

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**

RENATA PRUSSAK GABARDO

**APLICAÇÃO DO MÉTODO *QuEChERS* NO PREPARO DE
AMOSTRAS DE ÁGUAS SUPERFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE
ATRAZINA, DESISOPROPILATRAZINA (DIA), DESETILATRAZINA
(DEA) E CARBENDAZIM POR LC-DAD**

DISSERTAÇÃO

**CURITIBA
2018**

RENATA PRUSSAK GABARDO

**APLICAÇÃO DO MÉTODO *QuEChERS* NO PREPARO DE
AMOSTRAS DE ÁGUAS SUPERFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE
ATRAZINA, DESISOPROPILATRAZINA (DIA), DESETILATRAZINA
(DEA) E CARBENDAZIM POR LC-DAD**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Curitiba, como requisito parcial para obtenção do título de “Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental”.
Área de concentração: Controle e Monitoramento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius de Liz
Coorientadora: Prof^a. Dra. Gilcélia Aparecida Cordeiro

CURITIBA
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

G112a Gabardo, Renata Prussak
2018 Aplicação do método quechers no preparo de amostras de águas superficiais para determinação de atrazina, desisopropilatrazina (dia), desetilatrazina (dea) e carbendazim por lc-dad / Renata Prussak Gabardo.-- 2018.
123 f.: il.; 30 cm.

Disponível também via World Wide Web.
Texto em português, com resumo em inglês.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Curitiba, 2018.
Bibliografia: p. 109-116.

1. Água - Indicadores. 2. Pesticidas. 3. Análise cromatográfica. 4. Produtos químicos agrícolas. 5. Engenharia ambiental. 6. Tecnologia ambiental - Dissertações. I. Liz, Marcus Vinícius de, orient. II. Cordeiro, Gilcélia Aparecida, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. IV. Título.

CDD: Ed. 22 -- 363.7

Biblioteca Central da UTFPR, Câmpus Curitiba
Bibliotecária Lucia Ferreira Littiere - CRB 9/1271

TERMO DE APROVAÇÃO DE DISSERTAÇÃO Nº 102

A Dissertação de Mestrado intitulada APLICAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS NO PREPARO DE AMOSTRA DE ÁGUAS SUPERFICIAIS PARA DETERMINAÇÃO DE ATRAZINA, DESISOPROPILATRAZINA (DIA), DESETILATRAZINA (DEA) E CARBENDAZIM POR LC-DAD, defendida em sessão pública pelo(a) candidato(a) **Renata Prussak Gabardo**, no dia 11 de abril de 2018, foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, área de concentração Tecnologias E Processos Ambientais, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

BANCA EXAMINADORA:

Prof(a). Dr(a). Marcus Vinícius de Liz - Presidente - UTFPR

Prof(a). Dr(a). Gilberto Abate – UFPR

Prof(a). Dr(a). Lucia Regina Rocha Martins – UTFPR

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

Curitiba, 11 de abril de 2018.

Carimbo e Assinatura do(a) Coordenador(a) do Programa

AGRADECIMENTOS

À parceria entre Itaipu Binacional, UNILA e Fundação Parque Tecnológico Itaipu que proporcionou a execução desse projeto de mestrado. Essa parceria fez com que fosse possível firmar um acordo de cooperação entre a UTFPR – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental e UNILA, e assim chegar até aqui.

À Deus, pelo dom da vida e por todas as experiências vividas. Agradeço pela força que tive e por ter me mostrado o caminho a seguir, mesmo eu questionando muitas vezes se esse realmente era o caminho certo. Agradeço também por ter colocado pessoas especiais nesse caminho, as quais me ajudaram a vencer e que gostaria de agradecer.

À minha família, que compreendeu que seria necessário a minha ausência durante este período. Seja pelos momentos de escrita em que eu estava em uma “caverna” ou mesmo pela distância de casa, durante a execução do projeto em Foz do Iguaçu.

Ao Prof. Marcus, obrigada pela orientação, paciência e incentivo. O desafio de orientar a distância, que sabíamos que não seria fácil, foi vencido com louvor! Obrigada por todos os ensinamentos desde a graduação, obrigada por acreditar em meu potencial e obrigada por atender a minha “senha virtual” nos horários que ainda restavam na sua agenda concorrida. Saiba que a minha “senha virtual” sempre estará presente.

À Prof^a. Gil, minha coorientadora, obrigada por ter confiado no Prof. Marcus e ter me aceitado nessa empreitada. Obrigada pela orientação nos momentos de desespero, pelos conselhos e pelas risadas. Obrigada por ter me recebido tão bem em Foz do Iguaçu e por ter partilhado a sua família iguaçuense comigo. Sem vocês, a estadia em Foz não teria sido leve.

À professora Lucia Regina Rocha Martins e ao professor Gilberto Abate por terem aceitado participar da banca de qualificação e, agora também, da banca de defesa. Obrigada pelas contribuições para melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Patrício Peralta Zamora por ter me incentivado e por me auxiliar quando dúvidas surgiam.

À Bianca do Amaral, por ter me transmitido o conhecimento da técnica e também por ter contribuído com melhorias no projeto.

À equipe técnica da Itaipu, Simone, Jussara, Haroldo, Lucas e Sandro obrigada pelos ensinamentos na gestão de projetos. Uma equipe alinhada é tudo! Principalmente em dias de coleta com muita emoção!

Às professoras Marcela e Aline, pela convivência no período que dividimos o uso dos equipamentos e do laboratório durante o desenvolvimento do mestrado, isto proporcionou um aprendizado enorme sobre o desenvolvimento de trabalho em equipe.

Também não poderia deixar de lembrar dos colegas de mestrado da UNILA, que assim como eu, aceitaram o desafio de mudar de cidade para desenvolver um trabalho de interesse para a comunidade. O desenvolvimento do trabalho também não seria possível sem a participação dos alunos de IC's, o meu muito obrigada.

Natalie, obrigada por toda a ajuda no laboratório! Obrigada pelos dias que ficou me acompanhando até tarde para que fosse possível deixar todas as amostras programadas prontas (principalmente quando era sexta feira). Obrigada pela sua amizade!

Rubis, sou eternamente grata pela sua amizade, que mesmo com a distância continua a mesma. Obrigada por toda a ajuda que me deu no decorrer deste trabalho. Se cheguei até aqui, foi porque eu podia contar com você e você sabia me dizer o que eu precisava ouvir.

Thayse, obrigada pela sua amizade! Mesmo com a distância ela é a mesma e nos momentos certos, você e a Rubis me fazem lembrar que a minha vida não seria a mesma sem vocês.

Rafael, obrigada por compartilhar comigo as experiências do mestrado e as coincidências dessa vida. Espero que essa amizade, que nesta etapa nasceu, ainda perdure por muitos anos.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização desse projeto. Muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

GABARDO, Renata Prussak. **Aplicação do método QuEChERS no preparo de amostra de águas superficiais para determinação de atrazina, desisopropilatrizona (DIA), desetilatrizona (DEA) e carbendazim por LC-DAD.** 123 p. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2018.

O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo, principalmente pelo fato de ter a agricultura como base da sua economia, fazendo com que muitos destes sejam encontrados no meio ambiente. No Paraná, a Bacia Hidrográfica do Paraná 3 (BP3) consome mais agrotóxicos que o valor médio do estado, despertando interesse em avaliar a presença desses pesticidas nas diversas matrizes ambientais, entre elas a água. Porém, a determinação de resíduos de pesticidas em águas superficiais é um desafio devido à presença de interferentes e às baixas concentrações dos analitos, levando à análise de novas técnicas analíticas. A limpeza de amostras através do método *QuEChERS* para determinação de pesticidas em alimentos vem sendo amplamente explorada, porém pouco avaliada em amostras aquosas. Sendo assim, buscou-se avaliar essa metodologia, com modificações dos volumes nas diferentes etapas do método, testando o potencial de concentração e limpeza de amostras aquosas para determinação de atrazina, desisopropilatrizona (DIA), desetilatrizona (DEA) e carbendazim em águas superficiais. Um método analítico por LC-DAD foi desenvolvido e determinado vários parâmetros de mérito para a determinação de atrazina, DIA, DEA e carbendazim, alcançando valores de limite de quantificação (LOQ) de $0,010 \text{ mg L}^{-1}$, com r^2 de 0,99. Aplicando-se o método *QuEChERS* para preparo de amostras de águas superficiais provenientes da BP3, foi possível verificar que o método *QuEChERS* modificado permitiu realizar a concentração destes na ordem de 25 vezes. Para amostras fortificadas com 5, 7 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$, os resultados de recuperação foram de 91,8 a 113,9 % para a ATZ, 67,3 a 71,9% para o DIA e de 62,8 a 86,0% para o DEA. Entretanto na aplicação do método desenvolvido para a análise de amostras dos rios de interesse, não foi possível verificar sinais referentes aos analitos. Para certificar a ausência destes nas amostras foram conduzidos testes com SPE, em cartuchos Oasis-HLB, comparando a recuperação de amostras em água ultrapura e de um dos rios, com e sem fortificação. Amostras sem fortificação, concentradas 750 vezes indicaram a presença de DEA, na ordem de $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$, abaixo da capacidade de determinação do método *QuEChERS* avaliado, porém os demais analitos não foram detectados. Observou-se com as amostras fortificadas com 5, 7 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$, com concentração de 25 vezes, que os percentuais de recuperação foram maiores para a técnica *QuEChERS* do que os obtidos pela técnica de SPE, entretanto a capacidade superior de concentração da técnica SPE ainda favorece seu uso para determinação dos analitos nas concentrações ambientais observadas destes pesticidas nas amostras avaliadas, sendo necessário maior aprimoramento da técnica *QuEChERS* para sua aplicação com esta finalidade.

Palavras-chave: Monitoramento de águas. Pesticidas. Cromatografia Líquida.

ABSTRACT

GABARDO, Renata Prussak. **Application of the QuEChERS method in the preparation of surface water samples for determination of atrazine, desisopropyl-atrazine (DIA), deethyl-atrazine (DEA) and carbendazim by LC-DAD.** 123 pages. Dissertation. Post-Graduation Program in Environmental Science and Technology. Federal University of Technology - Paraná. Curitiba, 2018.

