

Universidade Federal do Rio Grande

**DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DO MÉTODO DE
MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO
DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA**

Milena Rodrigues Martinelli da Silva

2018



**DESENVOLVIMENTO, VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DO MÉTODO DE
MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO
DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA**

Milena Rodrigues Martinelli da Silva

Projeto de Conclusão de curso apresentado a Universidade Federal do Rio Grande, como um dos requisitos necessários à Graduação de Engenharia Agroindustrial Agroquímica.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves

Co-orientador: Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins

Santo Antônio da Patrulha
Dezembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Chegou a hora de agradecer, inicialmente a Deus que esteve sempre ao meu lado em todos os momentos, que não foi fácil.

Aos meus pais, pois batalharam muito e duramente para que eu conseguisse realizar esse sonho e acompanharam de “perto” os altos e baixos sem que me deixassem nem pensar em desistir. Ao meu irmão por seguir firme e forte como filho “único” e aguentou firme. Aos meus avós, em memória. E a minha vó Henes, por todas as palavras de força todas as quartas-feiras pela manhã.

Aos orientadores Fabio Ferreira Gonçalves e Manoel Leonardo Martins por toda paciência e dedicação para partilhar de seus conhecimentos para engrandecer e tornar realidade o sonho de todos os alunos, nos desafiando e incentivando.

A Universidade, principalmente a todos os meus colegas de laboratório, que me “salvaram” por diversas vezes para conseguir chegar onde cheguei e que acompanharam meu percurso ao longo dos últimos anos, eu deixo uma palavra sincera de gratidão.

Ao Leandro porque sem essa paciência eu jamais teria os momentos de leveza e descontração necessários para aguentar firme, esses momentos foram essenciais, serei eternamente grata, porque eu sei que não foi fácil. Aos meus amigos que me acolheram como família, sejam eles feitos aos longo desses cinco anos ou já de longas datas, eu quero que saibam que reconheço tudo que fizeram por mim, a força que incutiram no meu pensamento para não desistir e o conforto de saber que nunca estarei só e serei sempre capaz de tudo por maiores que sejam as dificuldades.

A quem não mencionei, mas fez parte da minha jornada, dedicando seu tempo e atenção eu deixo um profundo agradecimento porque com toda certeza tiveram um papel determinante nesta etapa da minha vida.

RESUMO

O uso exagerado de compostos químicos, como os agrotóxicos, pode causar danos à saúde e ao meio ambiente. É necessário realizar a determinação e quantificação destes compostos em água para que seja possível um maior controle baseado nas legislações e principalmente para uma melhora na qualidade das águas de abastecimentos. Neste trabalho foi realizado um estudo para desenvolvimento, validação e aplicação do método, utilizando DLLME (Extração Líquido-Líquido Dispersiva) e GC-MS (Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas), para determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de água. O método foi otimizado em termos de solvente extrator, dispersor, demulsificante, testando solventes e diferentes volumes. Os volumes de solventes que apresentaram melhor resultados foram: 120 μL para o solvente extrator (1-octanol) e 750 μL para solvente dispersor e demulsificante (Água Ultrapura). Na validação avaliou-se os seguintes parâmetros com os resultados dentro do que estabelecem as normas de validação: curva analítica e linearidade (com coeficiente de correlação próximo de 0,90) em todas as águas de abastecimento analisadas no presente estudo, limites de detecção e de quantificação (LOD variando de 0,25 a 0,5 mg L^{-1} e LOQ a partir de 0,5 mg L^{-1} para todos os compostos estudados), exatidão (recuperações entre 70 e 120%) e precisão (menor que 20%). Possibilitando comprovar a confiabilidade e desenvolvimento de um processo de extração para amostras de água de diferentes fontes de abastecimento no município de Santo Antônio da Patrulha no Estado do Rio Grande do Sul.

Palavras chaves: Água, DLLME, Agrotóxicos, GC-MS, Validação.

ABSTRACT

Exaggerated use of chemical compounds, such as pesticides, can cause harm to health and the environment. It is necessary to carry out the determination and quantification of these compounds in water so that greater control is possible based on the legislation and mainly for an improvement in the quality of the water supply. In this work a study was carried out for the development, validation and application of the method, using DLLME (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction) and GC-MS (Gas Chromatography coupled with mass spectrometry) for the determination of pesticide residues in water samples. The method was optimized in terms of solvent extractor, dispersant, demulsifier, solvent testing and different volumes. The volumes of solvents that presented the best results were: 120 μL for extractor solvent (1-octanol) and 750 μL for dispersing and demulsifying solvent (Ultrapure Water). In the validation, the following parameters were evaluated with the results of the validation norms: analytical curve and linearity (with correlation coefficient close to 0.90) in all the supply waters analyzed in the present study, detection limits and (LOD ranging from 0.25 to 0.5 mg L^{-1} and LOQ from 0.5 mg L^{-1} for all compounds studied), accuracy (recoveries between 70 and 120%) and precision (less than 20%). Making it possible to prove the reliability and development of an extraction process for water samples from different sources of supply in the municipality of Santo Antônio da Patrulha in the State of Rio Grande do Sul.

Keywords: Water, DLLME, pesticides, GC-MS, Validation.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Registro de contaminação.....	13
Figura 2: Analisador quadrupolar de massas com armadilhas de íons.	17
Figura 3: Cromatograma do composto: Diazinona	25
Figura 4: Cromatograma do composto: Fenitrothion	25
Figura 5: Cromatograma do composto: Fipronil.....	25
Figura 6: Cromatograma do composto: Bifentrina	25
Figura 7: Cromatograma do composto: Cipermetrina.....	26

INDICE DE TABELAS

Tabela 1: Analitos em estudo, suas classes e concentrações.	15
Tabela 2: Condições para identificação e quantificação dos analitos estudados.....	22
Tabela 3: Tipos de solventes e volumes testados.....	23
Tabela 4: Tipos de solventes dispersores e volumes testados.	23
Tabela 5: Compostos estudados, íons monitorados e tempo de retenção (t_r).....	24
Tabela 6: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para águas Ultrapura.....	27
Tabela 7: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para águas torneira.	27
Tabela 8: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para água de Poço tubular profundo.	28
Tabela 9: Limite de Detecção e Limite de Quantificação para os compostos estudados.	29
Tabela 10: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água Ultrapura).....	30
Tabela 11: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água Torneira).....	30
Tabela 12: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água de Poço tubular profundo).....	31
Tabela 13: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação (Água Ultrapura, Torneira e Poço tubular profundo).	32

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo Geral	11
2.2	Objetivos específicos.....	11
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1	Água	12
3.2	Contaminantes orgânicos.....	12
3.3	Agrotóxicos.....	13
3.4	Analitos	14
3.5	Técnica DLLME	15
3.6	Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas ITD (Ion Trap Detection).....	16
3.7	Validação	17
3.8	Seletividade	18
3.9	Curva analítica e linearidade.....	18
3.10	Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	19
3.11	Exatidão (Recuperação).....	19
3.12	Precisão.....	20
4	METODOLOGIA	21
4.1	Amostragem	21
4.2	Preparo das soluções	21
4.3	Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas ITD (Ion Trap Detection).....	21
4.4	Técnica DLLME	22
4.5	Validação dos métodos quantitativos.....	23
5	DISCUSSÃO E RESULTADOS	24
5.1	Determinação por GC-MS - ITD	24
5.2	Validação do método Determinação por GC-MS.....	26
5.2.1	Seletividade	26
5.2.2	Curva Analítica e Linearidade	26
5.2.3	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	28
5.2.4	Exatidão e Recuperação.....	29

5.2.5	Precisão Intermediária.....	31
6	APLICAÇÃO	32
7	CONCLUSÃO.....	33
8	REFERÊNCIAS	34
	ANEXOS	36
	Portaria RS/SES Nº 320 DE 24/04/2014.....	36
	Especificações dos compostos	39

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o uso de grandes quantidades de compostos químicos, especialmente na agricultura, permite um aumento significativo na produção com uma qualidade superior dos produtos. Porém, o uso inadequado, seja por excesso de aplicação, manejo inadequado do solo ou até por falta de controle da água de irrigação, pode fazer com que muitos desses compostos atinjam os recursos hídricos. É necessário lembrar da importância da água potável e a crescente escassez, principalmente pelo aumento da população mundial, para a manutenção da vida, do ambiente e de atividades relacionadas ao desenvolvimento econômico.

