com o valor certificado; a porcentagem de recuperação do analito extraído de uma matriz branco fortificada com concentração analítica conhecida; a comparação entre os resultados do método em fase de validação com um método de referência; e, a determinação da concentração analítica na amostra por meio da técnica de adição de padrão (SANTE, 2017; INMETRO, 2016; ZANELLA et al., 2015).

2.8.5 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) é a menor concentração de analito em uma amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. O limite de quantificação (LOQ) representa a menor concentração da substância em análise que pode ser medida com precisão e exatidãstes to adequadas, utilizando um determinado procedimento experimental. Tanto o LOD, quanto o LOQ são, geralmente, expressos em unidades de concentração. Nas técnicas cromatográficas, o LOD é considerado a concentração de analito ou de massa que produz um pico com uma altura, pelo menos, 3 vezes maior do que o nível de ruído da linha de base, também expressa

como sinal/ruído (S/N). Para estimar o LOQ é escolhida a concentração que produz uma relação sinal-ruído superior a 10 (S/R = 10) (INMETRO, 2016; ZANELLA et al., 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (DQ/UFSM). O desenvolvimento experimental deste trabalho consistiu na otimização e validação de métodos para a extração e determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de água e solo.

O preparo de amostras de água empregou-se a técnica de SPE e o método QuEChERS para as amostras de solo, buscando as melhores condições para extração do analito em estudo. A determinação do TPhT foi realizada por LC-MS/MS e foram avaliados os seguintes parâmetros analíticos: seletividade, linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão, limite de detecção e quantificação, bem como, o efeito matriz. Posteriormente, o método foi aplicado em amostras de diferentes pontos da bacia hidrográfica do rio Soturno, localizado na região central do estado do Rio Grande do Sul.

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho foram:

- ✓ Sistema de purificação de água Milli-Q Direct UV3® (Millipore, EUA);
- ✓ Agitador Vortex - Biomixer Modelo QL-901 (Microtécnica, Brasil);
- ✓ Balança analítica modelo APX-200 (Denver Instruments Ltda, Brasil);
- ✓ Micropepitadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha);
- ✓ PHmetro modelo pH 500 serie Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, EUA);
- ✓ Sistema LC-MS/MS: Cromatógrafo a Líquido Varian 320-MS, equipado com:
  - Analisador de massas do tipo triplo quadrupolo (TQ), utilizando o modo de ionização por eletronebulização, com bomba binária e controlador de temperatura da (Varian, EUA);
  - Amostrador automático ProStar 410, bomba quaternária 212-LC, forno para coluna e sistema de desgaseificação (Varian, EUA);
  - Coluna analítica Pursuit XRS C_{18} ultra (100 x 2,0 mm d.i) e 2,8 µm de tamanho de partícula (Wexford, Irlanda);

- Sistema de aquisição de dados através do *Software* MS *Workstation Version* 6.9.2 (Varian, EUA);
- Sistema gerador de nitrogênio LC/MS 12/2 (Domnick Hunter, Inglaterra)

3.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS

- ✓ Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct UV3® (resistividade de 18,2 MΩ cm);
- ✓ Metanol grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Acetonitrila grau HPLC (Sigma-Aldrich, EUA)
- ✓ Ácido acético glacial (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Ácido fórmico 98% (Sigma-Aldrich, EUA);
- ✓ Ácido fosfórico P.A. 85% (Merck, Brasil);
- ✓ Sulfato de magnésio anidro (Scharlau, Espanha);
- ✓ Acetato de sódio anidro (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Hexano grau HPLC (Honeywell, EUA);
- ✓ Acetona grau HPLC (Tedia, Brasil);
- ✓ Hidróxido de sódio p.a. (Merck, Alemanha);
- ✓ Cloreto de Sódio p.a. (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Sorvente Bondesil PSA com d.p. de 40 µm (Agilent Technologies, EUA);
- ✓ Sorvente Bondesil C18 com d.p. de 40 µm (Agilent Technologies, EUA);
- ✓ Formiato de amônio 99% (Sigma-Aldrich, EUA);
- ✓ Extran® neutro e alcalino (Merck, Brasil);
- ✓ Padrão sólido de acetato de trifenilestanho (Dr. Ehrenstorfer, Alemanha);
- ✓ Cartucho SPE Strata C18-E (500 mg/3mL) (Phenomenex, EUA);
- ✓ Tubos de polipropileno, com tampas de rosca com capacidade de 50 e 15 mL (Sarstedt, Alemanha);
- ✓ Microtubo, tipo eppendorff, capacidade 2 mL (Axygen Scientific, EUA);
- ✓ Frascos de vidro (*vial*), capacidade de 2 mL (Agilent Technologies, EUA);
- ✓ Seringas de volume de 50, 100 e 1000 µL (Hamilton, Suíça);
- ✓ Membrana de filtração com 0,45 um de porosidade (Agilent Technologies, EUA);
- ✓ Bomba a vácuo modelo TE-058 (Tecnal, Brasil);
- ✓ Manifold Vac Elut 20 (Agilent, EUA);

- ✓ Centrífuga refrigerada, modelo NT-825 (Novatecnica, Brasil);
- ✓ Filtros de seringa politetrafluoretileno (PTFE) hidrofílico de 0,22 µm (Nova Analítica, Brasil);
- ✓ Vidraria comum de laboratório analítico.

3.3 ESCOLHA DO PADRÃO DE CONTROLE E DO PADRÃO INTERNO

O uso de padrão de controle (PC) e de padrão interno (PI) tem por finalidade assegurar a execução de forma correta ao longo do procedimento de extração e também da análise no sistema cromatográfico, respectivamente. Bem como, melhorar a robustez de métodos e verificar possíveis fontes de erros capazes de impactar os resultados da análise. Estes padrões são adicionados em diferentes etapas do procedimento analítico, anterior a extração ou no extrato final anterior a injeção (SANTE, 2017).

Neste trabalho, utilizou-se como PC o composto atrazina deuterada (atrazina d-5) na concentração final de 20 µg L^{-1}, para a avaliação dos ensaios de recuperação. O analito trifenilfosfato (TPP, do inglês *triphenyl phosphate*) foi usado nas análises por LC-MS/MS, como PI na mesma concentração. Os resultados da atrazina d-5 foram utilizados para a avaliação do procedimento de extração e não para correção da recuperação.

3.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

A solução analítica estoque de concentração 1000 mg L^{-1} foi preparada levando em consideração a pureza do padrão sólido. Pesou-se a massa de padrão sólido e dissolveu-se em metanol grau HPLC. A partir da solução estoque preparou-se uma solução de trabalho na concentração 1 mg L^{-1}. Esses padrões foram utilizados para a fortificação das amostras e preparo da curva analítica.

Durante o estudo da linearidade do método e preparo da curva analítica preparou-se uma mistura do padrão de TPhT e do PC atrazina d-5 na concentração de 1 mg L^{-1}. Assim, a partir dessa solução confeccionou-se a curva analítica de trabalho nas concentrações de 2,0; 5,0; 10; 20; 50 e 100 µg L^{-1}.

As soluções de PI e PC utilizadas foram preparadas individualmente na concentração 1000 mg L^{-1}. Em seguida foram preparados 10 mL de soluções na concentração de 10 mg L^{-1} para TPP e atrazina d-5. Para o composto TPP, a partir da solução de 10 mg L^{-1} foi adicionada 5 µL ao extrato final (1 mL) para injeção.

Todas as soluções analíticas preparadas foram armazenadas em frascos âmbar a temperatura menor que 5 °C, sendo que antes de serem utilizadas as soluções foram retiradas do freezer e esperou-se que estas atingissem a temperatura ambiente para utilização.

3.5 CONDIÇÕES DO SISTEMA LC-MS/MS

Neste estudo, as análises foram realizadas através da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS), no modo monitoramento de reações selecionadas (SRM) e ionização por eletronebulização no modo positivo (ESI+).

A escolha da fase móvel foi baseada nas condições estabelecidas durante a rotina do LARP-UFSM. Assim, a fase móvel empregada para o desenvolvimento do trabalho consistiu em água contendo 2% (v/v) de metanol, 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol L^{-1} (solvente A) e metanol contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol L^{-1} (solvente B), conforme gradiente apresentado na Tabela 1. A vazão foi mantida constante em 0,150 mL min^{-1}, com um tempo total de análise de 10 min. O volume de injeção utilizado foi de 10 µL.

Tabela 1 – Gradiente da fase móvel para a eluição do TPhT determinado por LC-MS/MS.

	Tempo (min)	**% A**	**% B**
Gradiente	0,0	60	40
	2,0	2	98
	8,0	2	98
	8,15	60	40
	10,0	60	40

% A: Água contendo 2% (v/v) de metanol, 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol L^{-1}
% B: Metanol contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol L^{-1}.

Os parâmetros relacionados às condições do instrumento para determinação do composto trifenilestanho foram baseadas em estudo previamente publicado (DONATO et al., 2015). A seguir estão descritas as condições utilizadas para a otimização do sistema cromatográfico LC-MS/MS para a determinação de resíduos de TPhT em amostra de água e solo.

- Temperatura da coluna: 30 °C;
- Temperatura do gás de dessolvatação: 250 °C;
- Pressão do gás de nebulização: 20 psi;
- Pressão do gás de colisão: 1,8 mTorr;
- Temperatura da fonte: 50 °C.

Foram realizadas infusões, ou seja, injeções diretas no MS de solução analítica individual do composto TPhT na concentração 1000 µg L^{-1}. A partir das infusões foi selecionado o modo de ionização da fonte (eletronebulização positiva ou eletronebulização negativa), voltagem do capilar, energias de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos, temperatura e pressão do gás de dessolvatação para secagem do solvente. Após a escolha destas condições, foram selecionados os íons a serem monitorados para a identificação e quantificação do composto estudado.

3.6 OTIMIZAÇÃO DA SPE PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA

A fim de desenvolver um método adequado de extração do composto trifenilestanho em água, alguns parâmetros foram avaliados, como: volume de amostra, pH da amostra, o tipo e volume do solvente de eluição. Para isso, realizou-se um planejamento univariado, ou seja, variando uma variável e mantendo-se constante as demais. Os testes das variáveis avaliadas foram realizados em triplicata (n=3). O tipo de sorvente utilizado durante todos os experimentos foi o Strata C18-E (Phenomenex, 500 mg/3 mL). A escolha deste adsorvente foi baseada nas características físico-químicas do analito em estudo (WHO, 1999). Para a etapa de condicionamento do sorvente testou-se os solventes acetonitrila ou metanol, com

base no solvente de eluição, como também água ultrapura. Para as amostras com ajuste de pH, água com pH semelhante ao das amostras também foi utilizada na etapa de condicionamento. Na correção do pH das amostras empregou-se solução aquosa de H_3PO_4 (1:1; v/v) e NaOH (1 mol L^{-1}). Em seguida as amostras foram percoladas através do sorvente extrator com velocidade de aproxidamente uma gota por segundo. Posteriormente à percolação os cartuchos contendo os sorventes foram lavados com água ultrapura e secos sob vácuo. Para a etapa de eluição testaram-se diferentes tipos de solvente, bem como distintos volumes empregados. Por fim as amostras foram diluídas na proporção de 1:1 com fase móvel e injetadas no sistema cromatográfico.

Os volumes de amostra testados foram 50, 100 e 200 mL e os valores de pH foram 2, 9 e sem ajuste. Para a etapa de eluição, testaram-se os seguintes solventes: acetonitrila, acetonitrila acidificada com 1% (v/v) de ácido acético, metanol e metanol adicificado com 1% (v/v) de ácido acético. Os volumes de solvente de eluição testados foram 1 e 2 mL atingindo fatores de concentração na faixa de 25 a 200 vezes.

Os primeiros testes realizados avaliaram diferentes volumes de amostra, sendo que todas as amostras foram fortificadas com 20 µL do padrão de 10 mg L^{-1} de trifenilestanho. Assim, monitorou-se a extração do composto no sorvente empregando 50, 100 e 200 mL de amostra. A avaliação foi realizada com base nos resultados de recuperação, sendo aceitos apenas valores dentro da faixa de 70-120% (SANTE, 2017). Além disso, os resultados foram submetidos aos testes estatísticos t e F para verificar a significância entre os valores.