Brazil is the largest consumer of pesticides in the world, mainly because it has agriculture as the basis of its economy, causing many of these to be found in the environment. In Paraná, the Paraná 3 Watershed consumes more pesticides than the average value of the state, provoking interest in evaluating the presence of these pesticides in several environmental matrices, including water. However, the determination of pesticide residues in surface waters is a challenge due to the presence of interferents and the low concentrations of the analytes, leading to the analysis of new analytical techniques. Sample cleaning through the QuEChERS method for the determination of pesticides in food has been widely explored, but little evaluated in aqueous samples. The aim of this study was to evaluate the potential of concentration and cleaning of aqueous samples for the determination of atrazine, deisopropyl-atrazine (DIA), deethyl-atrazine (DEA) and carbendazim in surface water. An analytical method by LC-DAD was developed and determined several parameters of merit for the determination of atrazine, DIA, DEA and carbendazim, reaching values of limit of quantification (LOQ) of 0.010 mg L^{-1} , with r^2 of 0.99. Applying the QuEChERS method for preparation of surface water samples from BP3, it was possible to verify that the modified QuEChERS method allowed to perform the concentration of these on the order of 25 times. For samples fortified with 5, 7 and $10 \mu\text{g L}^{-1}$, the results were 91.8 to 113.9% for ATZ, 67.3 to 71.9% for DIA and 62.8 to 86.0 % for the DEA. However the application of the method developed for the analysis of samples of the rivers of interest, no signals were verified referring to the analytes. In order to certify their absence in the samples, SPE tests were conducted on Oasis-HLB cartridges, comparing the recovery of samples in ultra pure water and one of the rivers, with and without fortification. Fortified samples, concentrated 750 times, indicated the presence of DEA, in the order of $0.30 \mu\text{g L}^{-1}$, below the capacity of determination of the evaluated QuEChERS method, but the other analytes were not detected. It was observed with the samples fortified with 5, 7 and $10 \mu\text{g L}^{-1}$, with a concentration of 25 times, that the percentages of recovery were higher for the QuEChERS technique than those obtained by the SPE technique, however the superior capacity of concentration of SPE technique also favors its use for the determination of the analytes in the observed environmental concentrations of these pesticides in the evaluated samples, and a further improvement of the QuEChERS technique is required for its application for this purpose.

Keywords: Water monitoring; Pesticides; Liquid Chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Histórico da comercialização de agrotóxicos e afins (2000 – 2016)	19
Figura 2 - Total das vendas de agrotóxicos e afins nas regiões brasileiras e estados da região sul – 2014	20
Figura 3 - Quantidade de Agrotóxico por área plantada – 2015.....	21
Figura 4 - Mapa da Bacia Hidrográfica do Paraná 3	22
Figura 5 - Representação do método <i>QuEChERS</i> original	35
Figura 6 - Representação de uma Bacia Hidrográfica com a classificação dos rios .	45
Figura 7 - Mapa com a localização das Microbacias amostradas na Bacia Hidrográfica do Paraná 3.....	46
Figura 8 - Esquemática da aplicação do método <i>QuEChERS</i> modificado (método 1)	56
Figura 9 - Etapas dos testes de adsorção dos analitos nos materiais filtrantes com diferentes volumes - filtrando 50 mL (A) e filtrando 100 mL (B) - em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro.	57
Figura 10 - Etapas dos testes para avaliação do efeito do método <i>QuEChERS</i> na limpeza e recuperação dos analitos, para as amostras filtradas em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro.	59
Figura 11 - Etapas dos testes para avaliação do comportamento do método <i>QuEChERS</i> em cada um dos rios na primeira etapa de coleta.....	60
Figura 12 - Fluxograma do procedimento de extração em fase sólida.....	61
Figura 13 - Gradiente utilizado (A) e Sobreposição dos cromatogramas dos pesticidas 2,4-D ($\lambda=230$ nm) e carbendazim ($\lambda=280$ nm) na concentração de $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ (B) preparados na fase móvel. Eluição por gradiente utilizando como fase móvel ACN: Água, vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção $20 \mu\text{L}$	63
Figura 14 - Gradiente utilizado (A) e Sobreposição dos cromatogramas dos pesticidas 2,4-D ($\lambda=230$ nm) e Carbendazim ($\lambda=280$ nm) na concentração de $4,0 \text{ mg L}^{-1}$, juntamente com a injeção da mistura dos pesticidas ($\lambda=221$ nm) (B). Eluição por gradiente utilizando como fase móvel ACN: Solução ácida (0,01% de H_3PO_4), vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção $20 \mu\text{L}$	65
Figura 15 - Resultado das melhores condições de separação alcançadas para a situação 1 : gradiente (A) e cromatograma de separação da mistura dos pesticidas contendo ATZ, DIA, DEA e 2,4-D, na concentração de $3,50 \text{ mg L}^{-1}$ (B). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água acidificada (0,01% H_3PO_4), vazão $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ ($\lambda=221$ nm).	66
Figura 16 - Resultado das melhores condições de separação alcançadas para a situação 2 : gradiente (A) e cromatograma de separação da mistura dos pesticidas contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, na concentração de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ (B). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ ($\lambda=221$ nm).....	68
Figura 17 - Cromatograma da mistura dos pesticidas em solvente contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, na concentração de $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$.	71
Figura 18 - Cromatograma da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, após o método <i>QuEChERS</i> , na	

	concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL .	72
Figura 19	- Cromatograma de separação da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy com enfoque na ATZ, após o método <i>QuEChERS</i> , na concentração de 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (CQ) e amostra sem fortificar (SFCQ). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL ($\lambda=221$ nm).	73
Figura 20	- Cromatograma de separação da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy com enfoque no DIA e DEA, após o método <i>QuEChERS</i> , na concentração de 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL ($\lambda=213$ nm).	74
Figura 21	- Cromatograma da sobreposição de amostras do rio Boicy fortificadas com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, amostra da 3ª semana PA05 sem fortificar (SF) e branco do método <i>QuEChERS</i> com enfoque no tempo de retenção do CBZ. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL ($\lambda=286$ nm).	76
Figura 22	- Representação das curvas analíticas para cada analito.	78
Figura 23	- Cromatogramas dos experimentos com o rio Almada sem fortificar sem <i>QuEChERS</i> (SFSQ), sem fortificar com <i>QuEChERS</i> (SFCQ), fortificado com 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ sem <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221$ nm).	92
Figura 24	- Cromatogramas dos experimentos com o rio Boicy sem fortificar sem <i>QuEChERS</i> (SFSQ), sem fortificar com <i>QuEChERS</i> (SFCQ), fortificado com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ sem <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221$ nm).	93
Figura 25	- Espectros UV-Vis da ATZ nas concentrações de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (A), 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (B) e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (C), juntamente com o espectro do padrão da ATZ (D).	95
Figura 26	- Cromatogramas dos experimentos com o rio PB02 sem fortificar sem <i>QuEChERS</i> (SFSQ), sem fortificar com <i>QuEChERS</i> (SFCQ), fortificado com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ sem <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (5 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ com <i>QuEChERS</i> (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221$ nm).	96
Figura 27	- Cromatogramas sobrepostos do PA-05, na presença do método <i>QuEChERS</i> (CQ) e na ausência do método <i>QuEChERS</i> (SQ) coletados na primeira semana e a mistura dos padrões a 0,50 mg L^{-1} .	98
Figura 28	- Cromatograma amostra PA 01 sem fortificar com SPE 750 vezes e PA01 fortificado com 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ SPE 25 vezes ($\lambda=213$ nm).	104

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características físico-químicas da atrazina e seus principais produtos de degradação.....	28
Quadro 2 - Características físico-químicas do carbendazim.	29
Quadro 3 - Características físico-químicas do 2,4-D.....	31
Quadro 4 – Exemplos do uso QuEChERS para determinação de pesticidas em diferentes matrizes e novas aplicações (micotoxinas), incluindo modificações no método. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).	37
Quadro 5 – Exemplos do uso técnicas de extração e quantificação para determinação de pesticidas em águas superficiais, com os respectivos LOD's e LOQ's. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).....	42
Quadro 6 - Tempos de retenção encontrados para os analitos Atrazina, DIA, DEA, 2,4-D e carbendazim, quando utilizado o método gradiente 1.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Consumo de agrotóxico por classe, segundo as Bacias Hidrográficas do Paraná – 2015 – em kg	21
Tabela 2 – Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 0,10 a 5,00 mg L ⁻¹ para as espécies de interesse (n=3).....	67
Tabela 3 - Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 0,01 a 0,50 mg L ⁻¹ para as espécies de interesse (n=3).....	69
Tabela 4 – Características cromatográficas dos compostos determinados.	71
Tabela 5 – Parâmetros das curvas analíticas (baixa concentração (b) 0,010 a 0,200 mg L ⁻¹ e alta concentração (a) 0,200 a 5,00 mg L ⁻¹).....	77
Tabela 6 - Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 10,0 a 200,0 µg L ⁻¹ para as espécies de interesse (n=3).	79
Tabela 7 – Valores de precisão e exatidão do método de quantificação das espécies de interesse através de LC-DAD (n=3).	81
Tabela 8 – Recuperação (%) das amostras da mistura dos pesticidas (ATZ, DIA e DEA 50 µg L ⁻¹ e CBZ 200 µg L ⁻¹) após a filtração em membrana de acetato de celulose (0,45 µm) e filtro de fibra de vidro (0,45 – 0,60 µm), em diferentes volumes (50 mL e 100 mL), analisadas em LC-DAD modo eluição por gradiente utilizando ACN: água ultrapura, vazão 0,4 mL min ⁻¹	84
Tabela 9 – Recuperação média (%) das amostras fortificadas, com e sem <i>QuEChERS</i> , para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L ⁻¹ , 50 µg L ⁻¹ e 100 µg L ⁻¹ , filtradas em membrana de acetato de celulose. Volume: 10,0 mL com <i>QuEChERS</i> , 3,0 mL sem <i>QuEChERS</i>	88
Tabela 10 – Recuperação média (%) das amostras fortificadas, com e sem <i>QuEChERS</i> , para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L ⁻¹ , 50 µg L ⁻¹ e 100 µg L ⁻¹ , filtradas em filtro de fibra de vidro. Volume: 10,0 mL com <i>QuEChERS</i> , 6,25 mL sem <i>QuEChERS</i>	89
Tabela 11 - Recuperação média (%) do método SPE para água ultrapura fortificada com as concentrações de 5,0 µg L ⁻¹ , 7,0 µg L ⁻¹ e 10,0 µg L ⁻¹ . Volume inicial: 10,0 mL de amostra. Reconstituição para 0,40 mL da fase móvel.n=3	99
Tabela 12 – Recuperação média (%) do método SPE em 5,0 mL de ACN, para água ultrapura fortificada com as concentrações de 7,0 µg L ⁻¹ , após eluição com 2,5 mL de MeOH.	100
Tabela 13 – Comparação da Recuperação média (%) de uma amostra do ponto PA-01 (3ª semana de coleta) fortificada com as concentrações de 2,0 µg L ⁻¹ , 5,0 µg L ⁻¹ , 7,0 µg L ⁻¹ e 10,0 µg L ⁻¹	103