Apenas 0,1% do total de agrotóxicos aplicados chega ao alvo, ou seja, 99,9% deles acabam sendo dispensados no ambiente. Estes resíduos passam a causar efeitos desfavoráveis ao meio ambiente e ao homem, sendo acumulados no solo, ou carregados para as águas subterrâneas e/ou superficiais, podendo ainda sofrer fotólise ou serem carregados para outras áreas por ação dos ventos (RIBEIRO et al., 2007).

Para análise de águas, existem inúmeras técnicas analíticas disponíveis, entre elas a microextração líquido-líquido dispersiva, conhecida como DLLME que foi desenvolvida no presente trabalho. A DLLME é utilizada principalmente por ser uma técnica miniaturizada e apresentar baixo custo, ser rápida, ter eficiência comprovada e com possibilidade de aplicação diretamente em campo, por estes motivos completamente aplicável para o estudo desejado. Segundo Martins et. al (2014), a técnica utiliza um solvente dispersor, miscível no solvente extrator (fase orgânica) e na amostra (fase aquosa), bem como um solvente extrator, imiscível na fase aquosa, sendo baseada em um sistema ternário de solventes.

Considerando a importância do objeto de estudo, foi necessário desenvolver, validar e aplicar um método para analisar amostras de água, monitorando sua qualidade e contribuindo para os controles dos limites que foram utilizados, apontando possíveis problemas gerados pela contaminação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar o método, utilizando DLLME e GC-MS, para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento na região de Santo Antônio da Patrulha.

2.2 Objetivos específicos

- Otimizar as condições de extração do método por Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME);
- Verificar a eficiência do método utilizando Cromatografia Gasosa ITD (Ion Trap Detection) para determinação de resíduos de agrotóxicos em água de abastecimento.
- Validar o método segundo os parâmetros da legislação brasileira.
- Aplicar o método
- Verificar a qualidade da água de abastecimento em Santo Antônio da Patrulha.
- Adquirir conhecimentos aprofundados referentes a técnica desenvolvida.
- Testar diferentes solventes para verificar quais possuem melhor interação.
- Avaliar dentre os testes de solventes um melhor resultado.
- Otimizar o uso de solvente visando a redução.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Água

O propósito primário para a exigência de qualidade da água é a proteção à saúde pública. Os critérios adotados para assegurar essa qualidade têm por objetivo fornecer uma base para o desenvolvimento de ações que, se propriamente implementadas junto à população, garantirão a segurança do fornecimento de água através da eliminação ou redução à concentração mínima de constituintes na água conhecidos por serem perigosos à saúde (D'AGUILA et al., 2000).

Segundo Von Sperling (1998), independente da legislação, tem-se que os requisitos de qualidade de uma água são função do seu uso. Desta forma não existem muitos padrões específicos, mas sim o objetivo de atendimento a determinados requisitos de qualidade. Para água de abastecimento doméstico a mesma deve ser isenta de substâncias químicas e de organismos prejudiciais à saúde; adequada para serviços domésticos; ter baixa corrosividade e dureza e ser esteticamente agradável (baixa turbidez, cor, sabor e odor; ausência de microrganismos).

Outro fator importante que influencia diretamente no consumo de água potável está no aumento populacional e conseqüentemente uma necessidade de aumento na produção agrícola. A necessidade de água para a irrigação e para produção de alimentos se tornou um dos fatores que mais impõe pressão sobre os recursos hídricos. A agricultura é responsável por 70% da exploração global de água doce (FN et al., 2015).

3.2 Contaminantes orgânicos

Contaminante é definido como presença de qualquer agente (físico, químico ou biológico) no ambiente, formas e concentrações que possam ser nocivos para a saúde, a segurança ou para o bem-estar da população (FILHO, 2015).

Contaminantes orgânicos fazem parte de um grupo amplo de compostos de classes diferentes, dentre elas agrotóxicos, produtos químicos industriais, produtos de uso veterinário, fármacos, produtos para cuidados pessoais e muitos outros produtos provenientes da degradação dessas substâncias.

O consumo emergente de contaminantes comprova a dependência, principalmente, da agricultura para conseguir suprir as necessidades da população, como na alimentação, porém podendo prejudicar diretamente a saúde dos seres humanos e higiene. A principal forma de contaminação do solo e água é através do descarte inadequado dos resíduos desses contaminantes. A crescente utilização dos compostos orgânicos também aumenta

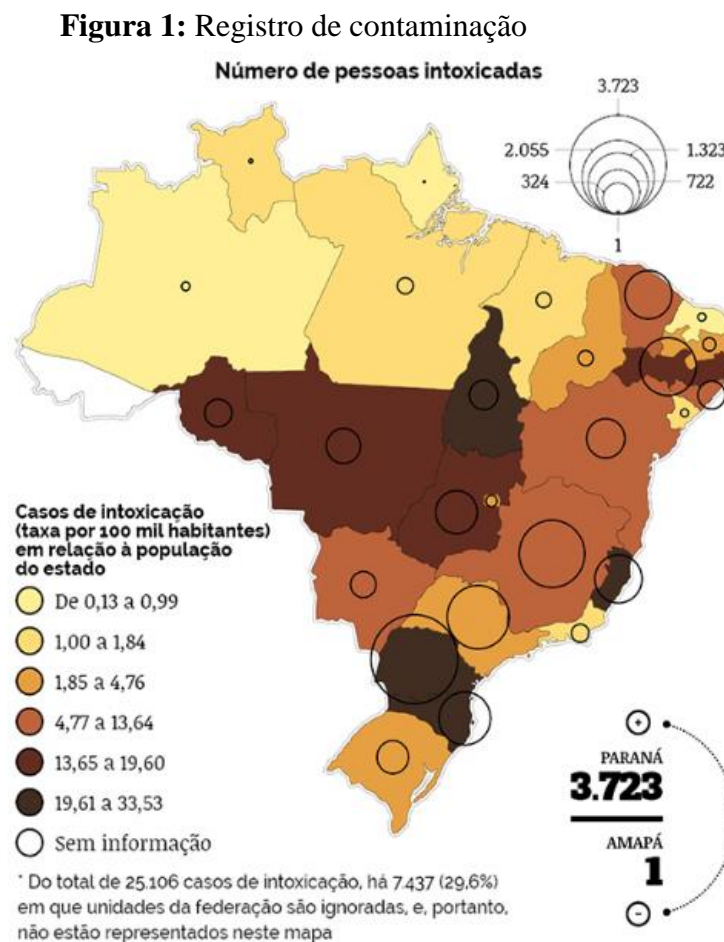
significativamente os estudos sobre os seus efeitos relacionando diretamente com as consequências diretas na saúde pública (SECCHI, 2001).

Os contaminantes orgânicos têm sido objeto de discussão em diversos grupos de proteção ambiental (WILLE et al., 2012).

3.3 Agrotóxicos

Uma atenção especial deve ser dada a esses compostos que são os produtos químicos mais perigosos, pois são produzidos em larga escala sendo altamente tóxicos.

Desde 2008, o Brasil é o país campeão em uso de agrotóxicos, consumindo 20% do que é comercializado mundialmente. Não bastasse, o manuseio não parou de crescer. Entre 2000 e 2014, o Brasil saltou de cerca de 170 mil para 500 mil toneladas, aumentou de 194% em 15 anos (BOMBARDI, 2017).



Fonte: Bombardi, 2017.

O mapa apresentado na figura 1 descreve casos entre 2007 e 2014, de acordo com o número de pessoas intoxicadas, de um total de 25.106 casos de intoxicação, há 7.437 (aproximadamente 30%) são praticamente ignorados pelas unidades da federação logo não estão registrados no mapa (BOMBARDI, 2017).