Os testes seguintes avaliaram a influência do pH também na extração do composto na fase extratora durante a percolação da amostra. O pH influencia diretamente na interação do composto com o sorvente extrator, ou seja, o ajuste do pH da amostra é necessário para estabilizar os agrotóxicos e aumentar sua retenção na fase sólida (CALDAS et al., 2011). Dessa forma, a faixa de pH de trabalho avaliada foram 2, 9 e entre 5-6 (pH da água ultrapura).

Durante a etapa de eluição, avaliou-se tanto o tipo de solvente de eluição como o seu volume. A escolha do solvente de eluição é um parâmetro importante e está diretamente relacionada com a polaridade do agrotóxico e o sorvente usado na SPE. Dentre os solventes frequentemente empregados nesta etapa estão a acetonitrila, o metanol, a acetona, etc (CALDAS et al., 2011). Sendo assim, optou-se por avaliar a

acetonitrila e o metanol, bem como, a acetonitrila 1% (v/v) ácido acético e metanol 1% (v/v) ácido acético. A quantidade de solvente ideal para eluir deve ser pequena, de forma que os compostos estejam em concentração apropriada para análise (DONATO et al., 2015). Os volumes avaliados foram 1 e 2 mL, verificando se havia influência da quantidade de solvente empregado na etapa de eluição.

Para a injeção dos extratos, os mesmos foram diluídos na proporção de 1:1 com a fase móvel empregada durante todos os experimentos.

3.7 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM SOLO

Para o desenvolvimento de um método adequado de extração do composto trifenilestanho em solo realizou-se primeiramente um planejamento de experimentos do tipo fatorial completo. Com este planejamento buscou-se a significância e as melhores condições para a extração de resíduos de trifenilestanho da matriz solo. Assim, um planejamento multivariado 2^3 foi aplicado para otimizar o preparo de amostras empregando o método QuEChERS. As variáveis independentes avaliadas durante o planejamento de experimentos foram: partição, tipo de ácido e concentração de ácido. Foram realizados 8 experimentos em triplicata (n=3) totalizando 24 testes conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Planejamento de experimentos fatorial completo 2^3 para avaliação da influência da adição de sais, tipo de ácido e concentração de ácido na eficiência da etapa de extração de resíduos dede trifenilestanho em amostras de solo.

Experimentos	Sais de partição	Tipo de ácido	Concentração do ácido (%, v/v)
1	-	ácido fórmico	1
2	-	ácido fórmico	5
3	-	ácido acético	1
4	-	Ácido acético	5
5	2 g NaCl + 6 g $MgSO_4$	ácido fórmico	1
6	2 g NaCl + 6 g $MgSO_4$	ácido fórmico	5
7	2 g NaCl + 6 g $MgSO_4$	ácido acético	1
8	2 g NaCl + 6 g $MgSO_4$	ácido acético	5

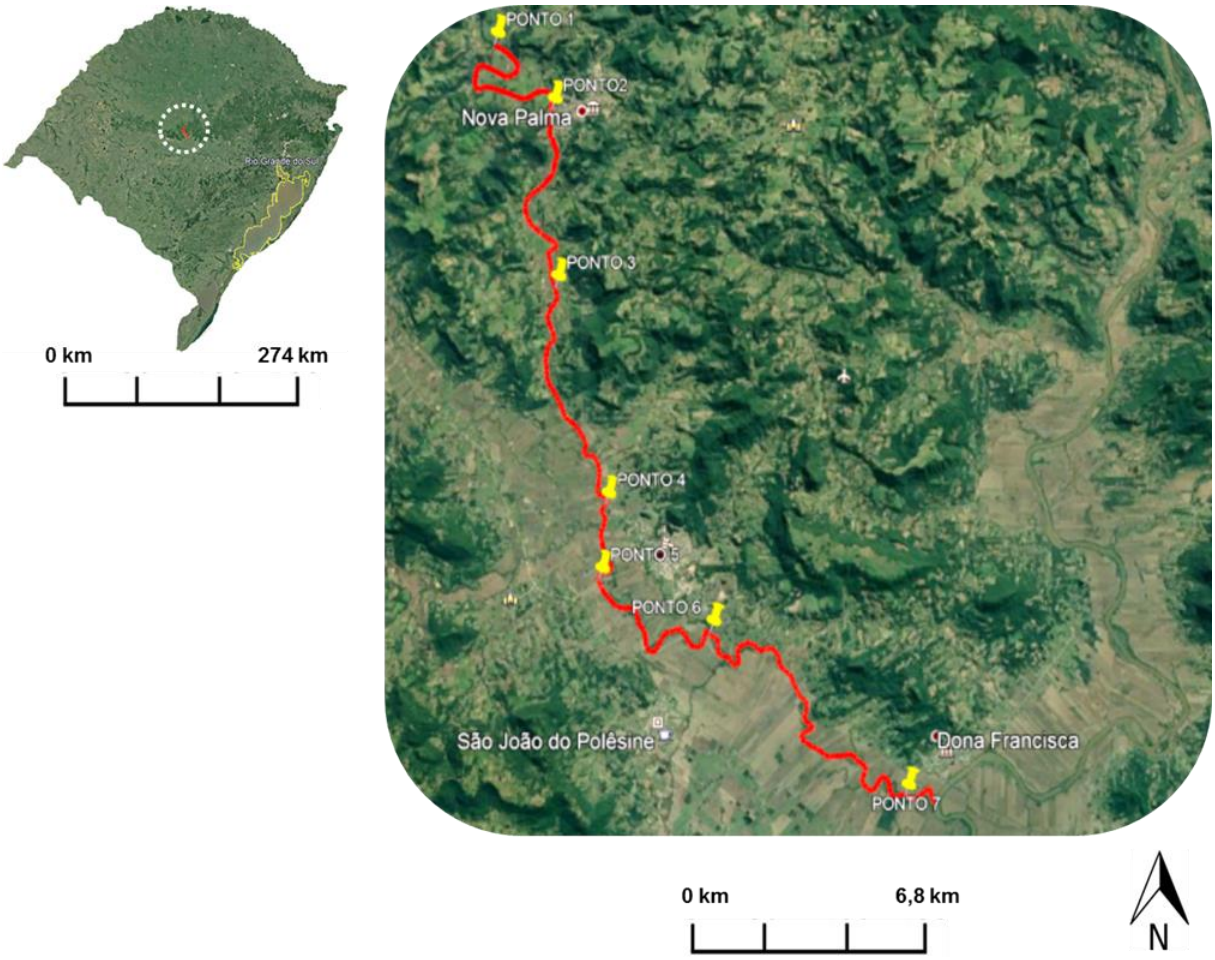
Uma quantidade fixa de amostra “branco” de 10 gramas de solo foi utilizada para todos os experimentos. As amostras foram pesadas em tubos de 50 mL de polipropileno e fortificadas com 200 µL do padrão de 10 mg L^{-1} de trifenilestanho. Aguardou-se cerca de 30 min após a fortificação, adicionou-se 10 mL de acetonitrila acidificada às amostras e homogeneizou-se durante 1 min em vortex. Na etapa de partição quando necessário, foram adicionados 2 g de NaCl e 6 g de $MgSO_4$ a fim de promover o efeito salting out e remover o possível teor de umidade presente na amostra, respectivamente. Posteriormente, as amostras foram todas centrifugadas durante 8 min a 3400 rpm. Passado este tempo, 2 mL do sobrenadante foram retirados e colocados em tubos de polipropileno de 15 mL contendo sais adsorventes para realizar a limpeza do extrato. Os sais adsorventes empregados foram o C18 e o $MgSO_4$ nas quantidades de 250 e 300 mg, respectivamente. Os tubos foram agitados durante 1 min utilizando o vórtex e posteriomente centrifugados por 8 min a 3400 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado com seringa e filtrado com filtros de PTFE de 0,22 µm. Por fim, diluiu-se o extrato na proporção de 1:1 em fase móvel e injetou-se no sistema cromatográfico.

3.8 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS EM AMOSTRAS REAIS

A amostragem teve por objetivo abranger amostras de águas superficiais do rio Soturno e de solo de lavouras de arroz irrigado da região central do estado do Rio Grande do Sul, para avaliar a aplicabilidade dos métodos desenvolvidos. Desse modo, foram coletadas 10 amostras de água de diferentes pontos localizados no entorno da bacia hidrográfica sendo 7 de rio e 3 de lavouras. A localização dos diferentes pontos de coleta de água é representada na Figura 3. As amostras foram coletadas utilizando um amostrador de água e repassadas para um frasco âmbar. As coletas foram realizadas próximas às margens do rio. Os frascos foram armazenados em local protegido da luz e em temperaturas entre 4 e 10 °C. Nestas condições evita-se o congelamento da amostra e possível degradação do analito a ser analisado. Antes do processo de extração as amostras foram filtradas utilizando membrana de PTFE com 0,45 µm de porosidade. O pH de cada amostra coletadas foi determinado utilizando um pHmetro. Os valores de pH variaram entre 6,5 e 7,3, onde antes da percolação da amostras estas foram ajustadas.

Além das amostras de água, coletou-se 6 amostras de solo de lavouras localizadas também no entorno do rio Soturno, cerca de 50 metros da margem do rio. As amostras coletadas foram armazenadas em frascos de polipropileno, e condicionadas nas mesmas condições que as amostras de água para evitar qualquer tipo deterioração das mesmas. Por fim, as amostras foram transportadas até o laboratório para posterior análise.

Figura 3. Pontos de amostragem ao longo da bacia hidrográfica do rio Soturno.



3.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO SPE E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM AMOSTRA DE ÁGUA

Estabelecidas as melhores condições para o procedimento de extração e separação cromatográfica, a etapa seguinte foi validar o método analítico para determinação de trifenilestanho em amostras de água.

Os parâmetros utilizados para a validação do método foram: seletividade, linearidade e curva analítica, limites de detecção e quantificação, exatidão através do ensaio de recuperação, precisão (repetibilidade) e precisão intermediária (SANTE, 2017; INMETRO, 2016).

3.9.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação dos picos cromatográficos e os respectivos espectros de massas dos cromatogramas obtidos pelas injeções no sistema LC-MS/MS de extratos de amostras “branco” de água ultrapura e de amostras “branco” fortificadas. As amostras foram fortificadas nas concentrações de 0,04; 0,1; 0,2; 0,4; 1,0; e 2,0 µg L^{-1} com o composto trifenilestanho em amostras “branco” de água ultrapura, que posteriormente foram extraídas por SPE. A ausência de picos cromatográficos nos “brancos” evidencia a seletividade do método.

3.9.2 Linearidade e Curvas Analíticas

A avaliação da linearidade das curvas analíticas foi realizada através da injeção das soluções analíticas preparadas em solvente (metanol), em 6 níveis de concentração 2, 5; 10; 20; 50; e 100 µg L^{-1}. As curvas analíticas foram injetadas em triplicata para posteriormente realizar os cálculos das médias das áreas e do RSD. Conforme exigida pelo INMETRO (2016), curvas analíticas com coeficiente de determinação (r^2) maiores que 0,99 são aceitáveis (INMETRO, 2016).

3.9.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

Conforme descrito na revisão bibliográfica, os LOD e LOQ foram estabelecidos experimentalmente com base na razão S/N, sendo determinado para o composto em estudo. A determinação dos valores de LOQ foi estabelecida de acordo com o menor nível fortificado que obteve relação S/N > 10, com resultados de exatidão entre 70 e 120% e precisão ≤ 20% (SANTE, 2017). Já, os valores de LOD foram obtidos a partir do LOQ dividido por 3,33 vezes a relação sinal/ruído.

3.9.4 Ensaios de recuperação para avaliar a exatidão e a precisão

Para avaliar a exatidão do método analítico proposto, através da recuperação, as amostras “branco” foram fortificadas em seis níveis de concentração: 0,04; 0,1; 0,2; 0,4; 1,0; e 2,0 µg L^{-1}, empregando o método de extração otimizado. Foram realizadas 3 réplicas de extração para cada nível de concentração, totalizando 18 testes. O estudo da precisão do método, em termos de precisão intermediária (RSDpi) foi efetuado através da extração e determinação de amostras fortificadas, em dias diferentes. Injetou-se 1 vez no sistema cromatográfico o extrato de cada teste.