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, ACRÔNIMOS E SÍMBOLOS

2,4-D	Ácido 2,4- diclorofenoxiacético
2,4-DCF	Ácido 2,4-diclorofenol
ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATZ	Atrazina
BP3	Bacia Hidrográfica do Paraná 3
CBZ	Carbendazim
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CQ	Com <i>QuEChERS</i>
RSD	Desvio padrão relativo
DAD	Detector de arranjo de Diodos
DEA	Desetilatraxina
DIA	Desisopropilatrazina
DLLME	<i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DTE	Detector termiônico específico
FLT	Faixa Linear de Trabalho
FPTI	Fundação Parque Tecnológico de Itaipu
GC	<i>Gas Chromatography</i>
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IPARDES	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
K_{oc}	Coefficiente de Partição para o teor de carbono orgânico
K_{ow}	Coefficiente de Partição octanol-água
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
LPME	<i>Liquid Phase Microextraction</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MeOH	Metanol
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
nm	Nanômetro
PA	Ponto Amostral
pH	Potencial Hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
pK_a	Constante de dissociação do ácido
PSA	<i>Primary Secondary Amine</i>
PTFE	Politetrafluoretileno
<i>QuEChERS</i>	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe
SBSE	<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	<i>Solid Phase MicroExtraction</i>
SQ	Sem <i>QuEChERS</i>
$t_{1/2}$	Tempo de meia-vida
UHE-Itaipu	Usina Hidrelétrica de Itaipu
UV	Ultravioleta
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	OS AGROTÓXICOS	18
3.2	PRESENÇA DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS NATURAIS	23
3.3	CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES DE INTERESSE	25
3.3.1	Atrazina e seus principais produtos de degradação	27
3.3.2	Carbendazim	29
3.3.3	Ácido 2,4 – diclorofenoxiacético (2,4-D)	30
3.4	TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA	31
3.4.1	Técnicas de extração e <i>clean-up</i>	32
3.4.2	QuEChERS	34
3.5	TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO	41
3.5.1	Análise de figuras de mérito	43
4	METODOLOGIA	45
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE AMOSTRAGEM	45
4.1.1	Calendário de amostragem	48
4.2	MÉTODO DE AMOSTRAGEM E PREPARO DE AMOSTRA	48
4.3	REAGENTES E INSUMOS	49
4.4	SISTEMA CROMATOGRÁFICO	50
4.5	FIGURAS DE MÉRITO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO	51
4.5.1	Seletividade	51
4.5.2	Curva analítica, Linearidade e Sensibilidade	52
4.5.3	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	53
4.5.4	Precisão e Exatidão	53
4.6	MÉTODO <i>QuEChERS</i>	54
4.6.1	Desenvolvimento do preparo de amostra	55
4.6.2	Avaliação da recuperação dos analitos em amostra de água superficial	58
4.7	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	59
4.8	EXPERIMENTOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)	60
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5.1	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO	62
5.2	FIGURAS DE MÉRITO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO	70
5.2.1	Seletividade	70
5.2.2	Curva analítica, Linearidade e Sensibilidade	77
5.2.3	Limite de detecção e Limite de Quantificação	79
5.2.4	Precisão e Exatidão	80
5.3	MÉTODO <i>QuEChERS</i>	82
5.3.1	Desenvolvimento do preparo de amostra	82
5.3.2	Avaliação da recuperação dos analitos em amostra de água superficial	85
5.4	ANÁLISE DAS AMOSTRAS	97
5.5	EXPERIMENTOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)	99
6	CONCLUSÃO	106
7	SUGESTÃO PARA ESTUDOS FUTUROS	108
	REFERÊNCIAS	109

APÊNDICE A	117
APÊNDICE B	119
APÊNDICE C	121
APÊNDICE D	122

1 INTRODUÇÃO

A Revolução Verde foi um marco na agricultura, pois a partir dela surgiram tecnologias para aumentar a produtividade no campo, o que acabou fortalecendo o setor devido ao acesso a sementes adaptadas a diferentes climas e também resistentes a pragas. No entanto, a prática do monocultivo dessas sementes fez com que houvesse a proliferação de pragas e como consequência, para combater essas pragas foi necessário iniciar o uso intensivo de agrotóxicos (ANDRADES; GANIMI, 2007).

Esse uso intensivo fez com que o Brasil, se tornasse um dos maiores consumidores destes produtos, já que tem a sua economia baseada na agricultura (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017; PINHEIRO et al., 2009).

Por ser utilizado no controle de diversas pragas, o uso indiscriminado de agrotóxicos contribuiu para a seleção e proliferação de organismos resistentes aos princípios ativos, aumentando ainda mais o consumo. No entanto, o uso sistemático leva à contaminação do ecossistema, pois passam por processos físicos, químicos e biológicos de transformação, que podem levar à dispersão destes agroquímicos nas diversas matrizes ambientais, como ar, solo, água e alimentos (ANDRADES; GANIMI, 2007; PINHEIRO et al., 2009).

De acordo com o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), no ano de 2016, a Região Sul foi responsável por 27% das vendas de agrotóxicos no país, sendo os estados do Paraná e do Rio Grande do Sul os maiores contribuintes para esta estatística (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2017). A produção agrícola paranaense é predominantemente de soja e milho. Nesses cultivares são utilizados diversos agrotóxicos dentre eles a atrazina, o glifosato e o carbendazim.

No Paraná, em pesquisa realizada em 2011, o Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES) realizou um levantamento do consumo de agrotóxicos de acordo com as Bacias Hidrográficas do estado, sendo observado um maior consumo na região centro-oeste, na qual há o predomínio das culturas de soja e milho (IPARDES, 2017). Dentre as Bacias Hidrográficas com maior consumo está a Bacia Hidrográfica do Paraná 3 (BP3), a qual está localizada

ao oeste do estado do Paraná e ao sul do Mato Grosso do Sul e comporta os afluentes que deságuam no rio Paraná, onde está localizado o Lago da Usina Hidrelétrica de Itaipu (UHE-Itaipu).

Entretanto, a matriz ambiental formada por água superficial é uma matriz altamente complexa, pois além dos pesticidas estarem presentes em baixas concentrações neste meio, há um elevado nível de interferentes, o que dificulta sua análise (BANDEIRA et al., 2014). Para a determinação de pesticidas algumas técnicas de limpeza e pré-concentração da amostra são amplamente utilizadas, como é o caso da extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) e microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*) (RIDGWAY; LALLJIE; SMITH, 2007). Mais recentemente surgiu o método *QuEChERS* (do inglês, **Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe** – Rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro), proposto por Anastassiades et al. (2003), o qual foi amplamente difundido na determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

O método *QuEChERS* tem se mostrado eficiente para isolar analitos de pesticidas de matrizes alimentares e o uso de técnicas cromatográficas tem permitido a determinação destes compostos mesmo em baixas concentrações. Além disso, é uma técnica de preparo de amostra que busca a miniaturização, ou seja, a redução no consumo de solventes, na geração de resíduos, no tempo de análise e, conseqüentemente, a diminuição no custo da análise e menor manipulação da amostra. No entanto, existe um potencial a ser estudado para amostras de relevância ambiental, como no caso de avaliação de águas superficiais.

Desta forma, este trabalho visa o desenvolvimento de método *QuEChERS* para o preparo de amostras aquosas contendo pesticidas e metabólitos, bem como desenvolvimento e validação de método cromatográfico (LC-DAD) para determinação destes pesticidas em águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Paraná 3 (BP3). Além disso, também contribui com a possibilidade de análise para monitoramento na BP3.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar o método *QuEChERS* para preparo de amostras de águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Paraná 3 para determinar a presença de pesticidas e metabólitos por cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos (LC-DAD).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar métodos por LC-DAD para a quantificação de Atrazina (ATZ), 2,4-D e Carbendazim (CBZ), além dos metabólitos da atrazina: desisopropilatrazina (DIA) e desetilatrazina (DEA);
- Desenvolver método *QuEChERS* para preparo de amostras de águas superficiais da Bacia Hidrográfica do Paraná 3, visando a determinação de ATZ, DIA, DEA, 2,4-D e CBZ;
- Aplicar a estratégia analítica em amostras da BP3.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 OS AGROTÓXICOS

Segundo o IBAMA, os agrotóxicos são classificados em função dos seus diferentes modos de ação podendo ser chamados de herbicidas quando utilizados para ervas daninhas, inseticidas (insetos), fungicidas (fungos), nematicidas (microfauna do solo), moluscidas (moluscos), entre outros. Também se pode considerar como agrotóxico as substâncias usadas como desfolhantes, dessecantes e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

De acordo com a Lei Federal 7.802, de 11 de Julho de 1989:

“Agrotóxicos são 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 implantadas, e de outros ecossistemas e de 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.” (BRASIL, 1989)

Em todo o mundo o uso de agrotóxicos tem se dado com a finalidade de aumentar a produtividade. Entretanto, muitas vezes seu uso ocorre de forma indiscriminada, podendo causar danos à saúde humana e impactando matrizes ambientais (PINHEIRO et al., 2009). Devido a isso, tem sido de grande interesse da comunidade científica determinar a presença dos pesticidas no meio ambiente, bem como avaliar o comportamento destes e de seus subprodutos nas diferentes matrizes.