Ao longo dos anos os fabricantes de agrotóxicos buscam produtos que tenham uma toxicidade aguda alta no controle de pragas (efeitos adversos que ocorrem em um curto período de tempo, geralmente até 14 dias, após a exposição de um organismo a única dose da substância (poluente) ou depois de múltiplas doses em até 24 horas) e uma toxicidade crônica baixa (efeitos adversos que ocorrem em um organismo durante a maior parte do seu ciclo de vida) (SANTOS C.A., 2013).

Os organoclorados que eram muito utilizados antigamente, praticamente, deixaram de ser produzidos, mesmo com sua alta eficiência em eliminar os microrganismos, têm um tempo de permanência no campo indefinido e têm toxicidades crônicas substanciais, deixando de ser tão visados na agricultura.

O consumo de agrotóxico é entendido como um recurso para o aumento da produtividade na agricultura, principalmente no Brasil. Scorza et. al. (2010), explicam que os agrotóxicos são aplicados diretamente nas plantas ou no solo, e mesmo aqueles aplicados diretamente nas plantas têm como destino final o solo, sendo lavados das folhas através da ação da chuva ou da água de irrigação e diretamente nos produtos agrícolas são diretamente arrastados para as águas subterrâneas, por lixiviação.

Os lençóis freáticos subterrâneos podem ser contaminados por pesticidas através da lixiviação da água e da erosão dos solos. Esta contaminação também pode ocorrer superficialmente, devido à intercomunicabilidade dos sistemas hídricos, atingindo áreas distantes do local de aplicação do agrotóxico. Portanto, a contaminação de um sistema hídrico não representa só a contaminação da água consumida pela população local, mas também a contaminação de toda a população abastecida por esta água contaminada (VEIGA et al., 2006).

3.4 Analitos

Os compostos que foram analisados no presente trabalho foram escolhidos baseados na Portaria Estadual do Ministério da Saúde no Rio Grande do Sul nº 320/2014, que estabelece parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no Rio Grande do Sul.

Através da legislação, tem-se as quantidades limites permitidas de cada um dos compostos de acordo com a portaria citada. A tabela 1 apresenta os analitos em estudo e seus limites de concentração indicados pela legislação.

Tabela 1: Analitos em estudo, suas classes e concentrações.

Composto	Classe	Valor máximo permitido (µg/L)
Bifentrina	Inseticida, formicida e acaricida	120
Cipermetrina	Inseticida e formicida	300
Clorotalonil	Fungicida	180
Diazinona	Inseticida e acaricida	12
Difenoconazol	Fungicida	60
Fenitrotiona	Inseticida e formicida	30
Fipronil	Inseticida, formicida e cupinicida	1,2
Lambda Cialotrina	Inseticida	30

Os analitos foram escolhidos baseados na disponibilidade para o estudo, a utilização nas plantações principalmente do município e capacidade de identificação pela técnica. As especificações dos compostos em anexo foram obtidas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003).

A variação nos valores máximos permitidos é algo que chama atenção, o que podemos perceber é que para o composto Fipronil (que apresenta menor valor máximo permitido), neste caso ele é um agrotóxico com um poder de bioacumulação em peixes, sendo pouco solúvel em água, de forma a segregar o problema de contaminação para seres vivos e até para seres humanos.

3.5 Técnica DLLME

A microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction* – DLLME) é uma técnica de extração que atende aos requisitos de miniaturização, baixo custo, rapidez e eficiência (recuperação) na extração e alto potencial para aplicação em campo (MORAIS, BEGNINI, JARDIM, 2013).

A técnica DLLME é normalmente realizada em duas etapas. A primeira etapa consiste na injeção de uma mistura adequada dos solventes extrator e dispersor na amostra aquosa contendo os analitos. Nesta etapa, o solvente extrator é disperso na fase aquosa em gotas muito finas extraindo os analitos. Esta dispersão do solvente extrator é favorecida pelo solvente dispersor, que deve ser solúvel na amostra aquosa e na fase orgânica. Devido à grande área superficial entre o solvente extrator e a amostra aquosa, o equilíbrio é atingido rapidamente e a extração é independente do tempo, sendo esta a principal vantagem deste método (MARTINS, PRIMEL, CALDAS, et al., 2014).

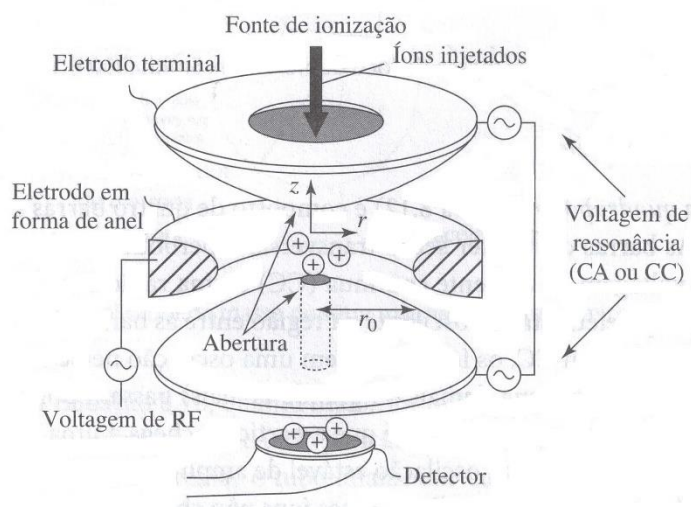
A segunda etapa ocorre após a adição do demulsificante que será responsável por uma melhora na extração dos analitos presentes na água, migrando para o solvente extrator, em seguida essa gota suspensa é coletada e disposta em um vial, pronta para análise por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas com armadilha de íons (GC-MS).

3.6 Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas ITD (Ion Trap Detection).

As técnicas de separação, tais como cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (HPLC) e eletroforese capilar (CE), vêm se destacando na química analítica pela capacidade de realizarem análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos (RIBANI et al., 2004).

O GC-MS ITD conhecido também como armadilha de íons é composta de dois eletrodos hiperbólicos terminais e um eletrodo em forma de anel (os eletrodos terminais são conectados), o esquema pode ser visualizado na figura abaixo (PAVIA, LAMPMAN, KRIZ, VYVYAN, 2013). Instrumentos ITD são, de alguma forma, mais sensíveis que instrumentos quadrupolos lineares apesar da capacidade de resolução semelhante.

Figura 2: Analisador quadrupolar de massas com armadilhas de íons.



Fonte: Pavia et al, 2013

Na figura acima é possível identificar uma corrente alternada (CA ou CC) e um potencial RF (radiofrequência) que são aplicados entre os eletrodos terminais e o eletrodo em forma de anel. Neste equipamento todos os íons estão na armadilha ao mesmo tempo, oscilando em trajetórias concêntricas. Ao aplicar uma varredura no potencial RF os íons são direcionados a uma trajetória instável no sentido do detector, esse processo é chamado de ejeção ressonante (PAVIA, LAMPMAN, KRIZ, VYVYAN, 2013).

3.7 Validação

Validação de métodos analíticos “é o processo pelo qual é estabelecido, por estudos de laboratório, que as características executadas do método satisfazem os requisitos para as aplicações analíticas praticadas”. As características analíticas típicas usadas na validação de métodos analíticos são: exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, robustez ou resistência e conformidade do sistema (SANTOS et al., 2014).

A validação pode ser dividida em dois tipos:

O primeiro, chamado de *validação no laboratório* (in house validation), consiste das etapas de validação dentro de um único laboratório, seja para validar um método novo que tenha sido desenvolvido localmente ou para verificar que um método adotado de outras fontes está bem aplicado. A validação no laboratório é utilizada nas etapas preliminares do desenvolvimento de uma metodologia e na publicação de artigos para revistas científicas, em que são avaliadas todas as características de desempenho da validação da metodologia, porém sem verificar a reprodutibilidade. Pode-se considerar esta etapa como sendo preliminar à *validação completa* (full validation) (INMETRO, 2007).

O segundo tipo, validação completa, envolve todas as características de desempenho e um estudo inter-laboratorial que é utilizado para verificar como a metodologia se comporta com uma determinada matriz em vários laboratórios, estabelecendo a reprodutibilidade da metodologia e a incerteza expandida associada à metodologia como um todo. Só assim a metodologia pode ser aceita como uma metodologia oficial para uma determinada aplicação (RIBANI et al., 2004).