Após a otimização e validação do método de extração com SPE para determinação por LC-MS/MS, este foi aplicado para a determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de água.

3.10 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM AMOSTRA DE SOLO

Os parâmetros utilizados para a validação do método foram os mesmos empregados para SPE, sendo eles: seletividade, linearidade e curva analítica, limites de detecção e quantificação, exatidão, precisão e precisão intermediária, além da avaliação do efeito matriz (SANTE, 2017; INMETRO, 2016).

3.10.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação dos picos cromatográficos e de seus respectivos espectros de massas dos cromatogramas obtidos pelas injeções no sistema LC-MS/MS de extratos de amostras “branco” de solo e “branco” de solo fortificadas. As amostras foram fortificadas nas concentrações de 10, 100 e 200 µg kg^{-1} com o composto trifenilestanho em amostras “branco” de solo, que posteriormente foram extraídas pelo método QuEChERS. A ausência de pico cromatográfico na amostra branco evidencia a seletividade do método.

3.10.2 Linearidade e Curvas Analíticas

A avaliação da linearidade das curvas analíticas foi realizada através da injeção das soluções analíticas preparadas em solvente (metanol), em 6 níveis de concentração 2, 5; 10; 20; 50; e 100 µg L^{-1}, bem como no extrato “branco” da matriz. As curvas analíticas foram injetadas em triplicata para posterior cálculo das médias das áreas e do RSD. O efeito de matriz foi avaliado comparando-se as curvas analíticas preparadas em solvente e em extrato “branco” de matriz solo. O efeito de matriz é calculado para verificação do método mais adequado para calibração do equipamento na determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de solo. Aceita-se efeitos de matriz de até 20%, acima deste valor utiliza-se curvas analíticas preparadas no extrato da matriz a fim de minimizar efeitos de supressão ou aumento de sinal analítico.

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

Os LOD e LOQ foram estabelecidos experimentalmente a partir do sinal do analito pelo ruído analítico, determinado para o TPhT. O LOQ foi estabelecido através do menor nível fortificado com S/R > 10, com resultados de exatidão entre 70 e 120% e precisão ≤ 20%. O LOD foI obtido a partir da divisão do LOQ por 3,33 vezes a relação S/R.

3.10.4 Ensaios de recuperação para avaliar a exatidão e a precisão

Para avaliação da exatidão do método proposto, através da recuperação, as amostras “branco” de solo foram fortificadas em três níveis de concentração: 10; 100 e 200 µg L^{-1}, empregando o método de extração otimizado. Foram realizadas 6 réplicas de extração para cada um dos níveis de concentração, totalizando 18 testes. A precisão do método, em termos de RSDpi foi efetuada através da extração e análise de amostras fortificadas, em dias diferentes. Cada nível de fortificação foi extraído seis vezes e injetou-se 1 vez no sistema cromatográfico cada extrato obtido.

Após a otimização e validação do método de extração por QuEChERS para determinação por LC-MS/MS, aplicou-se para a determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de solo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CONDIÇÕES OTIMIZADAS DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO LC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO

O trifenilestanho foi determinado por LC-MS/MS utilizando as condições descritas no item 3.5. O modo de ionização empregado foi a eletronebulização (ESI), operando no modo positivo. Além disso, foram escolhidas as duas transições características para o TPhT e para os PC e PI. A transição mais intensa foi utilizada na quantificação dos compostos e a segunda transição mais intensa para a identificação dos mesmos, através do modo SRM. O uso do modo de aquisição SRM com as transições para TPhT, PI e PC são mostrados na Tabela 3.

Os modificadores de fases móveis melhoram os sinais analíticos e a reprodutibilidade das respostas cromatográficas. A utilização de aditivos na fase móvel, como o formiato de amônio, por exemplo, auxiliam nas separações cromatográficas, como reportado na literatura (RIZZETTI et al., 2016). Com formiato de amônio, a presença de íons de amônio suprimiu a formação de adutos de sódio, que são mais comuns em condições ácidas (ácido fórmico) e, portanto, os íons predominantemente formados foram $[M + H]^+$, mostrando alta detectabilidade e respostas mais consistentes (HIEMSTRA & DE KOK, 2007).

Tabela 3 - Íons precursores, íons produto (m/z), energia do capilar (V) e energia de colisão (eV) para determinação de resíduos de TPhT com atrazina-d5 como padrão de controle e TPP como padrão interno por LC-MS/MS.

Composto	Íon precursor (m/z)	Íon produto (m/z)	Energia do capilar (V)	Energia de colisão (eV)
Atrazina-d5	221	79	55	25
		179		15
TPP	327	**152**	65	29
		215		20
TPhT	351	120	110	28
		197		24

Em negrito os íons utilizados para quantificação.

4.2 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE SPE PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA

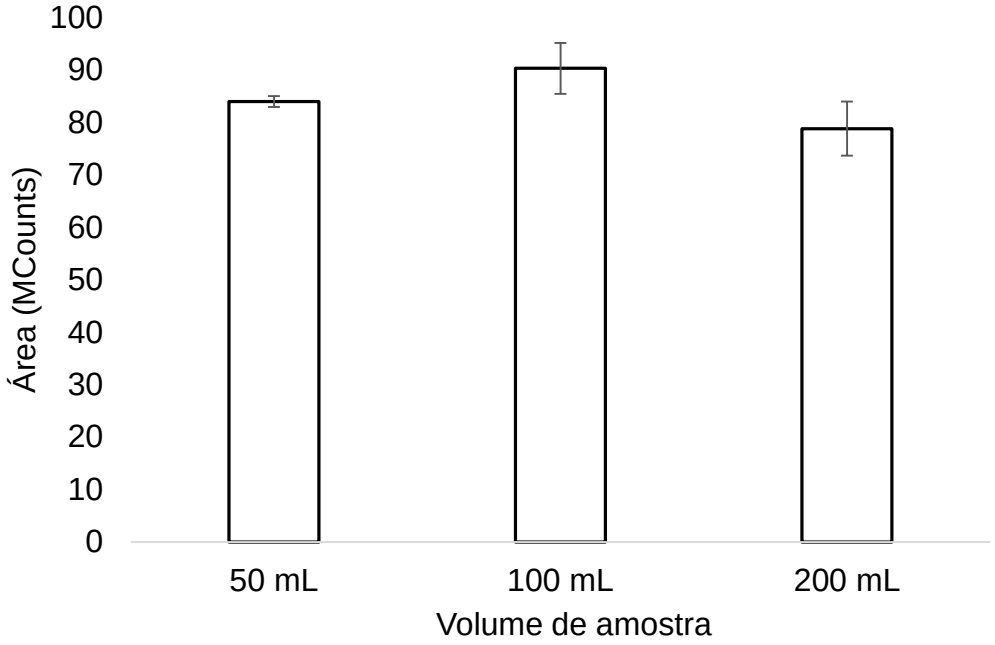
A avaliação das variáveis existentes no preparo de amostra é de grande importância no que diz respeito ao aumento da eficiência de extração dos compostos em estudo mantendo exatidão e precisão adequadas para o método.

Para isto, escolheram-se algumas variáveis da SPE para avaliação, sendo elas: volume de amostra, pH da amostra, solvente de eluição e volume do solvente de eluição. Durante todos os experimentos, utilizou-se cartuchos C18 devido a afinidade da fase estacionária com o TPhT. As condições utilizadas durante a avaliação estão descritas a seguir. Empregaram-se amostras “branco” (água ultrapura) e amostras “branco” fortificadas durante as avaliações. As extrações foram realizadas em triplicata (n=3) e os resultados avaliados com base nas áreas relativas do pico do TPhT obtidas, após injeção dos extratos finais no sistema cromatográfico.

4.2.1 Volume de amostra

Na técnica de SPE o volume de amostra utilizado pode variar muito. Estes volumes variam desde poucos mililitros até volumes maiores do que um litro. Neste sentido, durante o desenvolvimento de métodos utilizando SPE é necessário determinar o volume de *breakthrough* para que se obtenha a eficiência máxima de extração, ou seja, o volume máximo de amostra que deve ser processado para que se obtenha a maior recuperação possível do analito (JARDIM, 2010). Sendo assim, a primeira etapa a ser avaliada foi o volume de amostra utilizado na extração de resíduos de trifenilestanho por SPE. Para isso foram aplicados volumes de amostra de 50, 100 e 200 mL e fortificou-se todas com 50 µL de uma solução padrão de 1 mg L^{-1} de TPhT. Após a SPE, injetou-se os extratos referentes aos três volumes de amostras e avaliou-se as áreas dos picos obtidas por LC-MS/MS para cada um dos experimentos. Cabe salientar que quanto maior o volume de amostra percolado pelo sorvente, maior é o risco de o analito ser eluído pela própria amostra (JARDIM, 2010). Os resultados obtidos para os experimentos são apresentados na Figura 4.

Figura 4: Resultados das áreas obtidas na determinação de resíduos de trifenilestanho por LC-MS/MS em função da variação do volume de amostra (50, 100 e 200 mL)

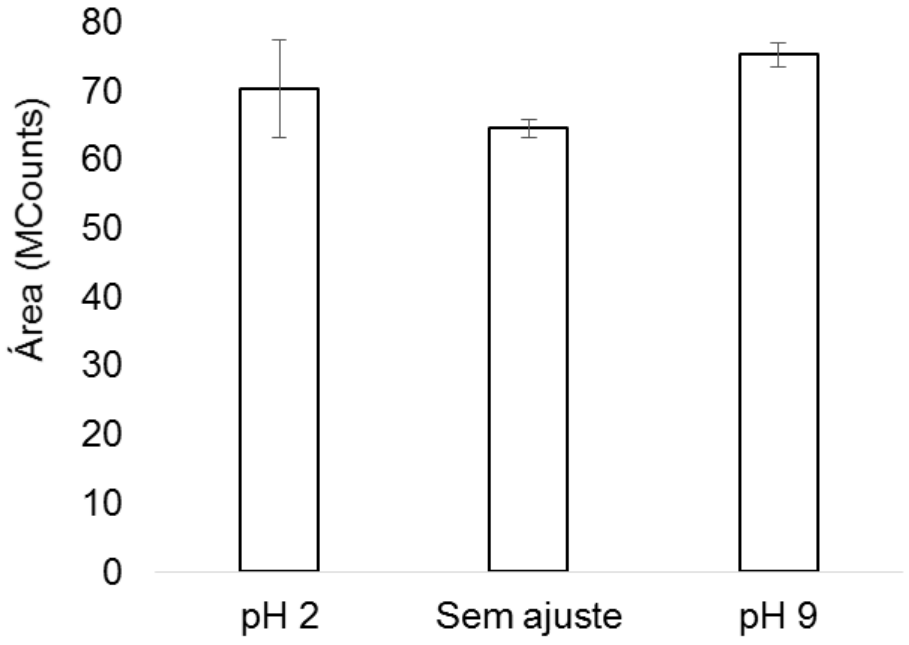


Através da Figura 4 é possível verificar que os melhores resultados foram obtidos utilizando um volume de amostra de 100 mL. Entretanto, a diferença entre os ensaios não foi significativa ($\rho > 0,05$). Sendo assim, qualquer dos volumes poderia ser escolhido para realização da extração, uma vez que, não ficou comprovada a perda de analito em função do maior volume amostra (200 mL). Assim, a decisão sobre qual dos volumes ser empregado partiria exclusivamente dos critérios do analista, seja em melhorar os LOQs (no caso de amostras mais “límpidas”, utilizando 200 mL) ou garantir a eficiência do cartucho (no caso de amostras mais “sujas”, utilizando 50 mL). Como o LOQ do método é diretamente influenciado pelo volume de amostra utilizado, quando emprega-se quantidades maiores de amostras obtêm-se melhores LOQs. Por essa razão, o volume de 50 mL amostra foi descartado. Por outro lado, na aplicação do método a etapa de extração pode ser influenciada devido às características físico-químicas como, por exemplo, materiais particulados e sólidos em suspensão mesmo após filtração. Visando minimizar estes efeitos o volume de 100 mL foi escolhido para prosseguir com os ensaios.