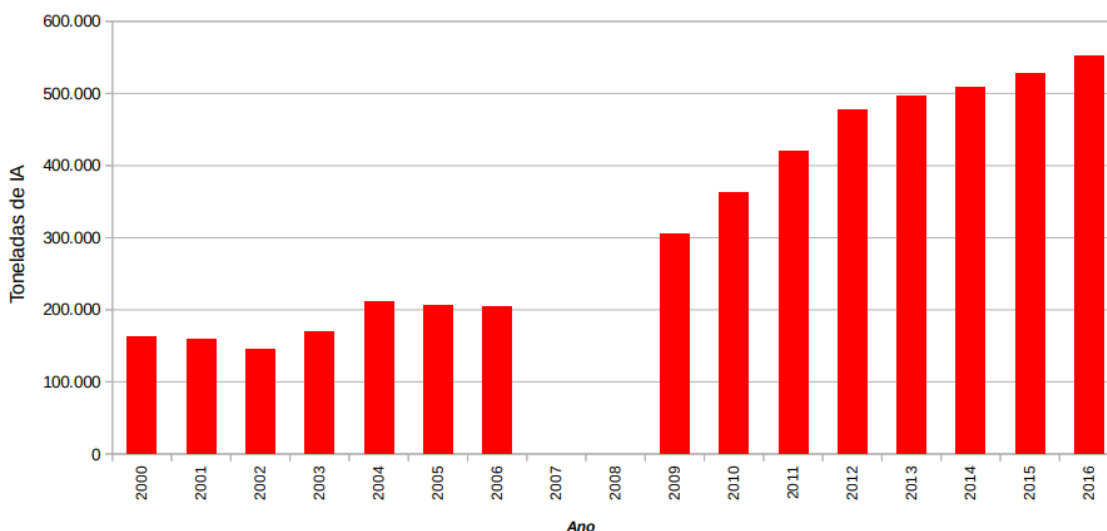
No Brasil, o setor agrícola é um dos principais responsáveis pela economia e pelo PIB. Estudos sobre agrotóxicos têm mostrado um uso elevado de diferentes substâncias com o intuito de melhorar a produção. Isso tem levado o Brasil a sucessivos recordes de produção agrícola e, conseqüentemente, tornando o país

líder mundial no consumo de agrotóxicos, de acordo com o Ministério do Meio Ambiente (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2017).

Anualmente, é gerado pelo IBAMA o “Boletim Anual sobre Produção, Importação, Exportação e Vendas de Produtos Agrotóxicos no Brasil” tendo por base os dados dos relatórios semestrais emitidos pelas empresas que possuem registro de agrotóxicos e afins, seguindo a exigência presente no Art. 41 do decreto nº 4.074/2002 (BRASIL, 2002).

A partir desses dados, o IBAMA realizou a consolidação destas informações em um gráfico com o histórico da comercialização de agrotóxicos desde o ano 2000 até o ano de 2014, conforme pode ser observado a seguir (Figura 1).

Figura 1 - Histórico da comercialização de agrotóxicos e afins (2000 – 2016)



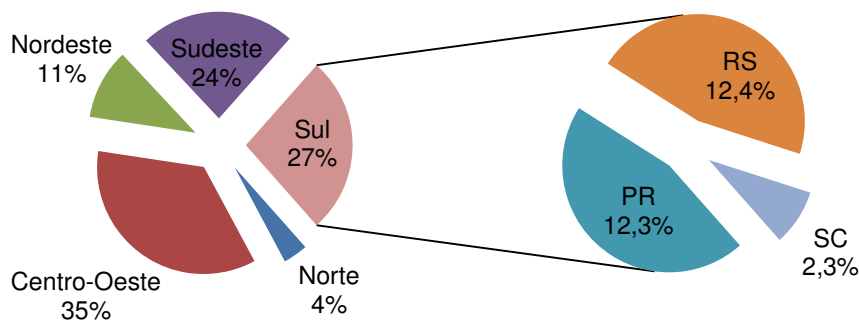
Fonte: IBAMA (2017) / Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002.

Tendo como base o ano de 2014, de acordo com o IBAMA, a região sul é responsável por 27% do total das vendas de agrotóxicos no Brasil, sendo que os estados do Paraná e do Rio Grande do Sul são os que mais contribuem para essa estatística, como pode ser observado na Figura 2.

Segundo a Secretaria do Estado da Saúde do Estado do Paraná, o estado foi o primeiro a constituir uma lei própria, Lei nº 7.827/83 para a comercialização de agrotóxicos. E, além de tornar obrigatória a anuência da Secretaria de Estado da Agricultura, do órgão estadual ambiental e da Secretaria de Saúde, instituiu a

obrigatoriedade do receituário agrônomo, o qual é feito por um engenheiro agrônomo, especificando quais produtos utilizar em cada cultura com a respectiva dose e frequência de aplicação.

Figura 2 - Total das vendas de agrotóxicos e afins nas regiões brasileiras e estados da região sul – 2014



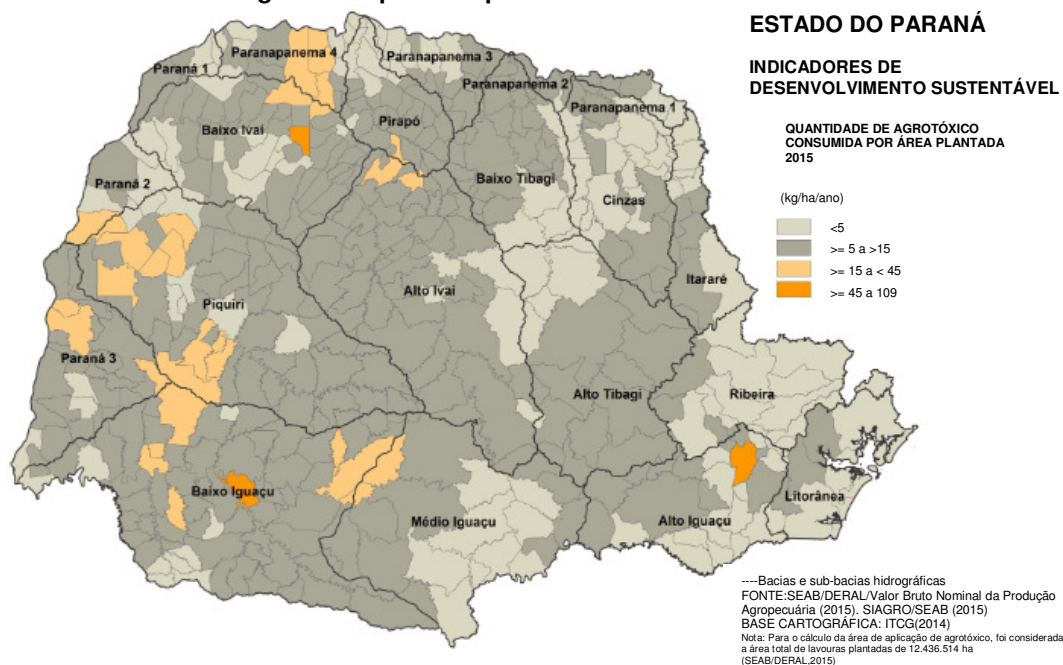
Fonte: Adaptado de IBAMA (2016) / Consolidação de dados fornecidos pelas empresas registrantes de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto nº 4.074/2002.

De acordo com o relatório do Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social (IPARDES) de 2017, a produção agrícola paranaense é predominantemente de soja, seguida de milho e trigo, concentrando-se na porção centro-oeste do estado. Tal fato é refletido no consumo de agrotóxicos como pode ser observado na Figura 3, a qual apresenta a quantidade de agrotóxico por área plantada no ano de 2015, juntamente com as bacias hidrográficas de cada região.

Como pode ser observado, no ano de 2015, na porção centro-oeste do estado, onde ocorre principalmente a produção de milho e soja, o consumo de agrotóxico por área plantada estava entre 5 a 15 kg ha⁻¹ ano⁻¹, com algumas regiões apresentando o consumo entre 15 e 45 kg ha⁻¹ ano⁻¹. Essas culturas utilizam principalmente a Atrazina, o Glifosato, o 2,4-D e o Carbendazim como medidas de controle de pragas, pré ou pós-emergenciais.

No Paraná, no ano de 2015, o IPARDES (2017) apresentou um levantamento do consumo de agrotóxicos de acordo com as bacias hidrográficas do estado e por classe de produto (Tabela 1).

Figura 3 - Quantidade de Agrotóxico por área plantada – 2015



Fonte: IPARDES (2017) apud SEAB/SIAGRO(2015)

Tabela 1 - Consumo de agrotóxico por classe, segundo as Bacias Hidrográficas do Paraná – 2015 – em kg

SUB-BACIAS	TOTAL	CONSUMO DE AGROTÓXICO (kg/L)				
		Classe de Uso				
		Agentes Biológicos	Fungicidas	Herbicidas	Inseticidas	Outros
PARANÁ	102.612.854	165.515	16.848.868	56.118.615	21.083.414	8.396.442
Alto Iguaçu	2.617.481	11.342	755.337	1.109.325	586.980	154.498
Alto Ivaí	11.478.875	15.598	2.452.068	5.463.997	2.311.754	1.235.258
Alto Tibagi	10.653.370	38.509	2.843.159	5.226.186	1.876.752	668.764
Baixo Iguaçu	20.427.686	19.734	3.487.602	12.397.468	3.617.289	905.592
Baixo Ivaí	6.913.604	22.330	593.405	3.489.419	1.427.450	1.381.000
Baixo Tibagi	6.464.682	6.535	927.411	3.617.521	1.330.385	582.830
Cinzas	3.411.001	10.567	448.122	2.050.751	695.331	206.230
Itararé	1.162.643	7.140	190.016	699.481	204.684	61.322
Litorânea	22.372	69	5.913	9.482	5.628	1.280
Médio Iguaçu	4.033.012	9.233	1.149.707	1.670.295	942.168	261.610
Paraná 1	146.379	485	8.927	93.673	36.691	6.604
Paraná 2	217.247	75	17.870	107.682	81.860	9.760
Paraná 3	9.627.011	2.952	912.952	6.216.880	1.716.370	777.857
Paranapanema 1	346.497	99	37.933	215.245	67.888	25.332
Paranapanema 2	230.881	0	18.436	140.648	43.692	28.105
Paranapanema 3	883.056	1.219	63.560	596.491	160.269	61.518
Paranapanema 4	465.093	103	42.329	207.585	138.988	76.088
Piquiri	20.532.280	15.647	2.522.835	11.027.110	5.314.656	1.652.032
Pirapó	2.838.861	3.649	337.378	1.703.755	499.236	294.843
Ribeira	141.023	232	33.909	75.619	25.341	5.922