Neste trabalho os parâmetros de validação do método analítico que foram avaliados são: especificidade/seletividade, curva analítica, linearidade, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e Robustez (BRITO et al., 2003).

3.8 Seletividade

A seletividade de um método se refere à extensão, até a qual ele pode determinar analito(s) específico(s) numa mistura complexa sem interferência dos outros componentes na mistura.

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra completa. Se não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (RIBANI et al., 2004).

Deve ser feita comparando o extrato sem a substância de interesse e o extrato adicionada com a substância (padrão). O método é seletivo quando nenhum interferente eluir no tempo de retenção da substância de interesse.

3.9 Curva analítica e linearidade

De um modo geral a linearidade é dita como a capacidade de um método obter resultados diretamente proporcionais as concentrações das substâncias analisadas, de acordo com a faixa de interesse e pode ser expressa na forma de uma equação de reta conhecida como curva analítica.

É possível estimar os coeficientes de uma curva analítica a partir do conjunto de dados experimentais, pelo método conhecido como regressão linear. Neste método são obtidos os valores dos coeficientes de regressão linear (a e b) e possibilita o cálculo do coeficiente de correlação (R^2).

Um coeficiente de correlação maior que 0,99 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. Este coeficiente pode variar de acordo com as normas

de validação adotadas. Para a ANVISA (2003) o valor maior que 0,99 é considerado aceitável. Quanto mais próximo do valor 1,0 comprova que a curva apresenta uma menor dispersão do conjunto de pontos experimentais e conseqüentemente menor será a incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

Para a construção gráfica, a ANVISA especifica um número mínimo de cinco níveis de concentração (ANVISA, 2003). A faixa de aplicação corresponde ao intervalo entre o valor superior e inferior do analito, que atenda aos requisitos de precisão e exatidão (RIBANI et al., 2004).

3.10 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração de um composto que apresente um sinal 10 vezes maior do que o ruído.

Já o limite de detecção representa a menor concentração de uma curva analítica em que um composto possa ser detectado, porém sem necessidade de quantificação. O limite de detecção pode ser estimado como 3 vezes maior do que o ruído.

3.11 Exatidão (Recuperação)

É uma forma de apresentar os dados e demonstrar que existe coerência com valores já conhecidos e considerados como verdadeiros. Através da exatidão também é possível identificar erros sistemáticos nos métodos, é possível considerá-lo então como um parâmetro relevante para o desenvolvimento de métodos analíticos.

A exatidão é avaliada em termos de recuperação onde uma quantidade conhecida das substâncias são adicionadas na porção analítica do material a ser analisado, posteriormente extraída e quantificada, onde os valores considerados devem variar de 70 a 120%.

A exatidão percebe a existência de erros sistemáticos, sendo um dos parâmetros mais relevantes para a análise do desempenho de um método analítico. Caso não haja um material de referência certificado, esta pode ser medida por ensaios de fortificação e recuperação, sendo calculada pela Equação 1 (FAO, 2001):

$$R(\%) = \frac{C1 - C2}{C3} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde C1 representa a concentração determinada na amostra fortificada, C2 é a concentração determinada na amostra não fortificada e C3 representa a concentração usada para fortificação.

3.12 Precisão

A precisão é determinada em termos de repetitividade e precisão intermediária (LANÇAS, 2004). É possível determinar através de resultados repetidos de ensaios independentes, sejam eles na mesma amostra ou amostras semelhantes, porém nas mesmas condições, mesmo procedimento, mesmo equipamento, com pequenos intervalos e até mesmo o mesmo analista.

A precisão é avaliada através de uma estimativa do desvio padrão absoluto, que devem ser superiores a 20. E o cálculo desse desvio padrão é feito através da equação 2.

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \text{Equação 2}$$

Na equação acima s é a estimativa do desvio padrão absoluto, x_i é o valor individual de cada medição, \bar{x} representa a média aritmética em replicata e n é o número de medições.

Agora a precisão é diretamente estimada pelo cálculo em termos do desvio padrão relativo (RSD), que deve ser calculado pela equação 3.

$$RSD\% = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Algumas variações dentro do laboratório podem ser encontradas através da precisão intermediária, que deve conter um valor menor que o desvio padrão relativo que é de 20%.

3.13 Precisão Intermediária

A precisão intermediária, de acordo com INMETRO (2016), refere-se à precisão avaliada sob condições que compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo de um período extenso de tempo. Nesse estudo, foram definidas exatamente quais condições seriam variadas, tais como: diferentes analistas; diferentes equipamentos ou diferentes tempos. Esta medida de precisão resulta na variabilidade dos resultados em um laboratório.

4 METODOLOGIA

Foi feito um estudo sobre os tipos de solventes e suas quantidades para otimização de método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em água de abastecimento, visando utilizar a menor quantidade de solvente possível. Para extração, foi utilizada a técnica de microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e para a quantificação a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) - ITD. Os experimentos foram executados no Laboratório de Análise de Resíduos e Contaminantes (LARCO) da Escola de Química e Alimentos (EQA), na Universidade Federal do Rio Grande – FURG, no Campus Santo Antônio da Patrulha.

4.1 Amostragem

Amostras reais de água foram coletadas em vidros âmbar, em volumes de, aproximadamente, 100 ml para poder realizar triplicatas, das fontes de abastecimento de diferentes locais do município, coletadas principalmente de torneiras e Poço tubular profundos, as quais foram acondicionadas em refrigeração com temperatura aproximada de 3°C até sua utilização.

4.2 Preparo das soluções

Para os compostos analisados foi necessário preparar uma solução padrão de concentração 1000 mgL⁻¹, conhecida como solução estoque, com dissolução de cada padrão analítico de alta pureza em acetonitrila. Estas soluções foram estocadas em freezer a -18 °C. Foi necessário o preparo de uma solução diluída com a mistura dos agrotóxicos estudados a partir de suas respectivas soluções estoques, de concentração pré-estabelecida, de modo a verificar a resposta do equipamento, construção da curva analítica e para realizar a validação do método.

4.3 Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas ITD (Ion Trap Detection).

O equipamento utilizado foi da marca Varian, seu modelo é CG – 3900 acoplado ao espectrômetro de massas do modelo Saturn 21000T e as condições cromatográficas utilizadas na análise de agrotóxicos na água do presente estudo estão na tabela 2.

Tabela 2: Condições para identificação e quantificação dos analitos estudados.

Parâmetros	GC-MS
Coluna Analítica	VF 5 MS Agilet (30,0 m x 0,25 mm, 0,25 μm)
Temperatura inicial do injetor	250 °C
Vazão	1,0 mL min ⁻¹
Gás de arraste	He
Volume de injeção	1 μL

O sistema GC-MS com armadilha de íons (ITD) foi operado para monitoramento de íons selecionados (SIR) com no mínimo 2 íons para cada composto. e a vazão de alimentação foi de 1 mL min⁻¹.

4.4 Técnica DLLME

A técnica permite a utilização de pequenos volumes de amostras e solventes, podendo ser utilizado 10 ml de amostra. Após a disposição da amostra no recipiente de volume conhecido é necessário a adição do solvente dispersor e extrator, com o auxílio de uma seringa os solventes são coletados conjuntamente, sendo miscíveis entre si para injetar na amostra. Esta solução formada (amostras e solventes) apresenta uma aparência turva. Para auxiliar na separação das fases é necessário a adição de um demulsificante, para que ocorra uma melhor absorção dos analitos no solvente extrator. Neste momento se inicia a separação de fases, seguida pela formação da gota suspensa, que é coletada e colocada em um vial, diluída e ajustado o volume até 250 μL de acetonitrila.

Para o solvente extrator foram testados 6 diferentes solventes e 3 volumes, conforme tabela 3, baseados em testes já presentes na literatura, visando a não utilização de um dos solventes mais utilizados na técnica, porém com alto poder de contaminação e uma grande dificuldade de recuperação ao final da análise, e quando não recuperado acaba poluindo regredindo no processo de melhoramento ambiental.

Todos os solventes foram testados diretamente na amostra, de modo a observar quais apresentaram a melhor formação da gota, melhor abrangência do conteúdo do recipiente utilizado para colocar a amostra, além de formar a solução menos turva.