4.2.2 pH da amostra

O pH da amostra influencia diretamente na interação do composto com a fase contida no cartucho, ou seja, o ajuste do pH da amostra é necessário para estabilizar e aumentar a retenção dos analitos na fase sólida (CALDAS et al., 2011). Portanto, é necessário conhecer o comportamento dos analitos frente à fase sólida escolhida em função do pH da amostra. O pH varia de acordo com cada uma das amostras entretanto, este é facilmente corrigido utilizando soluções ácidas ou alcalinas. A otimização do pH da amostra é essencial para atingir a recuperação total dos analitos (DONATO et al., 2015). Neste sentido, ensaios variando o pH entre 2 e 9 foram realizados com o objetivo de avaliar qual faixa de pH é mais adequada para retenção do composto TPhT em amostras de água. Uma vez que, o TPhT em água está em sua forma ionizada, ou seja, como um íon positivo, (R_3Sn^+). Pressupõe-se que um aumento de pH poderia neutralizar este íon (R_3SnOH) causando um aumento de sua interação com a fase sólida apolar empregada. Os resultados para os ensaios de pH 2, 9 e sem ajuste de pH (água ultrapura pH 6,5) podem ser visualizados na Figura 5, de acordo com a área do pico cromatográfico obtido por LC-MS/MS.

Figura 5: Resposta em área para os ensaios variando o ajuste de pH da amostra na extração de resíduos de trifenilestanho em amostras de água por SPE e determinação por LC-MS/MS

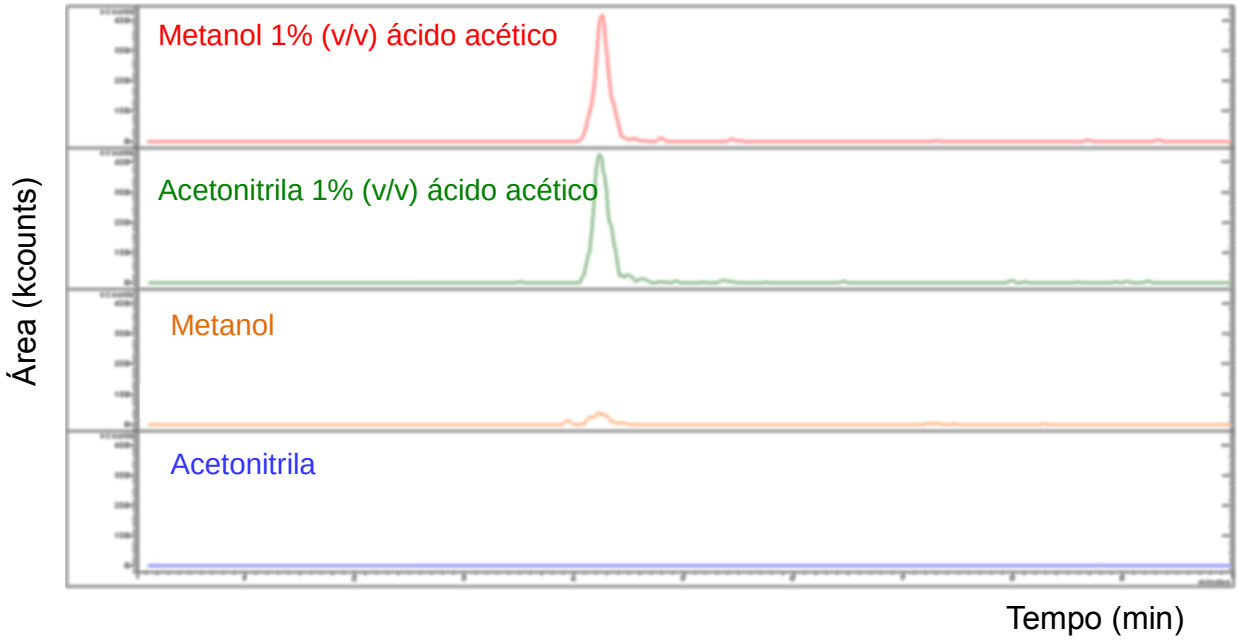


Avaliando os resultados obtidos pode-se concluir que em pH mais básico (pH 9) foi a melhor condição para extração de resíduos de trifenilestanho utilizando o sorvente Strata C18-E, uma vez que, as áreas e o RSD obtidos foram significativamente melhores. Neste sentido, constatou-se que em pH 9 ocorreu uma melhor interação do analito com a fase sólida pelo fato deste encontrar-se em sua forma neutra (DONATO et al., 2015).

4.2.3 Solvente de eluição

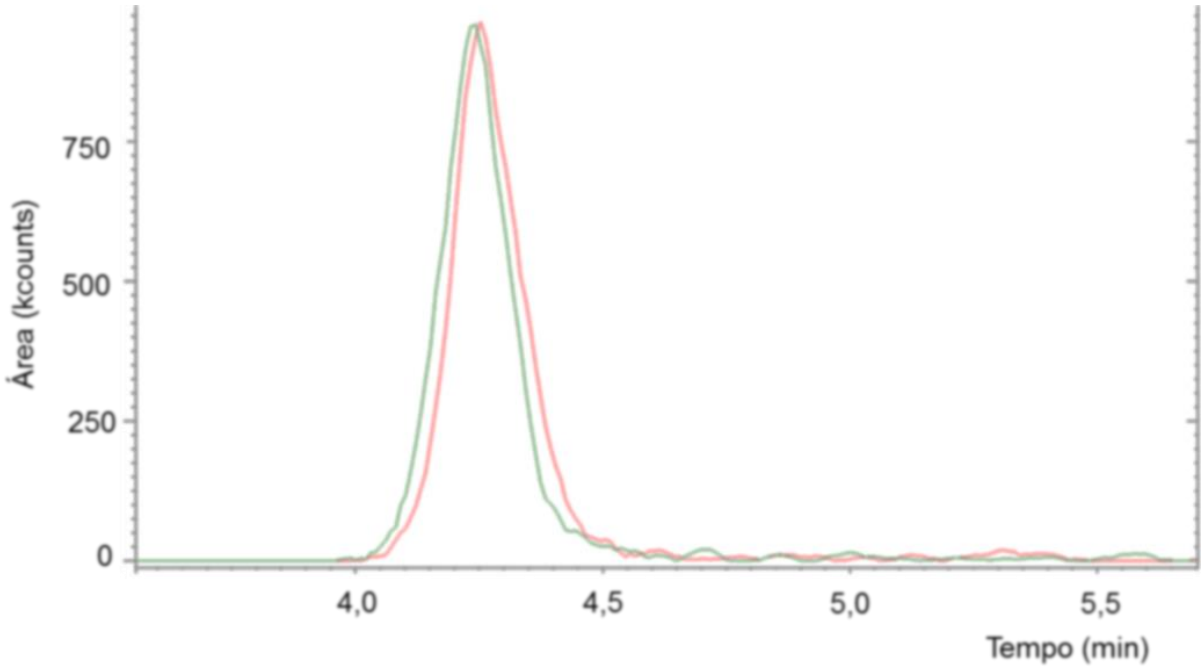
Na técnica de SPE é ideal que a eluição do composto de interesse seja realizada através de um pequeno volume de solvente. Dessa maneira, o extrato obtido estará em uma concentração suficiente para ser quantificada com segurança no equipamento. O solvente de eluição deve ser adequado para retirar os analitos de interesse do cartucho sem que os interferentes que não tenham sido eliminados na etapa de limpeza sejam eluídos juntamente com os analitos de interesse. O solvente de eluição deve ter alta força de eluição, isso pode ser alcançado mudando-se a polaridade do solvente, a concentração salina ou ainda alterando-se o pH da solução de eluição (JARDIM, 2010; DONATO et al., 2015). Portanto, a composição da solução de eluição é essencial para atingir a máxima extração dos compostos concentrados no cartucho. Sabe-se que acetonitrila e metanol são solventes muito comuns na extração de agrotóxicos. Além disso, também são solventes muito utilizados como fase móvel na cromatografia líquida em fase reversa (CHIARADIA et al., 2008). Assim, os solventes escolhidos para eluição foram metanol ou acetonitrila, e soluções de acetonitrila ou metanol contendo 1% (v/v) de ácido acético. A mudança de pH na solução de eluição foi utilizada buscando facilitar a eluição do trifenilestanho, neutro em meio básico e fortemente ligado na fase sólida apolar. Extratos dos solventes avaliados foram injetados no LC-MS/MS para verificar a área do pico cromatográfico referente ao TPhT. Os cromatogramas representando a diferença entre os 4 solventes de eluição avaliados podem ser visualizados na Figura 6.

Figura 6: Cromatogramas obtidos por LC-MS/MS no modo SRM de amostras de água fortificadas a 50 µg L^{-1} eluídas com diferentes soluções.



Como pode ser visualizado na Figura 6, as soluções de eluição contendo ácido foram essenciais para a remoção do trifenilestanho do sorvente extrator. Quando solventes de eluição sem adição de ácido foram utilizados o pico referente ao analito não foi observado ou não teve intensidade suficiente para quantificação. Isso ocorre devido ao potencial de dissociação do trifenilestanho e da diminuição de sua solubilidade na solução de eluição, quando em meio básico. Os cromatogramas dos solventes de eluição contendo ácido foram comparados para avaliar a área referente ao pico cromatográfico do TPhT (Figura 7).

Figura 7: Comparação dos cromatogramas obtidos por LC-MS/MS no modo SRM de amostras de água fortificadas a 50 µg L^{-1} para acetonitrila 1% (v/v) ácido acético (verde) e metanol1% (v/v) ácido acético (vermelho).



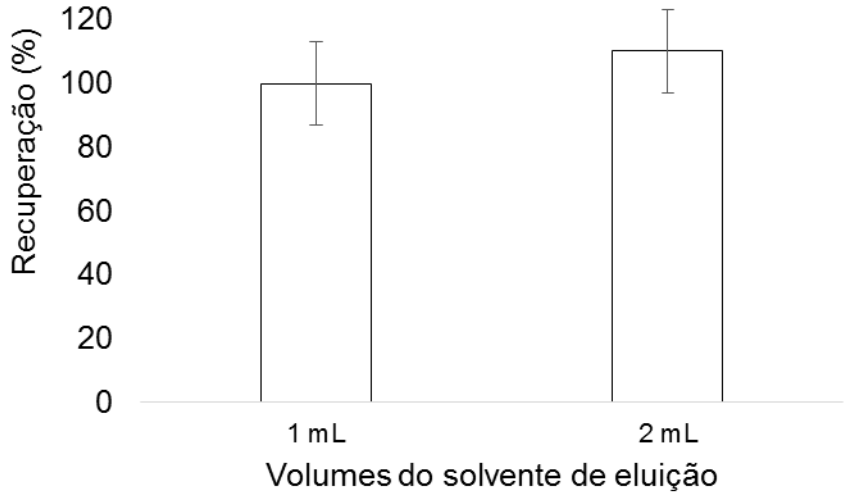
Com base nos resultados obtidos conforme observado na Figura 7, tanto para a acetonitrila acidificada quanto o metanol acidificado poderiam ser escolhidos. Entretanto, mesmo com a intensidade do sinal para ambos solventes acidificados optou-se por empregar metanol contendo 1% (v/v) ácido acético. A solução ácida de metanol foi escolhida em virtude da semelhança com a fase móvel orgânica empregada no sistema LC-MS/MS.

4.2.4 Volume do solvente de eluição

O volume do solvente de eluição influencia diretamente nos limites de quantificação e detecção do método. Utilizar uma quantidade menor de solvente pode levar a um aumento de concentração final no extrato. Entretanto, o volume tem que ser adequado para eluir todo analito contido no sorvente, sem comprometer a recuperação dos analitos. Para isso, foram avaliados dois volumes diferentes para a eluição dos resíduos de trifenilestanho em água. Assim, fortificou-se amostras nas concentrações de 1 e 2 µg L^{-1} e eluiu-se com 1 e 2 mL, respectivamente. Dessa forma, ambos os extratos finais estariam na concentração de 50 µg L^{-1} após diluição. Por fim,

os extratos foram injetados em sistema LC-MS/MS e avaliaram-se as recuperações obtidas para cada um dos volumes de solvente avaliados. A Figura 8 apresenta resultados de recuperação para os ensaios, utilizando 1 e 2 mL de solvente de eluição.