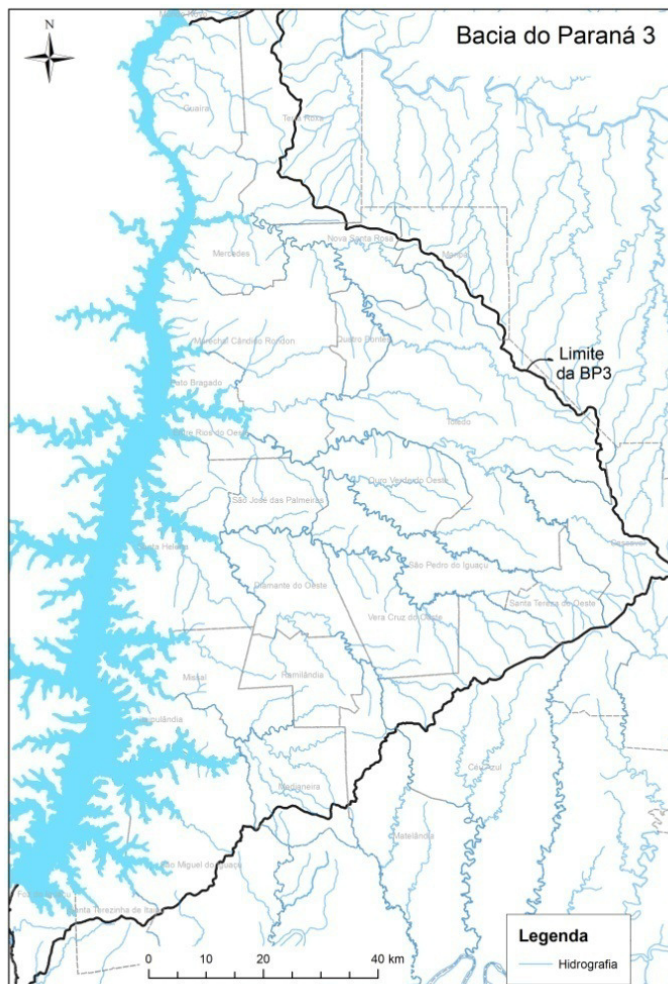
Nota: A classe de uso "outros" inclui os seguintes tipos de Agrotóxicos: acaricida, adjuvante, antibrotante, ativador de plantas, bactericida, espalhante adesivo, estimulante, feromônio, formicida, lesmicida, moluscida, nematicida e regulador de crescimento.

Fonte: IPARDES (2017) apud SEAB/ADAPAR/SIAGRO(2015)

Através da análise dos dados, nota-se que as bacias com maiores índices de consumo de agrotóxicos são as Bacias Hidrográficas do Piquiri, Baixo Iguaçu, Alto Ivaí, Alto Tibagi e Paraná 3, e estas se encontram na região centro-oeste do estado (*vide* Figura 3). Além disso, pode-se observar que no Paraná a classe mais consumida é a de herbicidas. E neste caso, a Bacia Hidrográfica do Paraná 3 fica atrás do consumo apenas das Bacias Hidrográficas do Piquiri e Baixo Iguaçu.

A Bacia Hidrográfica do Paraná 3 (BP3), é uma extensa região localizada no oeste do Paraná e ao sul do Mato Grosso do Sul. Compreende uma área de cerca de 8 mil km² de afluentes que deságuam na margem esquerda do Rio Paraná, onde está localizado o reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu (Figura 4).

Figura 4 - Mapa da Bacia Hidrográfica do Paraná 3



Fonte: Divisão de Geoprocessamento - Itaipu Binacional

No ano de 2013, o IPARDES (2015) apresentou como indicador desfavorável para a BP3 a quantidade de agrotóxico consumida ($11,5 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$), a qual encontrava-se acima da média do estado. E, além disso, apresenta o predomínio da agricultura mecanizada e intensiva (64%) a qual é expressiva pelo fato da região não possuir rotação de cultura, ou seja, apresenta um monocultivo de soja ou milho com sucessão de culturas, o que acarreta em esgotamento do solo não permitindo a sua regeneração. Já no último relatório do IPARDES 2017, a quantidade de agrotóxico consumida passou a ser de $9,63 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. No entanto, este valor ainda é superior a média de consumo do estado ($8,25 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$).

Desta forma, faz-se necessário um estudo de monitoramento da BP3 com o intuito de verificar a presença de pesticidas, uma vez que se sabe das altas taxas de pesticidas utilizadas na região.

3.2 PRESENÇA DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS NATURAIS

Dentro dos processos biogeoquímicos de qualquer região, os recursos hídricos estão incluídos, seja como águas superficiais ou subterrâneas. Quando há a introdução de pesticidas no ambiente, esses recursos hídricos aparecem como principal destino final (RIBEIRO et al., 2007).

Os processos de transporte pelos quais o pesticida passa no ambiente podem ser divididos em: volatilização, lixiviação e escoamento superficial (RIBEIRO et al., 2007).

Oliveira e Brighenti (2011), definem a volatilização como a transferência do pesticida para a atmosfera. Sendo uma fonte de perda significativa dos herbicidas em função da pressão de vapor e propriedades, como estrutura e massa molar. Já a lixiviação é a responsável pelo transporte através do perfil do solo, juntamente com a água da chuva. Por fim, o escoamento superficial é responsável pelo transporte dos pesticidas através da água de escoamento na superfície do solo, a qual poderá ter os corpos hídricos como destino final.

Porém, por qualquer um destes meios de transporte, boa parte dos pesticidas acaba chegando às águas superficiais. Desta forma, diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de detectar a presença desses compostos em

águas superficiais, como é o caso de Ribeiro et al. (2013), que avaliaram a contaminação por pesticidas em amostras de água superficial na área da nascente degradada do Rio São Lourenço – MT. Dos 16 compostos avaliados, foi detectado a presença de carbofurano ($35,25 \mu\text{g L}^{-1}$), carbendazim ($12 \mu\text{g L}^{-1}$), acetamiprime ($23,61 \mu\text{g L}^{-1}$), epoxiconazol, piraclostrobim e tiaclororide.

Outro caso estudado foi de Alves et al. (2010) cujo objetivo foi diagnosticar níveis de pesticidas organoclorados nos cursos hídricos do estado de Goiás. Foram avaliadas 174 amostras de água superficial que correspondiam a 167 municípios, buscando abranger todas as regiões do estado. Do total de amostras, 36,2% apresentavam valores superiores aos permitidos de acordo com a resolução CONAMA 357/05. Foram detectados os pesticidas aldrin, mirex, DDT, lindano, clordano, hexaclorobenzeno, endrin, DDE e metoxicloro, sendo aldrin e mirex os que foram encontrados em um maior número de mananciais. Os autores destacaram que mesmo com a proibição do uso de organoclorados na década de 80, ainda são encontrados elevados níveis desses compostos nos recursos hídricos da região avaliada, demonstrando que são persistentes no ambiente.

Wu et al. (2013) avaliaram propisocloro em três matrizes: água, solo e arroz, todas provenientes da mesma área (plantação de arroz). Para a extração do analito utilizaram o método *QuEChERS* e para quantificação foi utilizado a cromatografia a líquido acoplada a um detector de espectrometria de massa (LC-MS/MS). Para a matriz água obtiveram um limite de detecção (LOD) de $0,12 \mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação (LOQ) de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

Brondi et al. (2011) avaliaram resíduos de atrazina, fipronil e endossulfan nas matrizes de água e sedimento advindas de represas destinadas à dessedentação do rebanho bovino, no Brasil. Utilizaram o método *QuEChERS* para a extração dos analitos e cromatografia a gás acoplada a um detector de espectrometria de massa (GC-MS) para a quantificação. Para a matriz água obtiveram limite de detecção (LOD) de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação (LOQ) de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, não encontrando nenhum dos analitos nas amostras analisadas.

Mais precisamente sobre os analitos neste trabalho, Sousa et al. (2016) avaliaram a presença de pesticidas, dentre eles a ATZ, em águas superficiais do Ceará, através do método de extração em fase sólida e quantificação por LC-DAD, obtendo um LOD de $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de $0,012 \mu\text{g L}^{-1}$ para ATZ. Das amostras

analisadas chegaram a quantificar concentrações em torno de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de ATZ nos rios da região.

Já Amadori et al. (2016) avaliaram o comportamento da atrazina em amostras de solo e em águas superficiais coletadas próximas a área de estudo. Para a quantificação foi utilizado cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos (LC-DAD), obtendo LOD de $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ para ATZ, de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para DIA e DEA e como LOQ foi adotado $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para atrazina e seus produtos de degradação. Das amostras de água analisadas foram detectadas concentrações de 5,2 a $28 \mu\text{g L}^{-1}$ para ATZ em águas superficiais do sudoeste paranaense.

A Resolução CONAMA 357/05, a qual dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, legisla a quantidade máxima de atrazina e 2,4-D permitidos em águas superficiais (classe 2) sendo $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, mas não contempla o carbendazim. Vale ressaltar que os metabólitos da atrazina – DIA e DEA não são legislados.

Já a Comunidade Europeia, *Directiva 2008/105/CE*, que dispõe sobre normas da qualidade ambiental, apresenta uma legislação mais restritiva permitindo $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina na média anual e uma concentração máxima admissível por ponto monitorado de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de atrazina. Não contemplando os metabólitos da atrazina, tampouco o carbendazim.

3.3 CARACTERÍSTICAS DAS ESPÉCIES DE INTERESSE

Dos pesticidas a serem analisados a Atrazina e o 2,4-D são classificados como herbicidas amplamente utilizados no controle pré e pós-emergencial de ervas daninhas em culturas como milho e soja, enquanto que o Carbendazim é classificado como fungicida e é aplicado nas sementes e folhas de culturas como a soja, cultivos comuns da região da BP3. Já DIA e DEA são produtos de degradação da atrazina, sendo investigados juntamente com ela por apresentarem maior solubilidade em água, desta forma, com chances de serem encontradas em águas superficiais próximas a áreas de plantio onde se aplicou a Atrazina (COELHO; DI BERNARDO, 2012).