Tabela 3: Tipos de solventes e volumes testados.

Solvente Extrator	Volumes (μL)
1 – Undecanol	120, 140, 200
Ciclo Hexano	120, 140, 200
Tolueno	120, 140, 200
1 – Butanol	120, 140, 200
1 – Dodecanol	120, 140, 200
1 – Octanol	120, 140, 200

A tabela 4 apresenta os tipos e volumes de solventes dispersores utilizados.

Tabela 4: Tipos de solventes dispersores e volumes testados.

Solvente Dispersor	Volumes (μL)
Água Pura	250, 500, 750 e 1000
Acetonitrila	250, 500, 750 e 1000

Em relação ao demulsificante, os volumes e tipos testados foram os mesmos dos solventes dispersores e os volumes, os testes foram feitos e os melhores resultados foram os que apresentação um maior choque entre as moléculas presentes na amostra com solvente extrator e formação da gota, além da capacidade de transformar a solução menos turva, sem esquecer de sempre tentar reduzir a quantidade de solvente utilizada durante toda a técnica.

4.5 Validação dos métodos quantitativos

As etapas para a validação de métodos de análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa mais utilizados são linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

As curvas analíticas extraídas foram realizadas fortificando de amostras de água em diferentes níveis de concentração com acetonitrila e posteriormente comparadas com a curva feita diretamente no solvente.

Cada solução foi injetada em triplicata no sistema no GC-MS - ITD. As curvas foram obtidas com o auxílio dos dados da regressão linear com Microsoft Excel®. Com os valores obtidos nas curvas, foi calculada a média das áreas, o RSD (%), o coeficiente de determinação (R^2) e linearidade do método.

A exatidão foi determinada após a linearidade, a qual é expressa pela relação entre a concentração teórica e a concentração média identificada através de procedimentos experimentais.

A precisão pode ser expressa pelo desvio padrão, após repetir diversas vezes os testes e apresentar uma conformidade e concordância nos resultados.

5 DISCUSSÃO E RESULTADOS

5.1 Determinação por GC-MS - ITD

Para os solventes apresentados na tabela 3 o 1 – Octanol apresentou o melhor resultado em relação aos demais e o volume, lembrando que um dos objetivos do trabalho é reduzir os impactos gerados também por solventes além dos impactos gerados pelos compostos em estudo, nas águas, foi 120 μL . Dentre os solvente dispersor os resultados foram praticamente os mesmos, porem água (Ultrapura), é melhor quando se diz respeito a menor consumo de solventes e o volume utilizado foi 750 μL . Já para o demulsificante o melhor resultado também foi água (Ultrapura) e o mesmo volume do solvente dispersor.

Os compostos analisados estão listados na tabela 5, além deles tem-se também os íons monitorados e os tempos de retenção de cada um deles. O GC-MS utilizado no modo Ion Trap Detection (ITD) também conhecido como armadilha de elétrons e o modo de aquisição é SIS.

Tabela 5: Compostos estudados, íons monitorados e tempo de retenção (t_r)

Composto	Íons monitorados	t_r (min)
Bifentrina	181, 165, 182	14.7
Cipermetrina	163 165, 181	15.6
Clorotalonil	266, 264, 268	11.5
Diazinona	179, 137, 304	11.3
Difenoconazol	265, 323, 267	19.9
Fenitrotiona	277, 260, 125	12.2
Fipronil	367, 213, 423	12.7
Lambda Cialotrina	181, 197, 208	17.5

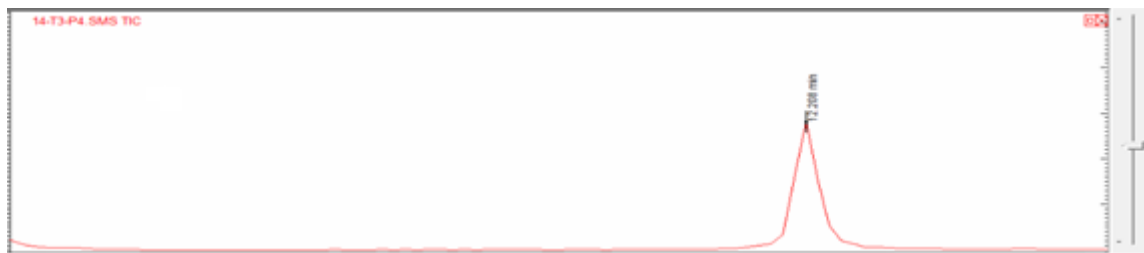
As figuras a seguir mostram a forma como alguns dos analitos foram distribuídos de acordo com os segmentos e os tempos de retenção de cada um dos íons ao longo da corrida de um pouco mais que 20 minutos.

Figura 3: Cromatograma do composto: Diazinona.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 4: Cromatograma do composto: Fenitrotiona.



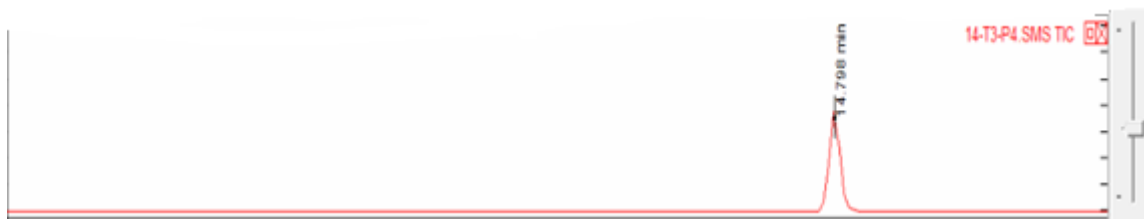
Fonte: Autor, 2018.

Figura 5: Cromatograma do composto: Fipronil.



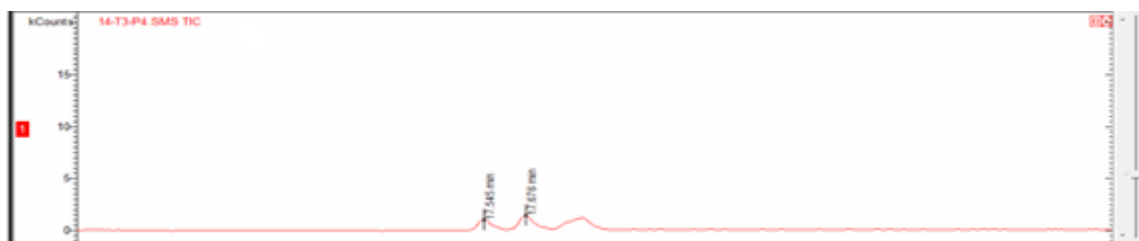
Fonte: Autor, 2018.

Figura 6: Cromatograma do composto: Bifentrina.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 7: Cromatograma do composto: Cipermetrina,



Fonte: Autor, 2018.

5.2 Validação do método Determinação por GC-MS

A técnica DLLME foi validada com a determinação e quantificação dos analitos apresentados no item 3.4, baseado na metodologia apresentada acima e os parâmetros avaliados foram: seletividade, curva analítica/linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, exatidão/recuperação e precisão.

5.2.1 Seletividade

Este parâmetro foi avaliado a partir da injeção das amostras para verificar a presença e se existe compostos interferentes que tenham o mesmo tempo de retenção que os íons dos compostos de interesse.

O efeito matriz não foi determinado experimentalmente para o método GC-MS em amostras de água pois a calibração foi realizada externa com padrão interno. Esta é calculada a partir das áreas dos picos obtidos na injeção das amostras ou fortificações.

5.2.2 Curva Analítica e Linearidade

As curvas analíticas foram realizadas em triplicatas para cada uma das águas de abastecimento e também foram injetadas em triplicatas ($n=9$), com quatro níveis de concentrações diferentes nas amostras de água. Com os dados coletados foram obtidas as equações das retas, os coeficientes de determinações (R^2) e coeficientes de correlação (R), apresentados nas tabelas abaixo.

Tabela 6: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para águas Ultrapura.