Figura 8: Resultados de recuperação para avaliação do volume de solvente na etapa de eluição da SPE para determinação de resíduos de trifenilestanho por LC-MS/MS



Como apresentado na Figura 8, os resultados de recuperação obtidos foram 100 e 110%, com desvios de 13% para 1 e 2 mL, respectivamente. Como não houve diferença significativa entre as recuperações ambos volumes poderiam ser empregados, mas optou-se por um volume menor de solvente. Assim, além de diminuir a quantidade de solvente durante a eluição, há um aumento no fator de concentração do método em 2 vezes obtendo-se também LODs melhores.

4.3 MÉTODO SPE OTIMIZADO

A partir dos resultados obtidos, na etapa de avaliação das variáveis no procedimento, otimizou-se um método para extração de TPhT em amostras de água.

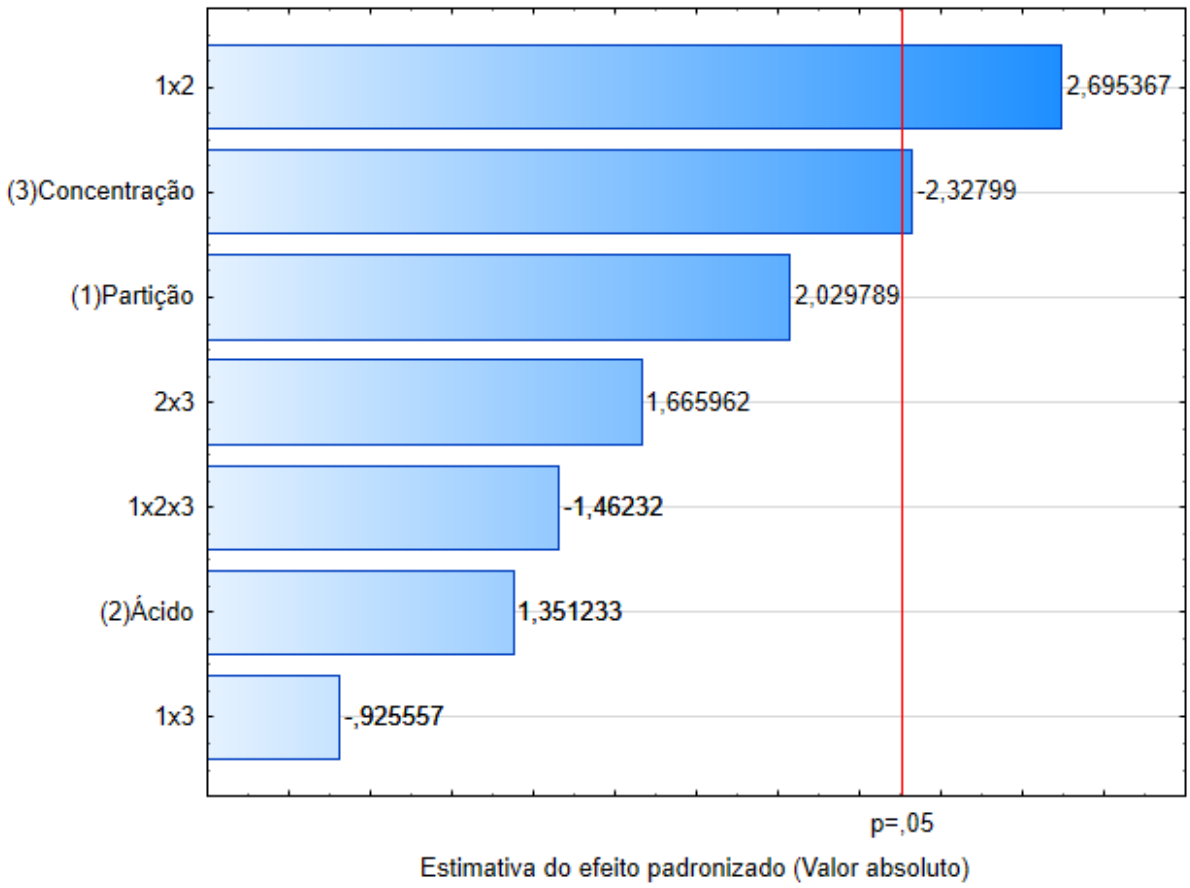
O volume de amostra utilizado foi de 100 mL e o pH foi ajustado em 9 com uma solução de hidróxido de sódio (1 mol L^{-1}). O cartucho C18 foi previamente condicionado com metanol, seguido de água ultrapura e água ultrapura com pH ajustado em 9. Então, a amostra foi percolada através do cartucho para a retenção do analito na fase estacionária. O cartucho passou por uma etapa de lavagem com água utrapura antes da secagem do mesmo. Durante um tempo de 30 min o cartucho foi

seco sob vácuo. Posteriormente, o TPhT foi eluído da fase estacionária empregando 1 mL de metanol 1% ácido acético. O extrato final foi diluído na proporção de 1:1 com fase móvel. Assim, o método proposto possui um fator de enriquecimento de 50 vezes.

4.4 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM SOLO

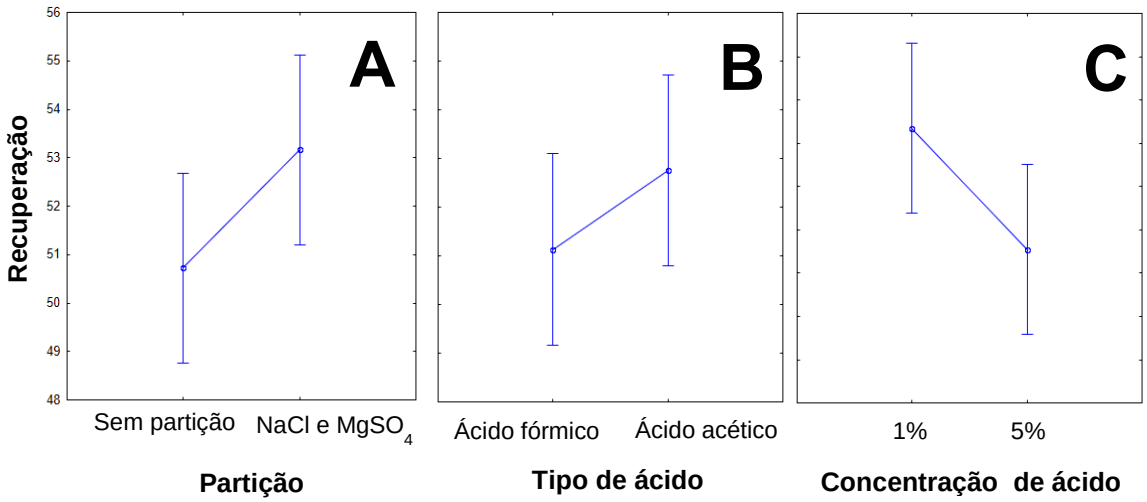
O planejamento de experimentos do tipo fatorial completo mostra quais foram as melhores condições para a extração de resíduos de TPhT em solo e quais delas eram significativas. Para avaliar isso, o diagrama de Pareto de efeitos padronizados e o gráfico de médias para partição, tipo de ácido e concentração de ácido foram gerados com o *software* Statistica10. Este diagrama e os gráficos estão representados nas Figuras 9 e 10, respectivamente.

Figura 9: Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para partição, tipo de ácido e concentração de ácido e suas interações na recuperação de resíduos de TPhT de amostras de solo.



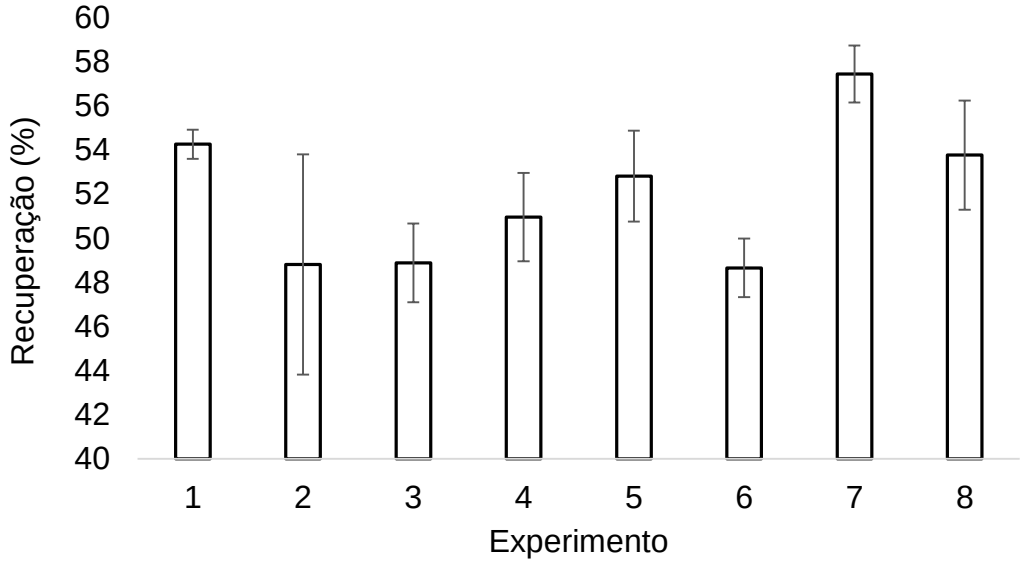
Ao avaliar o diagrama de Pareto, é possível observar que a concentração de ácido tem um efeito negativo na recuperação de TPhT. Ou seja, quanto maior é a concentração de ácido mais baixa é a recuperação do analito. Embora essa variável não seja tão significativa como a interação entre a partição e o tipo de ácido, que é representada no gráfico por "1x2". A interação entre essas duas variáveis tem um efeito significativo na recuperação dos analitos. Estes resultados mostram que a combinação de ácido acético e partição durante o procedimento de extração proporciona melhores resultados de recuperação.

Figura 10: Gráfico de médias marginais de partição (A), tipo de ácido (B) e concentração de ácido (C).



Avaliando o gráfico de médias marginais na Figura 10 é possível concluir que as melhores condições foram a adição de sais, caracterizando o método QuEChERS e ácido acético a 1% (v/v) em acetonitrila como solvente de extração. Esses resultados estão de acordo com a avaliação da maior recuperação média obtida em todos os 8 experimentos, que são representados na Figura 11.

Figura 11: Resultados de recuperação obtidos para os 8 experimentos do planejamento fatorial completo.



Tendo em vista que a ligação do TPhT à matéria orgânica particulada é forte, foram necessárias condições ácidas para a extração. Por outro lado, ácidos altamente concentrados podem ser muito fortes para os compostos organoestânicos tri-substituídos podendo provocar a sua degradação (ZULIANI et al., 2010).

Ainda assim, os solventes à base de ácido acético glacial são úteis para a extração de organometálicos dos solos. A eficiência de extração é, principalmente, devido à protonação de cargas negativas e liberação de organometálicos trocáveis (HUANG et al. 2003). Nesse sentido, a extração de resíduos TPhT do solo com acetonitrila 1% (v/v) de ácido acético está de acordo com métodos publicados anteriormente. O efeito *salting out* é bem conhecido por aumentar a eficiência de extração de compostos de baixa polaridade a partir de matrizes complexas (BANDEIRA et al., 2017). A adição de 2 g de NaCl e 6 de $MgSO_4$ provou aumentar a recuperação de analitos.

As agitações manuais e por vórtex foram preferidas, uma vez que, as extrações assistidas por microondas e por ultrassom podem degradar significativa organoestânicos tri-substituídos. A degradação pode ocorrer devido ao aumento rápido da temperatura da solução de extração (HEROULT et al., 2008). Enquanto a temperatura induz a desalquilação e desarilação de analitos, especialmente o mais termolábil, que é o caso do trifenilestanho (HEROULT et al., 2008).