As propriedades do pesticida afetam o seu escoamento superficial e sua distribuição no ambiente (NARITA et al., 2014). Sendo assim, o conhecimento das características físico-químicas como solubilidade em água, coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}), constante de dissociação do ácido (pK_a), pressão de vapor, coeficiente de partição normalizado para o teor de carbono orgânico (K_{oc}) e tempo de meia-vida, podem ajudar a determinar em qual matriz ambiental o composto poderá ser predominantemente encontrado (DÍAZ-CRUZ; LÓPEZ DE ALDA; BARCELÓ, 2003; OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011).

A solubilidade em água de um composto indica a tendência do analito ser lixiviado e percolado através do solo. Porém, nem sempre a elevada solubilidade resulta em maior mobilidade no solo, pois o composto pode apresentar maior capacidade de retenção no solo (MILHOME et al., 2009).

O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) refere-se à afinidade da molécula com a fase polar (água) e fase apolar (octanol), define se o composto é hidrofóbico ou hidrofílico. Enquanto que a pressão de vapor diz respeito ao potencial de volatilidade da substância (CARMO et al., 2013).

A constante de ionização do ácido (pK_a) está relacionada com a possibilidade de ionização da molécula em soluções de diferentes pH's. Os herbicidas podem ser classificados como ácidos ou básicos, sendo quanto maior o pK_a do herbicida, menor será a sua força ácida, ou seja, menor a chance de ficar em sua forma aniônica. Quando se encontra na forma aniônica, o herbicida apresenta mais chances de ser lixiviado (MILHOME et al., 2009; OLIVEIRA; BRIGHENTI, 2011).

De acordo com Milhome et al. (2009), esses dados referentes ao coeficiente de partição normalizado para o teor de carbono orgânico e tempo de meia vida são pouco citados na literatura pelo fato de serem dependentes de fatores climáticos como tipo de solo, clima, dentre outros. O coeficiente de partição normalizado para o teor de carbono orgânico (K_{oc}) refere-se ao potencial de mobilidade da substância no solo e tempo de meia-vida está relacionado à estabilidade do composto em determinadas condições (MILHOME et al., 2009).

Além dessas características, os herbicidas apresentam classificação toxicológica. Essa classificação é realizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) a qual está vinculada ao Ministério da Saúde e é responsável pela avaliação e classificação toxicológica dos agrotóxicos (ANVISA, 2011).

Os agrotóxicos são classificados em 4 classes sendo: pouco tóxico (Classe IV), medianamente tóxico (Classe III), altamente tóxico (Classe II) e extremamente tóxico (Classe I) (ANVISA, 2011).

Dados dos analitos, referente a estas propriedades, podem ser visualizados nos quadros 1, 2 e 3, sendo discutidos nos subitens a seguir.

3.3.1 Atrazina e seus principais produtos de degradação

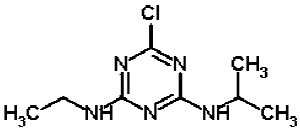
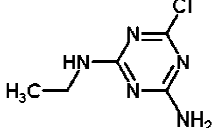
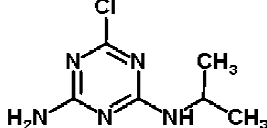
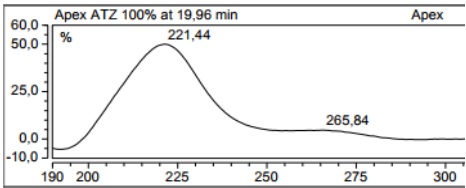
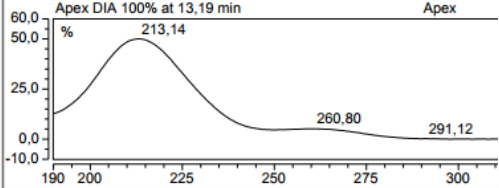
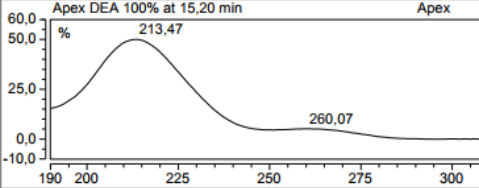
A ATZ é um herbicida seletivo e pertence ao grupo químico das triazinas. Tem registro para uso em sete culturas (abacaxi, cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo) e com classificação toxicológica Classe III – medianamente tóxico (ANVISA, 2016).

Os principais produtos de degradação da ATZ são o DIA e o DEA. O Quadro 1 apresenta as características físico-químicas da ATZ e seus metabólitos.

Analisando os dados, apresentados no Quadro 1, nota-se que os compostos são hidrofílicos e que os produtos de degradação da ATZ apresentam maior solubilidade, sendo maior a probabilidade de se encontrar os metabólitos em águas do que a ATZ. Outro parâmetro que possibilita essa conclusão é o coeficiente de partição para o teor de carbono orgânico (K_{oc}), onde se observa maior valor para a ATZ (93,0) quando comparado ao DEA (72,0) indicando que a ATZ tende a ficar mais retida no solo. Além disso, os valores de $\log K_{ow}$ estão relacionados à retenção dos compostos na matéria orgânica. Desta forma, a ATZ tende a ser mais retida do que seus produtos de degradação.

Pode-se observar que o DEA apresenta maior pressão de vapor que a ATZ, sendo considerado mais volátil. De modo geral, a ATZ é mais persistente que seus metabólitos no meio ambiente e possui tempo de meia vida elevado tanto na água como no solo. Valores de pressão de vapor e tempo de meia vida, não foram encontrados para o DIA.

Quadro 1 - Características físico-químicas da atrazina e seus principais produtos de degradação.

	ATZ	DIA	DEA
Estrutura			
Fórmula Química	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	C ₅ H ₈ ClN ₅	C ₆ H ₁₀ ClN ₅
Massa molar (g mol ⁻¹)	215,68	173,60	187,63
Solubilidade em água	34,7 mg L ⁻¹ (26°C)	670 mg L ⁻¹ (25°C)	3200 mg L ⁻¹ (22°C)
Log K _{ow}	2,61	1,1	1,51
pKa	1,60	-	-
Pressão de vapor (mm Hg)	2,89 x 10 ⁻⁷	-	9,3 x 10 ⁻⁵
K _{oc}	93,0	-	72,0
t _{1/2} solo (d)	75*, 146**	-	45**
t _{1/2} água (d)	86*, 30**	-	-
Espectro UV-Vis			

pKa: log da constante de acidez; Log K_{ow}: coeficiente de partição; K_{oc}: coeficiente de adsorção à matéria orgânica; t_{1/2}: tempo de meia vida

Fonte: Adaptado de PubChem (2017), * MILHOME et al., 2009;

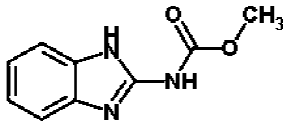
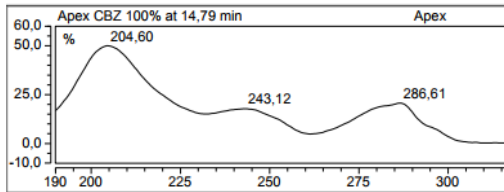
** PAN (http://www.pesticideinfo.org/Search_Chemicals.jsp)

3.3.2 Carbendazim

O carbendazim (CBZ) é um fungicida e pertence ao grupo químico benzimidazol. Tem registro para aplicação foliar nas culturas de algodão, citros, feijão, maçã, milho, soja e trigo, além de registro para aplicação nas sementes de algodão, arroz, feijão, milho e soja. Assim como a ATZ, pertence à Classe III (medianamente tóxico) (ANVISA, 2016).

O Quadro 2 apresenta as características físico-químicas do carbendazim.

Quadro 2 - Características físico-químicas do carbendazim.

CBZ	
Estrutura	
Fórmula Química	$C_9H_9N_3O_2$
Massa molar ($g\ mol^{-1}$)	191,19
Solubilidade em água	29 $mg\ L^{-1}$ (pH 4 e 24°C)
	8 $mg\ L^{-1}$ (pH 7 e 24°C)
	1,4 $mg\ L^{-1}$ (pH 8 e 24°C)
Log K_{ow}	1,52
pKa	4,2
Pressão de vapor (mm Hg)	$7,5 \times 10^{-10}$
K_{oc}	223,0
$t_{1/2\ solo}$ (d)	22*
$t_{1/2\ água}$ (d)	350*
Espectro UV-Vis	

pKa: Log da constante de acidez; Log K_{ow} : coeficiente de partição

Fonte: Adaptado de PubChem (2017);

*PAN (http://www.pesticideinfo.org/Search_Chemicals.jsp)

A solubilidade do CBZ é baixa e depende do pH do meio. Considerando que o pH dos rios encontram-se na faixa de 5 a 7, a solubilidade do CBZ fica em torno de 8 $mg\ L^{-1}$. O K_{oc} relativamente elevado (223,0) indica que o CBZ tende a ficar mais

retido no solo do que em solução. No entanto, como seu pKa é menor do que o pH do meio, existe predomínio da fração aniônica do composto na solução, desta forma há uma tendência a ser lixiviado (MILHOME et al., 2009).

Além disso, apresenta baixa pressão de vapor, tendendo a permanecer no meio em que se encontra. O seu tempo de meia vida no solo é relativamente curto (22 dias) enquanto que na água é elevado (350 dias), indicando ser facilmente degradado por organismos presentes no solo.

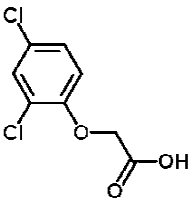
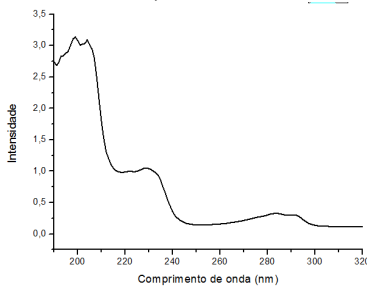
3.3.3 Ácido 2,4 – diclorofenoxiacético (2,4-D)

O 2,4-D é um herbicida e pertence ao grupo químico ariloalcanóico. Tem registro para uso nas culturas de arroz, aveia, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, milho, pastagens, soja, sorgo e trigo. É enquadrado como extremamente tóxico (Classe I) de acordo com a classificação toxicológica da Anvisa (ANVISA, 2016).