Composto	Equação da reta	R ²	R	Faixa linear (mg L ⁻¹)
Bifentrina	$y = 791,4x + 381,7$	0,9565	0,9780	0,5 a 5,0
Cipermetrina	$y = 280,3x - 121,0$	0,9956	0,9978	0,5 a 5,0
Clorotalonil	$y = 448,7x + 317,5$	0,9411	0,9701	0,5 a 5,0
Diazinona	$y = 2124,6x + 1177,7$	0,9935	0,9967	0,5 a 5,0
Difenoconazol	$y = 25,2x + 19,7$	0,9431	0,9711	0,5 a 5,0
Fenitrotiona	$y = 4386,1x + 628,9$	0,9503	0,9748	0,5 a 5,0
Fipronil	$y = 326,9x + 1834,9$	0,9184	0,9583	0,5 a 5,0
Lambda Cialotrina	$y = 373,8x - 94,9$	0,9821	0,9910	0,5 a 5,0

Com os resultados encontrados é possível identificar uma linearidade do método com relação a água Ultrapura, de acordo com a ANVISA (2012), pois apresenta valor do coeficiente de determinação (R²) maior que 0,98, porém cinco dos compostos analisados apresentaram valores abaixo do satisfatório (Bifentrina, Clorotalonil, Difenoconazol, Fenitrotiona e Fipronil). Porém no quando se trata do coeficiente de correlação (R), apresentam valores satisfatórios, que são iguais ou superiores a 0,90, é o indicado pelo (INMETRO, 2016)

Os dados a seguir são os de água de torneira.

Tabela 7: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para águas torneira.

Composto	Equação da reta	R ²	R	Faixa linear (mg L ⁻¹)
Bifentrina	$y = 2643,9x + 197,3$	0,9807	0,9903	0,5 a 5,0
Cipermetrina	$y = 375,9x - 0,8$	0,9817	0,9908	0,5 a 5,0
Clorotalonil	$y = 418,5x + 165,8$	0,9942	0,9971	0,5 a 5,0
Diazinona	$y = 2352,8x + 816$	0,9709	0,9853	0,5 a 5,0
Difenoconazol	$y = 261,3x - 107,5$	0,9879	0,9939	0,5 a 5,0
Fenitrotiona	$y = 725,9x + 447,5$	0,9535	0,9765	0,5 a 5,0
Fipronil	$y = 1214,4x + 317,5$	0,9999	0,9999	0,5 a 5,0
Lambda Cialotrina	$y = 367x + 104,7$	0,9759	0,9879	0,5 a 5,0

A tabela 7 mostra que os resultados do coeficiente de determinação apresentam valores significativamente melhores ainda baseados na ANVISA, porém ainda é possível identificar que três dos compostos ainda não estão de acordo com os valores considerados satisfatórios, mas quando observados os valores dos coeficientes de correlação todos os compostos alvo do estudo estão de acordo com os números esperados, de acordo com o (INMETRO, 2016)

A última tabela para análise da linearidade, temos os dados de água de Poço tubular profundo.

Tabela 8: Equação das retas, coeficientes de determinação, coeficiente de correlação e faixa linear para água de Poço tubular profundo.

Composto	Equação da reta	R ²	R	Faixa linear (mg L ⁻¹)
Bifentrina	$y = 3351,7x + 2699,2$	0,9744	0,9871	0,5 a 5,0
Cipermetrina	$y = 1035x - 47,7$	0,9984	0,9992	0,5 a 5,0
Clorotalonil	$y = 432x + 144,5$	0,9157	0,9569	0,5 a 5,0
Diazinona	$y = 1530,4x + 3394,1$	0,8682	0,9318	0,5 a 5,0
Difenoconazol	$y = 502,5x - 29,4$	0,9959	0,9979	0,5 a 5,0
Fenitrotiona	$y = 782,5x + 663,3$	0,9007	0,9491	0,5 a 5,0
Fipronil	$y = 693,3x + 1761,8$	0,8899	0,9433	0,5 a 5,0
Lambda Cialotrina	$y = 467,1x + 178,9$	0,9337	0,9663	0,5 a 5,0

Os resultados para água de Poço tubular profundo, estão dentro dos valores considerados satisfatórios com relação ao coeficiente de correlação, considerando aceitável para legislação, para o coeficiente de determinação os valores para a maioria dos compostos estão abaixo do esperado.

Comparando os resultados das águas analisadas no presente estudo, a linearidade do método se torna algo que deva ser avaliado em outros tipos de águas de abastecimento, tendo em vista que os valores apresentados por água de Poço tubular profundo apesar de não serem considerados ruins, estão fora dos valores estipulados pelas legislações vigentes.

5.2.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Lembrando que o limite de detecção é a demonstração da menor quantidade de um analito

Os Limites de Detecção dos compostos analisados variam entre 0,25 e 0,5 mg L⁻¹ já os limites de quantificação para todos os compostos foram a partir de 0,5 mg L⁻¹. Os dados apresentados na tabela 9, mostram os limites de detecção e quantificação do método.

Tabela 9: Limite de Detecção e Limite de Quantificação do método para os compostos estudados.

Composto	LOD _m (µg L ⁻¹)	LOQ _m (µg L ⁻¹)
Bifentrina	6,25	12,5
Cipermetrina	12,5	12,5
Clorotalonil	6,25	12,5
Diazinona	6,25	12,5
Difenoconazol	6,25	12,5
Fenitrotiona	12,5	12,5
Fipronil	6,25	12,5
Lambda Cialotrina	12,5	12,5

5.2.4 Exatidão e Recuperação

Agências regulamentadoras brasileiras, como ANVISA (2012) e INMETRO (2016), apresentam uma faixa de recuperação em que os métodos multiresíduos devem estar dentro da recomendação, que é de 70 a 120%, já o RSD deve ser menor que 20%.

As recuperações foram calculadas com as curvas analíticas obtidas através da fortificação das amostras com concentrações conhecidas. São expressas através de porcentagem e as amostras foram fortificadas com cada composto com quatro concentrações diferentes (0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L⁻¹). Desta forma o cálculo da recuperação foi feito através da equação 1 e o desvio padrão relativo com a equação 3.

É válido ressaltar que foram realizadas triplicatas das amostras seguidas de injeção com as amostras fortificadas.

Para água Ultrapura os valores de recuperação estão dentro dos valores estipulados pelas legislações vigentes, os valores de RSD de um modo geral podem ser considerados satisfatórios, ressaltando que para Lambda Cialotrina na concentração de 5,0 mg L⁻¹ está com um valor muito mais alto do que o aceitável, deste modo a precisão para esse composto fora do desejado.

Tabela 10: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água Ultrapura).

Composto	Água Ultrapura							
	0,5 mg L ⁻¹		1,0 mg L ⁻¹		2,5 mg L ⁻¹		5,0 mg L ⁻¹	
	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %
Bifentrina	114	14,3	108	27,7	117	15,8	92	20,5
Cipermetrina	88	20,9	100	19,9	119	8,0	89	8,6
Clorotalonil	72	4,8	71	20,5	113	10,9	79	7,4
Diazinona	70	24,3	84	1,5	111	8,9	80	19,3
Difenoconazol	110	6,2	119	9	99	21,5	102	17,6
Fenitrotiona	69	19,7	75	8,6	173	15,9	109	22,4
Fipronil	82	22,8	116	7,3	105	6,4	77	17,9
Lambda								
Cialotrina	91	15,7	75	18,3	104	6,2	103	37,6

A seguir a tabela 11 apresenta os resultados para água de torneira.

Tabela 11: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água Torneira).

Composto	Água Torneira							
	0,5 mg L ⁻¹		1,0 mg L ⁻¹		2,5 mg L ⁻¹		5,0 mg L ⁻¹	
	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %
Bifentrina	98	18,7	105	11,1	83	6,6	90	6,5
Cipermetrina	89	10,7	93	15,6	81	6,8	71	16,4
Clorotalonil	75	29,6	87	4,6	110	6,6	104	1,7
Diazinona	111	23,5	78	15,1	97	10,6	72	26,7
Difenoconazol	116	14,8	79	10,2	99	9,1	111	9,5
Fenitrotiona	120	22,1	99	7,8	111	23,9	85	11,9
Fipronil	117	11,6	113	16,4	78	7,8	83	2,9
Lambda								
Cialotrina	88	17,3	72	12,3	115	8,2	107	21,4

Para a água de torneira os resultados estão todos de acordo com o especificado na legislação, desta forma recuperação e o desvio padrão relativo aceitáveis para a validação. E por fim a tabela com os resultados da água de Poço tubular profundo do presente estudo tem seus resultados apresentados na tabela 12.