4.5 MÉTODO QuEChERS OTIMIZADO

A partir dos resultados obtidos através do planejamento multivariado, otimizou-se um método para extração de TPhT em amostras de água com as melhores condições com as variáveis avaliadas.

Pesou-se 10 g de amostra de solo em tudo de polipropileno de 50 mL e adicionou-se 10 mL de acetonitrila 1% ácido acético. A extração foi realizada sob agitação em vórtex durante 1 min. Posteriormente, na etapa de partição, foram adicionados 2 g de NaCl e 6 g de $MgSO_4$ e agitou-se manualmente por 1 min. A amostra foI centrifugada durante 8 min a 3400 rpm. Passado este tempo, 2 mL do sobrenadante foram retirados e colocados em tubos de polipropileno de 15 mL contendo sais adsorventes para realizar a limpeza do extrato. Os sais adsorventes empregados foram o C18 e o $MgSO_4$ nas quantidades de 250 e 300 mg, respectivamente. Os tubos foram agitados durante 1 min utilizando o vórtex e posteriomente centrifugados por 8 min a 3400 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado com seringa e filtrado com filtros de PTFE de 0,22 µm. Por fim, diluiu-se o extrato na proporção de 1:1 em fase móvel e injetou-se no sistema cromatográfico.

4.6 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZANDO SPE E QuEChERS PARA A EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE TRIFENILESTANHO EM ÁGUA E SOLO E DETERMINAÇÃO POR LC-MS/MS

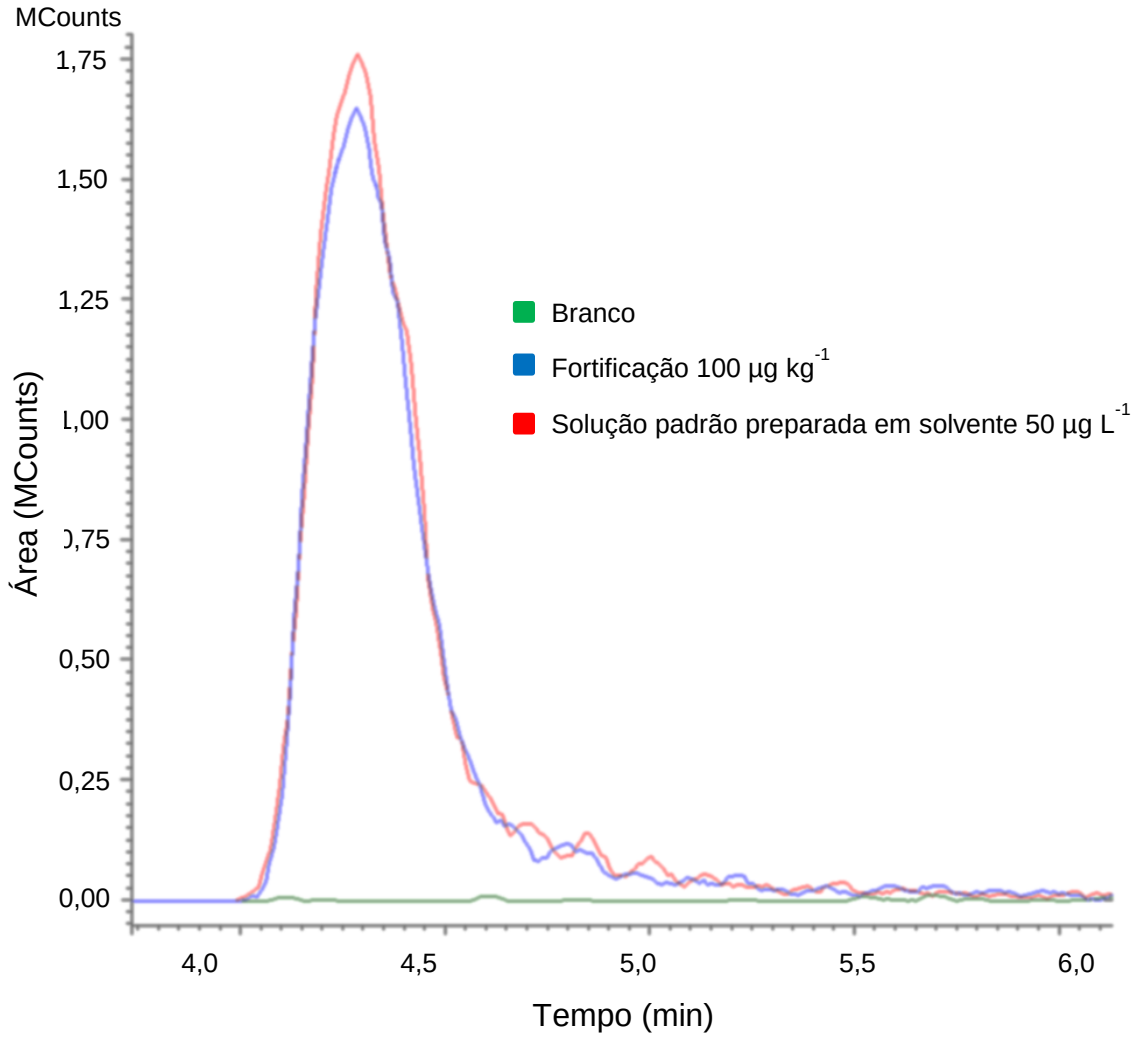
A partir dos métodos otimizados, seguiu-se para a validação avaliando os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade e curva analítica, efeito matriz, limites de detecção e quantificação, exatidão através do teste de recuperação, precisão (repetibilidade) e precisão intermediária, (SANTE, 2017; INMETRO, 2016).

4.6.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada comparando-se o pico cromatográfico do composto trifenilestanho e seu respectivo espectro de massas em fortificações, fortificações na amostra e em amostras “branco”. Os extratos foram injetados no

sistema LC-MS/MS. Para a amostra de água comparou-se o pico cromatográfico do TPhT em amostras “branco” de água ultrapura e água ultrapura fortificada. Para a amostra de solo, foram comparados os cromatogramas de extratos “branco” de solo e “branco” de solo fortificado. A comparação entre os cromatogramas para solo pode ser visualizada na Figura 12.

Figura 12: Cromatograma SRM obtido através de LC-MS/MS para o composto TPhT em amostras “branco” de solo (verde), fortificação na amostra na concentração de 100 µg kg^{-1}(azul) e solução padrão em solvente na concentração de 50 µg L^{-1} (vermelho).

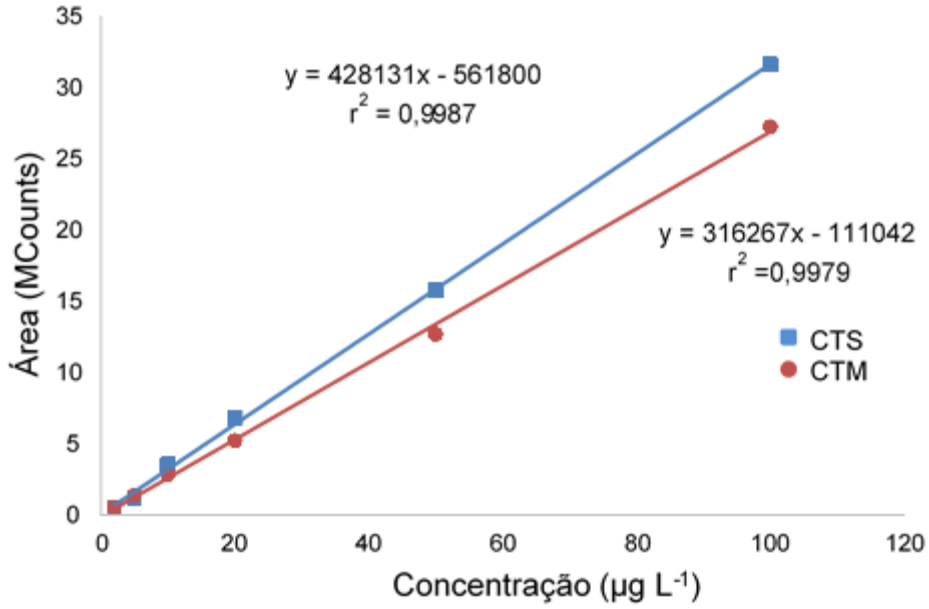


Com base nos resultados obtidos das injeções dos extratos, pode-se distinguir a resposta do analito na amostra fortificada e solução padrão da amostra branco. A inexistência de pico cromatográfico do TPhT na amostra “branco” evidencia a seletividade do método.

4.6.2 Linearidade e curva analítica

A linearidade da curva analítica foi avaliada pela injeção de soluções analíticas preparadas em solução de metanol:fase móvel (1:1, v/v) nos níveis 2; 5; 10; 20; 50 e 100 µg L^{-1} para água. As curvas analíticas para solo foram preparadas no extrato "branco" de solo nas mesmas concentrações. As curvas analíticas foram injetadas em triplicata para posterior cálculo médio das áreas e RSDs. As curvas analíticas tanto para as soluções preparadas em solvente como as soluções preparadas no extrato branco da matriz apresentaram r^2> 0,99 (Figura 13) atendendo o critério de aceito pelo INMETRO.

Figura 13: Equação da reta e r^2 para curvas analíticas preparadas em metanol (CTS) e extrato "branco" da matriz solo (CTM) na faixa de trabalho de 2 a 100 µg L^{-1}.



Com base nos resultados obtidos para ambas as curvas analíticas, as amostras puderam ser quantificadas adequadamente. Conforme estipulado pela SANTE (2017), efeitos de matriz mais pronunciados do que ± 20% requerem quantificação utilizando curvas analíticas que minimizem os efeitos de supressão ou aumento de sinal analítico. No caso das amostras de solo, uma supressão de sinal analítico de 26% foi calculada com base nas inclinações das curvas preparadas em amostras "branco" de solo e em solvente (metanol). Portanto, para quantificação das amostras de solo a curva preparada em extrato de amostras "branco" de solo deve ser utilizada. No caso das amostras de água a curva preparada em solvente foi utilizada para quantificação.

4.6.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação do método

O LOD e LOQ foram estabelecidos experimentalmente baseados no sinal/ruído do composto estudado. A determinação dos valores de LOQ foi estabelecida de acordo com o menor nível fortificado que obteve razão S/R > 10 com valores de recuperação entre 70 e 120% e desvio padrão relativo ≤ 20% (SANTE, 2017). Os valores de LOD foram estimados pela divisão do LOQ por 3,33. Os LOQ e o LOD obtidos foram 0,1 e 0,03 µg L^{-1} para as amostras de água e 10 e 3,33 µg kg^{-1} para as amostras de solo.

4.6.4 Exatidão (recuperação), precisão (RSD) e precisão intermediária

Para avaliar a exatidão e a precisão (repetibilidade e precisão intermediária) dos métodos, amostras “branco” de água e solo foram fortificadas em diferentes níveis de concentração. Para as amostras de água seis níveis de concentrações: 0,04; 0,1; 0,2; 0,4; 1 e 2 µg L^{-1} (Tabela 4) utilizando o método de SPE com n= 3. Para as amostras de solo, três níveis de concentrações: 10, 100 e 200 µg kg^{-1} e extração pelo método QuEChERS com n=6. Estas avaliações foram realizadas em diferentes dias para calcular a precisão na forma de repetibilidade e precisão intermediária através das recuperações e valores de RSD.

Tabela 4 - Resultados de recuperação para os ensaios de fortificação com concentrações de 0,1 a 2 µg L^{-1} para água e 10 a 200 µg kg^{-1} para o solo.

	Concentração	Repetibilidade	Precisão intermediária
	µg kg^{-1}	Rec (%) ± RSD(%)	
Amostras de solo	10	83±7	-
	100	72±2	99±6
	200	73±3	-
	µg L^{-1}		
Amostras de água	0,1	100±18	86±10
	0,2	113±6	84±11
	0,4	107±4	90±15
	1	107±3	105±7
	2	92±5	92±7

Os resultados da recuperação variaram entre 72 e 83% para solo com RSD ≤ 7%. Para água, as recuperações obtidas foram de 92 a 113%, com RSD ≤ 18%. Estes valores encontram-se dentro dos critérios aceitáveis de recuperação e RSD. A fortificação de 0,04 µg L^{-1} para água obteve RSD acima de 20% no ensaio de precisão intermediária e, portanto, não foi considerada. Portanto, o limite de quantificação do método de análise de amostras de água foi de 0,1 µg L^{-1}. Para solo, o LOQ do método foi de 10 µg kg^{-1}.