A solubilidade do 2,4-D é moderada, assim como a solubilidade do DIA. O K_{oc} baixo (46,0) juntamente com pKa menor do que o pH do meio indica que o 2,4-D tende a ser lixiviado. Apresenta baixa pressão de vapor, assim como a ATZ. Como sua solubilidade é moderada, pode-se dizer que tende a não volatilizar facilmente. E, além disso, o seu tempo de meia vida é curto (em água ou solo) sendo degradado rapidamente.

O Quadro 3 apresenta as características físico-químicas do 2,4-D.

Quadro 3 - Características físico-químicas do 2,4-D.

Ácido 2,4- diclorofenoxiacético (2,4-D)	
Estrutura	
Fórmula Química	
Massa molar (g mol ⁻¹)	221,033
Solubilidade em água	677 mg L ⁻¹ (25°C)
Log K _{ow}	2,81
pKa	2,73
Pressão de vapor (mm Hg)	1,4 x 10 ⁻⁷
K _{oc}	46
t _{1/2} solo (d)	<7*
t _{1/2} água (d)	7,5*
Espectro UV-Vis	

pKa: log da constante de acidez; Log K_{ow}: coeficiente de partição
 Fonte: Adaptado de PubChem (2017);*(PRIMEL et al., 2005)

3.4 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA

O preparo de amostra é uma importante etapa em um procedimento analítico, uma vez que interferentes presentes na matriz podem vir a afetar a identificação e a quantificação das espécies de interesse. Os analitos, geralmente, encontram-se em baixas concentrações na matriz, sendo necessário o isolamento e a concentração destes para se conseguir a sua quantificação(CALDAS et al., 2011).

3.4.1 Técnicas de extração e *clean-up*

Geralmente técnicas de extração e *clean-up* são comumente usadas para amostras cuja matriz tende a ser mais complexa. Diversos trabalhos da literatura são direcionados ao desenvolvimento de técnicas de extração e *clean-up* para obtenção de menor interferência na quantificação dos analitos.

Lopes et al. (2011) realizaram a otimização e validação de dois métodos analíticos para a determinação de pesticidas em águas superficiais e subterrâneas no município de Dourados - MS. Foram determinados os pesticidas: 2,4-D, atrazina, paration metílico, Ácido 2,4-diclorofenol (2,4-DCF), trifluralina, DIA e DEA utilizando dois sistemas cromatográficos um GC-DTE (DTE - detector termiônico específico) e um LC-UV. As amostras de água foram coletadas de um poço artesiano, sendo submetidas à filtração e posteriormente fortificadas com os pesticidas estudados. Foi efetuada a concentração por extração em fase sólida com cartucho C18 e eluição com acetato de etila:diclorometano (1:1 v/v) para as amostras analisadas por GC-DTE (atrazina, DIA, DEA, trifluralina e paration metílico) e com metanol para as amostras analisadas por LC-UV (2,4-D e 2,4-DCF). O método foi considerado eficiente para atrazina, paration metílico e DEA apresentando recuperação de aproximadamente 90%. Já para o DIA e a trifluralina foram obtidos valores inferiores a 30%. Enquanto que para 2,4-D e 2,4-DCF foram obtidos valores inferiores a 47% de recuperação.

Já Ribeiro et al. (2013) avaliaram através de extração em fase sólida e cromatografia a líquido a presença de resíduos de pesticidas em amostras de águas superficiais na área de nascente do Rio São Lourenço-MT. Foram determinados 16 pesticidas, dentre eles o carbendazim. As amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro de 0,45 μm e, em seguida, concentradas em cartuchos de extração em fase sólida contendo 200 mg de SDVB (*styrene divinilbenzene* – estireno divinil benzeno). Os cartuchos foram centrifugados para retirar o excesso de água e eluídos com três porções de 5 mL com a mistura de metanol:acetonitrila (7:3 v/v). O eluato foi concentrado em rotaevaporador e reconstituído com acetonitrila (ACN) já no vial contendo 50 μL de padrão interno de terbutilazina (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$), sendo armazenados em refrigerador até a análise por cromatografia. O método foi considerado eficiente para 14 dos 16 pesticidas avaliados com uma recuperação

média entre 61 e 120%, e preciso, com RSD \leq 15%. Para o lufenurum e clorfluazurum o método não foi eficiente, pois a porcentagem de recuperação média variava entre 28 e 49% com RSD variando entre 7 e 75 % (RIBEIRO et al., 2013).

Prates; Gebara; Ré-Poppi (2011), determinaram 18 pesticidas organoclorados em água de poço semiartesiano utilizando a microextração em fase sólida por *headspace* com cromatografia a gás e espectrometria de massas. No procedimento de microextração foram avaliadas 5 fibras comerciais com diferentes revestimentos e procedimentos de extração com e sem agitação, concluindo que o modo estático apresentou maior eficiência, sendo utilizado para determinar os parâmetros: tempo de extração, tempo de dessorção, pH e força iônica. Os valores de recuperação dos analitos encontraram-se na faixa de 88 a 110%, com RSD entre 0,7 e 7,6%.

Segundo Bandeira et al. (2014) a determinação de resíduos de agrotóxicos é um desafio analítico, principalmente, devido às baixas concentrações dos analitos e a elevada taxa de interferentes. A extração de resíduos de agrotóxicos pode ser realizada por partição líquido-líquido. Porém, novas técnicas no preparo de amostra vêm buscando minimizar a utilização de elevadas quantidades de solvente o que ocasiona redução na geração de resíduos perigosos, menor tempo de análise, além de reduzir o custo por amostra, tais como: extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *stir bar sorptive extration*), microextração em fase líquida (LPME, do inglês *liquid phase microextration*) (RIDGWAY; LALLJIE; SMITH, 2007), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) (LETSEKA; GEORGE, 2017) e *QuEChERS* (do inglês **Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe**). As técnicas de SPE e SPME têm sido mais utilizadas devido a sua elevada capacidade de concentração das amostras, enquanto a técnica *QuEChERS* tem se destacado devido a sua elevada seletividade na extração de agrotóxicos.

3.4.2 QuEChERS

O método *QuEChERS* (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe) foi proposto em 2003 por Anastassiades et al. (2003), sendo amplamente difundido para determinação de pesticidas em amostras de alimentos. Esse método veio como uma alternativa a reduzir os volumes de solvente utilizados nos métodos de extração.

O método desenvolvido por Anastassiades et al.,(2003) é composto por três fases: extração, partição e limpeza. Assim como em outros procedimentos de extração, são utilizados solventes e agentes clarificantes, como sais e adsorventes, os quais interagem com a matriz carreando o analito para o solvente e eliminando os interferentes.

Para a escolha do solvente a ser utilizado, algumas características devem ser consideradas, como: seletividade durante as etapas de extração, partição e limpeza apresentando poucos co-extrativos, compatibilidade com diferentes técnicas cromatográficas (LC e GC) e apresentar baixo custo (PRESTES et al., 2009). A ACN, além de apresentar essas características também é miscível em água, é um solvente não clorado e facilita a separação por *salting out*. Desta forma, a ACN foi selecionada como solvente de extração para o método *QuEChERS* (ANASTASSIADES et al., 2003; PRESTES et al., 2009).

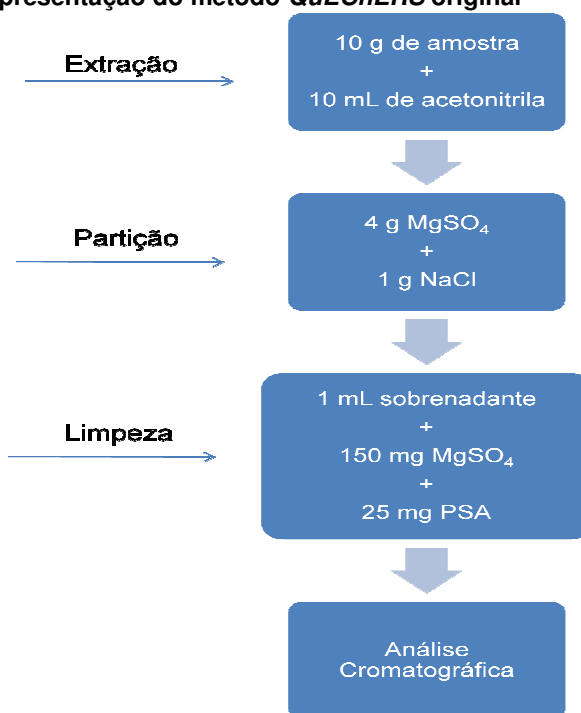
Durante a etapa de partição, a adição de sais promove o efeito "*salting out*" utilizado em vários métodos multirresíduos, resultando em um aumento na recuperação dos analitos polares, uma vez que a adição de sais diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa, assim como a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa. A adição de $MgSO_4$ é decorrente da sua maior capacidade de retirar água quando comparado a outros sais. Além de reduzir o volume da fase aquosa, o processo de hidratação do $MgSO_4$ é altamente exotérmico, ou seja, há um aquecimento da amostra entre 40 e 45 °C durante a etapa de extração/partição, o que favorece a extração, principalmente, de compostos apolares (ANASTASSIADES et al., 2003; PRESTES et al., 2009).

A remoção de água residual e *clean-up* ocorrem simultaneamente através do método denominado de extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) e esta etapa tem como objetivo remover os co-extrativos da matriz dentre eles os ácidos graxos livres

e outros compostos polares presentes na matriz (PRESTES et al., 2009). Nesta etapa utiliza-se a sílica PSA (*primary secondary amine*) que consiste em uma sílica modificada com grupamentos de amina primária e secundária, a qual possui afinidade e alta capacidade de remoção de ácidos graxos, ácidos orgânicos dentre outros, e é utilizada para reduzir significativamente os efeitos de matriz.

Na Figura 5 pode-se observar a representação do método *QuEChERS* original.