Para as águas de Poço tubular profundo, novamente foram obtidos alguns resultados fora dos resultados esperados e desejados pela ANVISA, assim deve ser considerado que possivelmente água de Poço tubular profundo não seja a mais indicada para o desenvolvimento e a validação de um método multiresíduos com a técnica DLLME aplicado em GC-MS.

Tabela 12: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação estudados (Água de Poço tubular profundo).

Composto	Água de Poço tubular profundo							
	0,5 mg L ⁻¹		1,0 mg L ⁻¹		2,5 mg L ⁻¹		5,0 mg L ⁻¹	
	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %	Rec %	RSD %
Bifentrina	83	3,5	72	40,8	117	2,9	79	10,2
Cipermetrina	73	30,1	90	4,2	110	2,2	82	16,5
Clorotalonil	78	19,1	88	21,3	80	34,2	92	15,3
Diazinona	88	13	68	32,1	112	6	74	10
Difenoconazol	110	15,3	91	14,6	107	10,9	82	15,2
Fenitrotiona	104	25,4	96	22,4	94	18	89	1,8
Fipronil	82	6,6	120	15,6	73	3,1	70	8,6
Lambda								
Cialotrina	77	13,9	112	20,3	101	8,7	91	20,2

5.2.5 Precisão Intermediária

Nesta etapa do trabalho a recuperação dos compostos foi realizada com diferentes concentrações, feita em diferentes dias, porém pelo mesmo analista, já a precisão intermediária foi obtida através da fortificação de amostras branco, apresentadas como RSD, os resultados estão apresentados nas tabelas a seguir para as diferentes fontes de águas de abastecimento.

Baseados nos valores Resolução RDC N° 27, 2012, da ANVISA, as recuperações médias e os valores de RSD estão dentro dos valores estimados para água de Ultrapura, na tabela13.

De um modo geral os resultados apresentados para água de torneira estão de acordo com o estipulado, o que torna a precisão intermediária um dos parâmetros que está apresentando os resultados desejados para o desenvolvimento do método proposto no estudo.

Tabela 13: Média porcentual de recuperação e RSD para cada composto para os níveis de fortificação (Água Ultrapura, Torneira e Poço tubular profundo).

Composto	Água Ultrapura 5,0 mg L-1		Água Torneira 5,0 mg L-1		Água de Poço tubular 5,0 mg L-1	
	Recuperação Média %	RSD %	Recuperação Média %	RSD %	Recuperação Média %	RSD %
Bifentrina	112	19,6	111	14,4	111	14,4
Cipermetrina	103	14,4	113	13,2	113	13,2
Clorotalonil	72	13,4	70	18,7	70	18,7
Diazinona	86	14	84	15,3	84	15,3
Difenoconazol	99	5,1	98	14	98	14
Fenitrotiona	76	16,7	76	19,3	76	19,3
Fipronil	106	13,6	86	6,5	86	6,5
Lambda Cialotrina	94	19,4	99	15,8	99	15,8

Para a precisão intermediária a água de Poço tubular profundo apresentou valores de acordo com a legislação vigente, com RSD variando de 6,5 a 19,3 e as recuperações variando de 70 a 113%.

Comprovando, comparando com as outras amostras de águas de abastecimento, que o presente trabalho apresenta resultados de acordo com os esperados no que se refere a repetitividade do método.

Portanto, é possível identificar que todas as amostras serviram para avaliar a variação do equipamento nas análises apresentadas neste trabalho, para as análises feitas com a técnica DLLME.

6 APLICAÇÃO

O método empregando DLLME e LC- MS (ITD), após ser validado, foi aplicado para determinação de resíduos dos agrotóxicos bifentrina, cipermetrina, clorotalonil, diazinona, difenoconazol, fenitrotiona, fipronil e lambda cialotrina. As amostras de água foram coletadas em um açude, próximo a uma plantação de arroz em uma propriedade rural na região de Santo Antônio da Patrulha, somente para o composto bifentrina foi possível identificar na amostra analisada com uma concentração de aproximadamente $25 \mu\text{g L}^{-1}$, de modo que o composto presente na amostra está de acordo com o valor máximo permitido na portaria 320/2014, este

composto é um piretróide e é utilizado principalmente como inseticida em diferentes tipos de plantações, dentre elas o arroz, para os outros compostos não foram identificados resíduos de agrotóxicos.

7 CONCLUSÃO

O desenvolvimento e validação do método para determinação e quantificação de resíduos de agrotóxicos em água de abastecimento proveniente de poço tubular profundo e torneira do município de Santo Antônio da Patrulha localizado no Estado do Rio Grande do Sul, baseado na legislação ambiental do Rio Grande do Sul, utilizando microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e GC-MS (ITD) foi apresentado no presente estudo, em amostras fortificadas.

A técnica DLLME apresenta vantagens para o método devido a sua simplicidade, a quantidade de amostra necessária é pequena por tratar-se de uma técnica miniaturizada, além da redução da quantidade de solvente utilizada na otimização da técnica. Vinculado a isso o método apresenta vantagem no desenvolvimento ao conseguir reduzir o volume dos solventes, melhorando as condições dos resíduos que deverão ser recuperados posteriormente a realização das análises.

Vale ressaltar que para alguns dos parâmetros da validação, como Curva Analítica/Linearidade e Exatidão/Recuperação, a água de Poço tubular profundo apresentou alguns valores significativamente fora dos estipulados quando comparados aos desejados pela legislação o que de modo para a validação é indicado outro tipo de água de abastecimento.

De um modo geral os objetivos propostos no trabalho foram alcançados, apresentando adequação para análises de amostras de água e podendo auxiliar no monitoramento ambiental podendo também ser estudado em outros compostos diferentes dos estudados também presentes na portaria 320, (2014) que foi a legislação que se baseou o presente estudo.

Como proposta de trabalhos futuros a utilização do método, após a validação, para análises de água do município e posteriormente auxiliar no controle dos limites de agrotóxicos, para que os agricultores não extrapolem a quantidade permitida.

8 REFERÊNCIAS

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO RDC N° 27, De 22 de maio de 2012. **Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos.** [s. l.], v. 75, 2012.

ANVISA. **Resolução anvisa** - RE n° 899. [s. l.], p. 12, 2003.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Bifentrina.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Cipermetrina.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Clorotalonil.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Diazinona

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Difenconazol.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Fenitrotona.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Fipronil.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003). Índice Monográfico: Lambda Cialotrina.

BOMBARDI, Larissa Mies. **Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Européia.** [s.l: s.n.].

BRITO, Natilene Mesquita et al. Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, [s. l.], v. 13, p. 129–146, 2003.

D'AGUILA, Paulo Soares et al. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 791–798, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Codex Alimentarius Commission - Procedural Manual.** Roma, 2001.

FILHO, Manuel Alves. **O perigo dos emergentes.** [s. l.], p. 2015, 2015.

FN, Difhbs B. et al. Fatos e dados **O DESENVOLVIMENTO DOS RECURSOS HÍDRICOS 4.** [s. l.], p. 1–17, 2015.

INMETRO. Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQ-CGCRE-008. **Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial**, [s. l.], p. 25, 2007.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos - **Documento de caráter orientativo**. [s. l.], p. 31, 2016.

LANÇAS, F.M., **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**, Sexta ed. São Carlos: Editora RiMa, 2004. 46p.

MARTINS ML, PRIMEL EG, CALDAS SS, PRESTES OD, ADAIME MB, Zanella R. **Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos , inovações e aplicações**. [s.l: s.n.]. v. 6

MORAIS, Elisa Helena da Costa; BEGNINI, Fernanda Ribeiro; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. Técnicas de preparo de amostra empregadas na determinação de agrotóxicos carbamatos em água e solo. **Scientia Chromatografica**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 146–162, 2013.

PAVIA, R. L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. **Introdução a Espectroscopia**. [s.l: s.n.].