Após os resultados obtidos para os parâmetros avaliados na validação, os métodos desenvolvidos mostraram-se adequados para determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de água e solo.

4.7 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SOLO

A avaliação da aplicabilidade dos métodos foi realizada através da análise de 10 amostras de água, sendo 7 de rio e 3 de lavouras de arroz irrigado, além de 6 amostras de solo também de lavoura. A amostragem foi realizada em diferentes pontos da bacia hidrográfica do rio Soturno, localizado na região central do Rio Grande do Sul, Brasil.

Não houveram resíduos de trifenilestanho acima do limite de detecção do método nas amostras coletadas. Então, para testar sua aplicabilidade, duas amostras, sendo uma de água e uma de solo foram fortificadas em uma concentração conhecida do padrão de trifenilestanho e posteriormente foram analisadas. Os resultados da recuperação foram 76 e 72% para amostras de água e solo, respectivamente, dentro dos critérios de aceitação preconizados pelo INMETRO (2016) e SANTE (2017), entre 70 e 120%.

5 CONCLUSÕES

Métodos para a determinação de resíduos de trifenilestanho em água e solo por LC-MS/MS foram desenvolvidos. O método de aquisição de monitoramento de reações selecionadas (SEM) garante a seletividade do método, uma vez que, duas transições foram monitoradas. A ausência de picos do trifenilestanho foi verificada nas amostras "branco" de água e solo. A detecção foi verificada por injeção de uma curva analítica no solvente. O acoplamento da cromatografia líquida com espectrometria de massas em série promoveu alta seletividade e detectabilidade. Além disso, fornece análise qualitativa e quantitativa dos fragmentos selecionados de cada analito no modo de aquisição SRM.

A técnica SPE foi eficaz no preparo de amostras de água para a determinação de resíduos de trifenilestanho. A fase estacionária empregada no cartucho revelou-se eficaz na retenção dos resíduos de trifenilestanho, considerando que o pH da amostra foi ajustado para 9 aumentando assim a retenção do composto. Volumes de amostras de 50 a 200 mL não causaram perda durante a percolação. Além disso, a acidificação do solvente de eluição foi essencial para a remoção total do analito do cartucho.

O método QuEChERS provou ser muito versátil no preparo de amostra para a extração de resíduos de TPhT em solo. O planejamento de experimentos foi essencial para aumentar a recuperação de trifenilestanho, uma vez que, apresenta interação forte no solo. A adição de ácido e o efeito *salting out* foram eficazes para alcançar uma precisão adequada na etapa de preparo da amostra. A etapa de limpeza empregando d-SPE foi rápida e eficiente, entretanto a calibração empregando branco da matriz fortificada foi utilizada para calcular a concentração nas amostras, a fim de evitar erros de efeito da matriz.

Os parâmetros de validação foram de acordo com SANTE (2017) com recuperações de 84 a 113% para amostras de água e de 72 a 99% para amostras de solo, bem como desvio padrão relativo (RSD) de 3 a 18% e 2 a 7% para água e solo, respectivamente, considerando ensaios precisão e precisão intermediária.

Foram alcançados coeficientes de determinação adequados (r^2> 0,99) para amostra de água e solo. Os valores de LOQs e LODs foram 0,1 e 0,03 µg L^{-1} para água e 10 e 3,3 µg kg^{-1} para solo, respectivamente. Os métodos propostos pode ser introduzidos em rotinas de laboratório, pois foram aplicados a 10 amostras de águas

superficiais e 6 amostras de solo sem apresentar problemas. Embora não haja resíduos de TPhT nas amostras, os resultados de adição padrão indicaram que os métodos propostos são adequados para a determinação de resíduos de trifenilestanho em amostras de água e solo.

REFERÊNCIAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro, 43 p, 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS – Atlas Irrigação: Uso da água na agricultura irrigada – 2017 – <http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/AtlasIrrigacao-UsodaAguanaAgriculturaIrrigada.pdf> – Acesso em: Março 2018.

AGUERRE, S.; BANCON-MONTIGNY, C.; LESPES, G.; POTIN-GAUTIER, M. Solid phase microextraction (SPME): a new procedure for the control of butyl- and phenyltin pollution in the environment by GC-FPD. **The Analyst**, v. 125, p. 263-268, 2000.

ALBERTI, E. A. Influência do uso da terra em variáveis limnológicas no rio Soturno, Rio Grande do Sul-Brasil. 2015. 100f. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Resolução – RE n° 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em Jan 2018.

ARNOLD, C.G.; WEIDENHAUPT, A.; DAVID, M.M.; MÜLLER, S.R.; HADERLEIN, S.B.; SCHWARZENBACH, R.P.. Aqueous speciation and l-octanol-water partitioning of tributyl- and triphenyltin: effect of pH and ion composition. **Environmental Science & Technology**, v. 31, p. 2596-2602, 1997.

BÉKRI, K.; SAINT-LOUIS, R.; PELLETIER, É. Determination of tributyltin and 4-hydroxybutyldibutyltin chlorides in seawater by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 578, p. 203-212, 2006.

BERTO, D.; GIANI, M.; BOSCOLO, R.; COVELLI, S.; GIOVANARDI, O.; MASSIRONI, M.; GRASSIA, L. Organotins (TBT and DBT) in water, sediments, and gastropods of the southern Venice lagoon (Italy). **Marine Pollution Bulletin**, v. 55, p. 425-435, 2007.

BIRJANDI, A. P.; BIDARI, A.; REZAEI, F.; HOSSEINI, M. R. M.; ASSADI, Y. Speciation of butyl and phenyltin compounds using dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography-flame photometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1193, p. 19-25, 2008.

BORGES, K. B.; DE FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BOWLES, K. C.; APTE, S. C.; HALES, L. Determination of butyltin species in natural waters using aqueous phase ethylation and off-line room temperature trapping. **Analytica Chimica Acta**, v. 477, p. 103-111, 2003.

BOWLES, K. C.; TILTMAN, M. D.; APTE, S. C.; HALES, L. T.; KALMAN, J. Determination of butyltins in environmental samples using sodium tetraethylborate derivatisation: characterization and minimisation of interferences. **Analytica Chimica Acta**, v. 509, p.127-135, 2004.

BRASIL. Decreto n°. 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jan. 1997. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm#art98>. Acesso em Dez 2017.

BRASIL. Justiça proíbe uso de agrotóxico mertin 400 em lavouras de arroz irrigado no rs. **Ministério Público do Estado do Rio Grande do Sul**, 14 mar. 2017. Disponível em: <http:// www.mprs.mp.br/noticias/ambiente/43687/>. Acesso em: 15 mar. 2018

BRASIL. Lei n°. 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 11 jul. 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm>. Acesso em 31 Jan. 2018.

BRASIL. Lei n°. 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>. Acesso em. Fev 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Manual de Garantia da Qualidade Analítica. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. Brasília: MAPA/ACS, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 de setembro de 2017. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html>. Acesso em Fev 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 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 2011a. Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em Dez 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Procedimentos de vigilância em saúde ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em 24 jan. 2018.

BRAVO, M.; LESPES G.; DE GREGORI, I.; PINOCHET, H.; GAUTIER, M. P. Determination of organotin compounds by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography–pulsed flame-photometric detection (HS-SPME–GC–PFPD). **Analytica Bioanalytical Chemistry**, v.383, p. 1082–1089, 2005.

BRAVO, M.; VALENZUELA, A., FUENTES, E.; QUIROZ, W. Critical evaluation of fiber coatings for organotin determination by using solid phase microextraction in headspace mode. **Journal of Chromatography A**, v. 1223, p. 9-14, 2012.

CALDAS, S. S; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G. PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos 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.

CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; PENÃLVER, R.; CACHO, J. I.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Solid-phase microextraction followed by gas chromatography for the speciation of organotin compounds in honey and wine samples: A comparison of atomic emission and mass spectrometry detectors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, p. 66-73, 2012.

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Disponível em: <http://cetesb.sp.gov.br/solo/qualidade-do-solo/#>. Acesso em: Março 2018.

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

COLE, R. F.; MILLS, G. A.; PARKER, R.; BOLAM, T.; BIRCHENOUGH, A.; KRÖGER, S.; FONES, G. R. Trends in the analysis and monitoring of organotins in the aquatic environment. **Trends in Environmental Analytical Chemistry,** v. 8, p. 1-11, 2015.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**, 2ª ed, Campinas, SP: Ed. UNICAMP, 2009.

COSCOLLÀ, C.; NAVARRO-OLIVARES, S.; MARTÍ, P.; YUSÀ, V. Application of the experimental design of experiments (DoE) for the determination of organotin compounds in water samples using HS-SPME and GC–MS/MS. **Talanta**, v. 119, p. 544–552, 2014.

COSTA, L. L. F.; SANT'ANA, E. S.; SUCHARA, E. A.; BENATO, V. S.; CARASEK, E. Determinação de herbicidas usados no cultivo de arroz irrigado na região sul do Estado de Santa Catarina através da SPME-GC-ECD. **Química Nova**, v. 31, p. 79-83, 2008.

DE BRITO, F. C.; JOSHI, R. C. The golden apple snail pomacea canaliculata: a review on invasion, dispersion and control. **Outlooks on Pest Management**, v. 27, p. 157-163, 2016.

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

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

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

EMBRAPA – Classificação de solos – 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/solos/sibcs/classificacao-de-solos>.Acesso em: Março 2018.

EMBRAPA (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA), Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, 3 ed. p. 353. Brasília, DF, 2013.

ES, H. V. A New Definition of Soil. **CSA News Magazine**, v. 62, p. 20-21, 2017

EUROPEAN UNION, COUNCIL DIRECTIVE. 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. Disponível em: <http://eurlex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:31998L0083>. Acesso em: Jan 2018.

EVANS, O.; KAUFFMAN, P.; VONDERHEIDE, A. P.; WYMER, L. J.; MORGAN, J. N. The determination of pesticidal and non-pesticidal organotin compounds in water matrices by in situ ethylation and gas chromatography with pulsed flame photometric detection. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 155–164, 2009.

FEPAM - Fundação Estadual de Proteção Ambiental. Disponível em <http://www.fepam.rs.gov.br/qualidade/qualidade_jacui/jacui.asp>. Acesso em Dez de 2017.

FILHO, L. L. V. D. Mapeamento de unidades de revelo da sub-bacia hidrográfica do rio Soturno/RS. 2007. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M.Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Química Nova**, v. 26, p. 708-716, 2003.

GOMES, M. A. F.; CERDEIRA, A. L.; SPADOTTO, C. A. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. 2013 Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/html. Acesso em: Jan de 2018.

GONZÁLEZ-TOLEDO, E.; COMPAÑÓ, R.; PRAT, M. D.; GRANADOS, M. Determination of triorganotin species in water samples by liquid chromatography–electrospray-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 946, p. 1-8, 2002.

GOVERNO DO BRASIL – Recursos Hídricos – 2010 – Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2010/11/recursos-hidricos> – Acesso em: Fevereiro 2018.

GOVERNO DO BRASIL– Águas residuais são foco do Dia Mundial da Água 2017 – 2017 – Disponível em: < http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2017/03/aguas-residuais-sao-foco-do-dia-mundial-da-agua-2017> – Acesso em: Fevereiro 2018.

GRIZA, F. T.; ORTIZ, K. S.; GEREMIAS, D.; THIESEN, F. V.; Avaliação da contaminação por organofosforados em águas superficiais no município de Rodinha – Rio Grande do Sul. **Química Nova,** v. 31, p. 1631-1635, 2008.