RIBANI, Marcelo et al. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. Química Nova, [s. l.], v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, Maria Lúcia et al. **Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: Avaliação preliminar**. Química Nova, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 688–694, 2007.

SANTOS, L. G. et al. **Validação de metodologia analítica para determinação de taninos pelo método de difusão radial**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 881–885, 2014.

SCORZA JÚNIOR, RÔMULO PENNA; NÉVOLA, Filipe Areias; AYELO, VINÍCIUS SANCHES. ACHA: **Avaliação da Contaminação Hídrica por Agrotóxico Fase gasosa Fase líquida Fase sólida**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Agropecuária Oeste, [s. l.], v. 1ª edição, p. 31, 2010.

SECCHI, Valdir. **Especial por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes**. [s. l.], p. 46–56, 2001.

SPERLING, Marcos Von. **Análise Dos Padrões Brasileiros De Qualidade De Corpos D 'Água**. Revista Brasileira de Recursos Hídricos, [s. l.], v. 3, n. 031, p. 111–132, 1998.

VEIGA, Marcelo Motta et al. **Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil**. Cadernos de Saúde Pública, [s. l.], v. 22, n. 11, p. 2391–2399, 2006.

WILLE, Klaas et al. **Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment**. TrAC - Trends in Analytical Chemistry, [s. l.], v. 35, p. 87–108, 2012.

ANEXOS

Portaria RS/SES N° 320 DE 24/04/2014

Publicado no DOE - RS em 28 abr 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.

A Secretária de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul, no uso de suas atribuições legais, conferidas pela Constituição Estadual e pela Lei Federal n° 8.080, de 19 de setembro de 1990,

e:

- considerando as atribuições estaduais conferidas pela Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, que estabelece os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade;
- considerando que o estado do Rio Grande do Sul, por suas características climáticas e edafológicas, tem sua produção agrícola diversificada e de grande relevância à sua economia;
- considerando que nessa diversificada produção agrícola são utilizados, na sua prática usual, um número expressivo de agrotóxicos, conforme descritos em estudo conduzido pelo Centro Estadual de Vigilância em Saúde e publicado no seu Boletim Epidemiológico de n° 2/V.14, de junho de 2012.

Resolve:

Art. 1º Estabelecer parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade, no grupo das substâncias químicas para o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no RS, previstos na Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde, incorporando as disposições lá estabelecidas.

Parágrafo único. Ao controle semestral previsto nacionalmente pela Portaria MS2914/2011 deverão ser acrescentados os parâmetros adicionais de agrotóxicos listados no ANEXO I.

Art. 2º Verificadas características desconformes com o padrão de potabilidade previsto nesta portaria, ou outros fatores de risco à saúde, serão adotadas as medidas previstas na portaria nacional vigente.

Art. 3º Serão aplicadas as sanções administrativas previstas na Lei n° 6.437, de 20 de agosto de 1977, aos responsáveis pela operação dos sistemas ou soluções alternativas de abastecimento de água que não observarem as determinações constantes desta Portaria, sem prejuízo das sanções de natureza civil ou penal cabíveis.

Art. 4º Cabe à Secretaria Estadual de Saúde e Secretarias Municipais de Saúde dos Municípios, ou órgãos equivalentes, assegurar o cumprimento desta Portaria.

Art. 5 ° Fica estabelecido o prazo máximo de 12 (doze) meses, contados a partir da data de publicação, para que os órgãos e entidades sujeitos à aplicação desta Portaria cumpram as suas disposições.

Art. 6 ° A Secretaria Estadual da Saúde promoverá, por intermédio da CEVS/SES, a revisão desta Portaria no prazo de cinco anos ou a qualquer tempo.

Art. 7 ° Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

Porto Alegre, 24 de abril de 2014.

SANDRA FAGUNDES

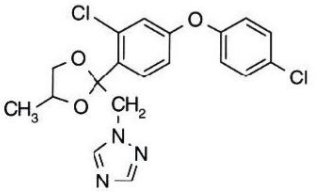
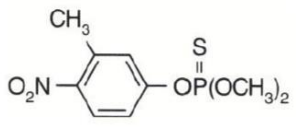
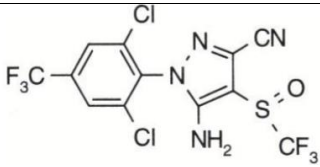
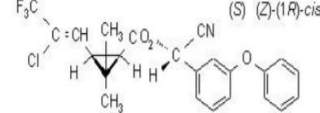
Secretária de Estado da Saúde

Portaria nº 320/2014

Parâmetro	CAS	VMP (ug/L)
Abamectina	71751-41-2	12
Acefato+ Metamidofós	30560-19-1 (acefato) 10265-92-6 (metamidofós)	4,8
Bifentrina	82657-04-3	120
Carbaril	63-25-2	18
Cianamida	420-04-2	12
Cipermetrina	52315-07-8	300
Ciproconazol	94361-06-5	60
Cletodim	99129-21-2	60
Clorimurom-etílico	90982-32-4	120
Clorotalonil	1897-45-6	180
Cresoxim-metil	143390-89-0	2400
Diazinona	333-41-5	12
Difenoconazole	119446-68-3	60
Diflubenzuron	35367-38-5	120
Dimetoato	60-51-5	12
Ditianona	3347-22-6	60
Epoxiconazol	135319-73-2	18
Etosisulfuron	126801-58-9	240
Fenitrotiona	122-14-5	30

Fenoxaprop-p-etilico	71283-80-2	15
Fentiona	55-38-9	42
Fipronil	120068-37-3	1,2
Flutriafol	76674-21-0	60
Folpet	133-07-3	600
Fomesafem	72178-02-0	18
Gama-cialotrina	76703-62-3	6
Hidrazida maleica	123-33-1	1800
Imazetapir	81335-77-5	1500
Imidacloprido	138261-41-3	300
Indoxacarbe	173584-44-6	60
Iodosulfurom-metilico	144550-06-1	180
Ioxinil octanoato	3861-47-0	30
Lambda-cialotrina	91465-08-6	30
Mesotriona	104206-82-8	30
Metalaxil-m (Mefenoxam)	70630-17-0	480
Metamitrona	41394-05-2	150
Metidationa	950-37-8	6
Metiram + Mancozebe (expresso em CS2)	9006-42-2 (metiram) 8018-01-7 (mancozebe)	180
Metsulfuron metil	74223-64-6	60
Picoxistrobina	117428-22-5	258
Tembotriona	335104-84-2	2,4
Tetraconazol	112281-77-3	30
Tiametoxam	153719-23-4	120
Tiodicarbe	59669-26-0	180
Tiofanato-metilico + Carbendazim + Benomil (2914 - 120 ug/L) - (expresso em carbendazim)	23564-05-8 (tiofanato-metilico) 10605-21-7 (carbendazim) 17804-35-2 (benomil)	120
Triciclazol	41814-78-2	180

Especificações dos compostos							
Índice Monográfico	Nome	Formula Bruta	Formula Estrutural	Grupo Químico	Classe	Classificação Toxicológica	Principal Uso Agrícola
B26	Bifentrina	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$		Piretróide	Inseticida, formicida e acaricida	Classe II	Arroz, trigo e milhos armazenados
C10	Cipermetrina	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$		Piretróide	Inseticida e formicida	Classe II	Foliar na cultura de arroz
C18	Clorotalonil	$C_8Cl_4N_2$		Isoftalonitrila	Fungicida	Classe III	Foliar na cultura de arroz
D10	Diazinona	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$		Organofosforado	Inseticida e acaricida	Classe II	Foliar nas culturas de citros e maçãs

D36	Difenoconazol	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$		Triazol	Fungicida	Classe I	Foliar nas culturas de arroz, milho e soja
F05	Fenitrotiona	$C_9H_{12}NO_5PS$		Organofosforados	Inseticida e formicida	Classe II	Foliar nas culturas de algodão
F43	Fipronil	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$		Pirazol	Inseticida, formicida e cupinicida	Classe II	Foliar nas culturas de arroz
C63	Lambda Cialotrina	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$		Piretróide	Inseticida	Classe III	Aplicação em cultura de arroz