GUI, W.; TIAN, C.; SUN, Q.; LI, S.; ZHANG, W.; TANG, J.; ZHU, G. Simultaneous determination of organotin pesticides by HPLC-ICP-MS and their sorption, desorption, and transformation in freshwater sediments. **Water Research**, v. 95, p. 185-194, 2016.

HAMASAKI, T. Simultaneous determination of organotin compounds in textiles by gas chromatography–flame photometry following liquid/liquid partitioning with tert-butyl ethyl ether after reflux-extraction. **Talanta**, v. 115, p. 374–380, 2013.

HEROULT, J.; BUENO, M.; POTIN-GAUTIER, M.; LESPES, G. Organotin speciation in French brandies and wines by solid-phase microextraction and gas chromatography—Pulsed flame photometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1180, p. 122-130, 2008.

HEROULT, J.; ZULIANI, T.; BUENOA, M.; DENAIX, L.; LESPES, G. Analytical advances in butyl-, phenyl- and octyltin speciation analysis in soil by GC-PFPD. **Talanta**, v. 75, p. 486-493, 2008.

HIEMSTRA, M.; DE KOK, A. Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal Chromatography A**, v. 1154, p. 3-25, 2007.

HOCH, M. Organotin compounds in the environment – an overview. **Applied Geochemitry**, v. 16, p. 719-743, 2001.

IKONOMOU, M. G.; FERNANDEZ, M. P.; HE, T.; CULLON, D. Gas chromatography–high-resolution mass spectrometry based method for the simultaneous determination of nine organotin compounds in water, sediment and tissue. **Journal of Chromatography A**, v. 975, p. 319-333, 2002.

INABA, K.; SHIRAISHI, H.; SOMA, Y. Effects of salinity, pH and temperature on aqueous solubility of four organotin compounds. **Water Research**, v. 29, 1415-1417, 1995.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos: DOQ-CGCRE-008 rev 05**. Rio de Janeiro. 31 p. 2016.

IUPAC (INTERNETIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY). Compendium of Chemical Terminology. 2012. Disponível em: < http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>. Acesso em: Jan de 2018.

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

KÖHNE, J. M.; KÖHNE, S.; ŠIMUNEK, J. A review of model applications for structured soils: b) Pesticides transport. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 104, p. 36-60, 2009.

LANÇAS, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE)**. São Carlos, Ed. RiMa, 4ª Ed, 2004.

LEVINE, K. E.; YOUNG, D.; AFTON, S. E.; HARRINGTON, J. M.; ESSADER, A. S.; WEBER, F. X.; FERNANDO, R. A.; THAYER, K.; HATCH, E. E.; ROBINSON, V. G.; WAIDYANATHA, S. Development, validation, and application of an ultra-performance liquid chromatography–sector field inductively coupled plasma mass spectrometry method for simultaneous determination of six organotin compounds in human serum. **Talanta**, v. 140, p. 115-121, 2015.

LI, T.; SHE, Y.; WANG, M.; LIU, G.; YU, H.; WANG, J.; WANG, S.; JIN, F.; JIN, M.; SHAO, H. Simultaneous determination of four organotins in food packaging by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 181, p. 347-353, 2015.

LISCIO, C.; DI CARRO, M.; MAGI, E. Comparison of two analytical methods for the determination of organotin compounds in marine organisms. **Comptes Rendus Chimie**, v. 12, p. 831-840, 2009.

MAGI, E.; LISCIO, C.; DI CARRO, M. Multivariate optimization approach for the analysis of butyltin compounds in mussel tissues by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1210, p. 99-107, 2008.

MALIK, A. K.; GRUNDMANN, M.; MATYSIK, F. Development of a fast capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry method for the speciation of organotin compounds under separation conditions of high electrical field strengths. **Talanta**, v. 116, p.559-562, 2013.

MERTIN® 400. PMC Organometallix Inc. Basilêia, Suíça: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, 2016. Bula de agrotóxico.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA) – Agrotóxicos – 2018. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>. Acesso em: Jan 2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA) – Água – 2018 – Disponível em: <http://www.mma.gov.br/agua> – Acesso em: Fevereiro 2018.

MIZUISHI, K.; TAKEUCHI, M.; HOBO, T. Trace analysis of tributyltin and triphenyltin compounds in seawater by gas chromatography–negative ion chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 800, p. 267-273, 1998.

MOSCOSO-PÉREZ, C.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, V.; MOREDA-PIÑEIRO, J.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Determination of organotin compounds in waters by headspace solid phase microextraction gas chromatography triple quadrupole tandem mass spectrometry under the European Water Framework Directive. **Journal of Chromatography A**, v. 1385, p. 85-93, 2015.

NAKAMURA, E. Avaliação das Concentrações de Pesticidas Organoclorados em Águas Superficiais pela Otimização da Técnica USAEME. 2015. Dissertação de Mestrado – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina.

NDUNGU, K.; MATHIASSON, L. Microporous membrane liquid–liquid extraction technique combined with gas chromatography mass spectrometry for the determination of organotin compounds. **Analytica Chimica Acta**, v. 404, p. 319-328, 2000.

NENG, N. R.; SANTALLA, R. P.; NOGUEIRA, J. M. F. Determination of tributyltin in environmental water matrices using stir bar sorptive extraction with in-situ derivatisation and large volume injection-gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 126, p. 8-11, 2014.

NETO, M. L. F.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira, **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, p. 69-78, 2009.

NOVENTA, S.; BARBARO, J.; FORMALEWICZ, M.; GION, C.; RAMPAZZO, F.; BRUSÀ, R. B.; GABELLINI, M.; BERTO, D. A fast and effective routine method based on HS-SPME–GC–MS/MS for the analysis of organotin compounds in biota samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 858, p. 66-73, 2015.

OLIVEIRA, R. C.; SANTELLI, R. E. Occurrence and chemical speciation analysis of organotin compounds in the environment: A review. **Talanta**, v. 82, p. 9-24, 2010.

ORSO, D.; FLORIANO, L.; RIBEIRO, L.C.; BANDEIRA, N.M.G.; PRESTES, O.D.; ZANELLA, R. Simultaneous determination of multiclass pesticides and antibiotics in honey samples based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 1638-1653, 2015.

PINHEIRO, A.; MORAES, J. C. S.; SILVA, M. R. Pesticidas no perfil de solos em áreas de plantação de cebolas em Ituporanga, SC. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 533-538, 2011.

PROTAS, J. F. D.; MADAIL, J. C. M. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos, **Embrapa Meio Ambiente**. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/index.htm> Acesso em Março de 2018

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Liberato**, v. 10, p. 149 - 158, 2009.

RIZZETTI, T.M.; KEMMERICH, M.; MARTINS, M.L.; PRESTES, O.D.; ADAIME, M.B.; ZANELLA, R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticides multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 196, p. 25-33, 2016.

ROZET, E. et al. Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, p. 111-125, 2007.

RÜDEL, H. Case study: bioavailability of tin and tin compounds. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 180-189, 2003.

SANO, T.; TAKAGI, H.; NAGANO, K.; NISHIKAWA, M. Analysis of triorganotin compounds in water samples by hydrophilic interaction liquid chromatography–electrospray ionization-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 4344-4346, 2010.

SANTE, EUROPEAN COMMISSION. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. **Document n° SANTE/11813/2017**, 22 de novembro 2017.

SECRETARIA DE PLANEJAMENTO, GOVERNANÇA E GESTÃO (SPGG) – Tipos de solo: O RS apresenta grande variedade de tipos de solos – 2017 – Disponível em:< http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/solos> – Acesso em: Março 2018

SECRETARIA ESTADUAL DA SAÚDE (SES) - RS. Portaria SES RS nº 320, de 28 de abril de 2014. Estabelece parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de

potabilidade para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no RS. **Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, RS, 24 abr. 2014. Disponível em: < http://www.saude.rs.gov.br/upload/1429882586_Portaria%20320-2014.pdf

SEGOVIA-MARTÍNEZ, L.; BOUZAS-BLANCO, A.; CAMPÍNS-FALCÓ, P.; SECO-TORRECILLAS, A. Improving detection limits for organotin compounds in several matrix water samples by derivatization-headspace-solid-phase microextraction and GC–MS. **Talanta**, v. 80, p.1888-1893, 2010.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F. Perdas de agrotóxicos, **Embrapa Meio Ambiente**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_39_210200792814.html>. Acesso em 10 fev 2018.

Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. Ficha de informações de segurança de produtos químicos – FISPQ, Mertin 400, 2017.

THAYER, J.S. Organometallic compounds and living organisms. **Academic Press**, p. 216-224, 1984.

TOLOSA, I.; READMAN, J.W. Simultaneous analysis of the antifouling agents: tributyltin, triphenyltin and IRGAROL 1051 in marina water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 335, p.267-274, 1996.

TSUDA, T.; AOKI, S.; KOJIMA, M.; HARADA, H. The influence of pH on the bioconcentration of tri-n-butyltin chloride and triphenyltin chloride in carp. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 95, p.151-153, 1990a.

ÜVEGES, M.; ABRANKÓ, L.; FODOR, P. Optimization of GC–ICPMS system parameters for the determination of butyltin compounds in Hungarian freshwater origin sediment and mussel samples. **Talanta**, v. 73, p. 490-497, 2007.

VALENZUELA, A.; LESPES, G.; QUIROZ, W.; AGUILAR, L. F.; BRAVO, M. A. Speciation analysis of organotin compounds in human urine by headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography with pulsed flame photometric detection. **Talanta**, v. 125, p. 196-203, 2014.

VELTMAN, K.; HUIJBREGTS, M.A.J.; VAN DEN HEUVEL-GREVE, M.J.; VETHAAK, A.D.; HENDRIKS, A.J. Organotin accumulation in an estuarine food chain: comparing field measurements with model estimations. **Marine Environmental Research**, v. 61, p. 511-530, 2006.

WANG, X.; DING, L.; ZHANG, H.; CHENGA, J.; YU, A.; ZHANG, H.; LIUB, L.; LIU, Z.; LI, Y. Development of an analytical method for organotin compounds in fortified flour samples using microwave-assisted extraction and normal-phase HPLC with UV detection. **Journal of Chromatography B**, v. 843, p. 268-274, 2006.

WARE, G.W. **The Pesticide Book**. 4ª ed. Tucson, Arizona: Thomson Publications, 1993.

WHO – **Word Health Organization**. Geneva, 1999. Disponível em: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad13.pdf >. Acesso em Jan 2018.

WU, J.; MESTER, Z.; PAWLISZYN, J. Determination of tributyltin by automated in-tube solid-phase microextraction coupled with HPLC-ES-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, p.159-165, 2001.

XIAO, Q.; HU, B.; HE, M. Speciation of butyltin compounds in environmental and biological samples using headspace single drop microextraction coupled with gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1211, p. 135-141, 2008.

YÁÑEZ, J.; RIFFO, P.; MANSILLA, H. D.; BRAVO, M.; QUIROZ, W.; SANTANDER, P. Speciation analysis of organotin compounds (OTCs) by a simultaneous hydride generation–liquid/liquid extraction and GC–MS determination. **Microchemical Journal**, v. 126, p. 460-465, 2016.

YI, A. X.; LEUNG, K.M.Y.; LAM, M.H.W.; LEE , J.; GIESY, J.P. Review of measured concentrations of triphenyltin compounds in marine ecosystems and meta-analysis of their risks to humans and the environment. **Chemosphere**, v. 89, p. 1015-1025, 2012.

ZANELLA, R. *et al*. High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis, editado por Tomasz Tuzimski e Joseph Sherma. CRC Press Taylor & Francis Group 2015. **Chapter 13 – Quantitative Analysis and Method Validation**, p. 303-324, 2015.

ZULIANI, T.; LESPES, G.; MILAČIČ, R.; ŠČANČAR, J. Development of the extraction method for the simultaneous determination of butyl-, phenyl- and octyltin compounds in sewage sludge. **Talanta**, v. 80, p. 1945-1951, 2010.

ZULIANI, T.; LESPES, G.; MILAČIČ, R.; ŠČANČAR, J.; POTIN-GAUTIER, M. Comprehensive study of the parameters influencing the detection of organotin compounds by a pulsed flame photometric detector in sewage sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, p. 281-285, 2008.