Figura 5 - Representação do método *QuEChERS* original



Fonte: Adaptado de Prestes et al. (2009)

Estudos utilizando o método *QuEChERS* já vêm sendo realizados em larga escala para a detecção de resíduos de pesticidas em alimentos. Como é o caso do estudo de Bedassa; Gure; Megersa (2015) que propuseram a determinação de 6 resíduos de pesticidas multiclasse em tomate, melancia e amostras de papaia.

Segundo González-Curbelo et al. (2015) desde sua proposição por Anastassiades et al. (2003), modificações no método *QuEChERS* já foram realizadas com o intuito de abranger as necessidades de cada amostra, bem como

obter maiores valores de recuperação em matrizes de diferentes complexidades, além de reduzir o efeito matriz.

Alguns autores têm mencionado a possibilidade de aplicá-lo com sucesso na determinação de micotoxinas, além do emprego original para pesticidas (PRESTES et al., 2009). Outros autores relatam que o método foi aplicado para a determinação multirresíduo de 45 agrotóxicos em amostras de leite bovino do tipo UHT integral (BANDEIRA et al., 2014).

Pelo fato de em alguns casos existir problemas de acordo com a estabilidade ou recuperação relacionados ao pH da amostra, surgiu então a primeira modificação no método, que consistiu na adição de tampão citrato (PAYÁ et al., 2007) e tampão acetato (LEHOTAY; MASTOVSKÁ; LIGHTFIELD, 2005) onde o pH da solução fica entre 4 e 5, o que aumenta a taxa de recuperação dos pesticidas mais sensíveis a mudanças entre ácido e base.

Outra modificação que aconteceu foi na etapa de limpeza, onde durante o d-SPE foi adicionado sílica C18, a qual pode ser usada de forma combinada com a sílica PSA ou independente. Inicialmente o uso da fase C18 era utilizado para casos de amostras com alto teor de lipídios, não afetando a recuperação dos pesticidas (GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2015).

Apesar de amplamente difundido para quantificação de pesticidas em amostras de alimentos, muito pouco foi avaliado até o momento na análise de relevância ambiental, como águas superficiais. Brondi et al. (2011), já realizaram a determinação de ATZ, fipronil e α e β - endossulfan em reservatório de água para abastecimento de rebanho bovino, utilizando o método *QuEChERS* seguido de quantificação por GC-MS e obtiveram valores de exatidão, precisão e linearidade obedecendo os critérios aceitáveis pelos órgãos regulamentadores. Após a validação do método aplicaram em amostras de água e sedimentos e nenhum dos pesticidas analisados foi detectado.

O Quadro 4 apresenta dados compilados a partir da literatura de alguns exemplos de aplicação do método *QuEChERS*, em diferentes matrizes, incluindo modificações no método.

Quadro 4 – Exemplos do uso QuEChERS para determinação de pesticidas em diferentes matrizes e novas aplicações (micotoxinas), incluindo modificações no método. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).

Composto	Matriz	Preparo da amostra	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RDS (%)	Técnica de quantificação	Referência
14 pesticidas organoclorados	Frutas	10 g amostra + 10 mL ACN → agitação 1 min → 1,0 g Na ₃ Citrato dihidratado + 0,5 g Na ₂ HCitrato sesqui-hidratado + 1 g NaCl + 4 g MgSO ₄ → agitação 1 min → centrifugação (8700 RCF 15 min) → sobrenadante + 0,9 g MgSO ₄ + 0,15 g PSA → agitação manual 30 s → centrifugação(5000 RCF 5 min) → 4 mL sobrenadante + 40 μL 5% 37C. Fórmico em ACN → evaporado em fluxo de N ₂ a 40 °C até 1 mL → injeção	-	1-13	< 17	GC-MS	CIÉSLIK et al., 2011
8 inseticidas	Folha de bananeira	2 g amostra + 430 μL água Milli-Q + 12,5 mL ACN → agitação 1 min → 4 g MgSO ₄ monohidratado + 1,0 g NaCl + 1,0 g citrato de sódio desidratado tribásico + 0,5 g Na ₂ Hcitrato sesqui-hidratado → agitação 2 min → sonicção 5 min → centrifugação (4400 rpm 8 min) → sobrenadante + 0,750 g MgSO ₄ monohidratado + 0,125 g PSA + 0,040 g carbono grafitizado → agitação vórtex 2 min → centrifugação(4400 rpm 8 min) → sobrenadante evaporado em rotaevaporador a40 °C → ressuspenso em 1 mL de ciclo-hexano + MgSO ₄ → filtrado em PTFE → injeção	2–64	-	< 9,1	GC-NPD	GONZÁLEZ-CURBELO et al., 2011
7 pesticidas multiclasse	Óleo de palma	3 g amostra + 7 mL água + 10 mL ACN + 4,0 g MgSO ₄ + 1,0 g NaCl → agitação vórtex 1 min → centrifugação (4000 rpm 1 min) → extrato congelado por 2 h a - 20 °C → 5 mL do sobrenadante + 0,75 g MgSO ₄ anidro + 0,25 g PSA + 0,25 g C18 + 0,25 g Carbono grafitizado; → agitação vórtex 30 s → centrifugação(4000 rpm 1min) → 3 mL sobrenadante foram secos e reconstituídos em 1 mL com 20% MeOH → filtrados em filtro PTFE 0,22 μm → injeção	0,6-5 ng g ⁻¹	2-9 ng g ⁻¹	<10,4	LC-MS	SOBHAZADEH et al., 2012

RCF: Força Centrífuga Relativa; LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo
(Continua)

Quadro 4 – Exemplos do uso QuEChERS para determinação de pesticidas em diferentes matrizes e novas aplicações (micotoxinas), incluindo modificações no método. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).

Composto	Matriz	Preparo da amostra	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RDS (%)	Técnica de quantificação	Referência
128 pesticidas multiclasse	Banana	10 g amostra + 10 mL 1% HAc em ACN → agitação (3000 rpm 1 min) → 4,0 g MgSO ₄ + 1,0 g NaAc → agitação (3000 rpm 1 min) → centrifugação(4000 rpm 9 min) → sobrenadante + 1,5 g MgSO ₄ → agitação (3000 rpm 1 min) → centrifugação(4000 rpm 9 min) → injeção	5	10	<17,3	LC-MS/MS	CARNEIRO et al., 2013
124 pesticidas	Arroz	5 g amostra + 10mL água + 10 mL ACN → geladeira 30 min → agitação vórtex 1 min → 4,0 g MgSO ₄ anidro + 1,0 g NaCl → agitação vórtex 1 min → centrifugação (4000 rpm 20 min 10 °C) → 5 mL sobrenadante + 0,750 g MgSO ₄ anidro + 0,375 g PSA; → agitação vórtex 1 min → centrifugação(4000 rpm 20 min 10 °C) → 1 mL do sobrenadante +100 μL 1 % HAc em ACN → seco em fluxo de N ₂ → ressuspenso em 200 μL de n-hexano e acetona (9:1, v/v) → injeção	0,1-7,3	1,1- 24,4	< 20	GC-MS/MS	HOU et al., 2013
14 micotoxinas	Arroz	10 ± 0,05 g amostra + 10 mL água + 10 mL 10% ácido fórmico em ACN → agitação vórtex 30 s → shaker 1 h velocidade máxima → 4,0 g MgSO ₄ anidro + 1,0 g NaCl + 1,0 g tri-Na + 0,5 g di-Na → agitação manual 1 min → centrifugação (3400 rpm 5 min) → 8 mL do sobrenadante + 1,2g MgSO ₄ anidro + 0,25 g C18+ 0,25 g Al-N + 0,4 g PSA; → agitação manual 1 min → centrifugação(3400 rpm 5 min) → secar 5 mL do extrato (40 °C em fluxo de N ₂) → reconstituir em 1 mL da fase móvel → vórtex 1 min → filtrar o extrato → injeção	0,5-15	1,7-50	< 7	LC-MS/MS	KOESUKWIWAT; SANGUANKAEW; LEEIPATPIBOON, 2014
40 pesticidas multiclasse	Peixe	2 g amostra liofilizada + 8 mL água Milli-Q + 15 mL ACN → agitação 30 s → 6 g MgSO ₄ + 1,5 g NaCl → agitação 1 min → centrifugação (4000 rpm 4 min) → 2 mL sobrenadante + 0,3 g MgSO ₄ + 0,1 g PSA + 0,1 g C18 + 0,015 g carvão ativado; → agitação 30 s → centrifugação(4000 rpm 4 min) → filtração filtro seringa PTFE (0,22 μm) → injeção	0,01–5 g^{-1}	0,03–11,25 ng g^{-1}	< 20	LC-MS/MS	BELenguER et al., 2014

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo

(Continua)

Quadro 4 – Exemplos do uso QuEChERS para determinação de pesticidas em diferentes matrizes e novas aplicações (micotoxinas), incluindo modificações no método. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).

Composto	Matriz	Preparo da amostra	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RDS (%)	Técnica de quantificação	Referência
109 pesticidas multiclasse	Tomate	15 g amostra + 15 mL 1% HAc em ACN → 6 g MgSO ₄ + 1,5 g NaAc → agitação vórtex 1 min → centrifugação (5000 rpm 1 min) → 4 mL + 0,6 g MgSO ₄ + 0,2 g PSA; → agitação vórtex 1 min → centrifugação (5000 rpm 1 min) → injeção	0,5–10,8	1,3-30,4	< 19,2	LC-MS/MS	GOLGE; KABAK, 2015
6 pesticidas multiclasse	Frutas	10 g amostra + 2 mL ACN → agitação manual → shaker 1 h velocidade máxima → 4,0 g MgSO ₄ + 1,0 g NaCl → agitação 1 min → centrifugação (3000 rpm 10 min) → 1,5 mL do sobrenadante + 0,45 g MgSO ₄ + 0,075 g C18+ 0,075 g PSA; → agitação 30 s → centrifugação (3000 rpm 3 min) → filtrar 3 mL do extrato em filtro de nylon de 0,2 μm → injeção	1,7 – 3,3	5,8 – 11,1	< 11,7	LC- VWD	BEDASSA; GURE; MEGERSA, 2015
116 pesticidas	Mel	5 g amostra + 10 mL água → agitação vórtex 30 s → 10 mL ANC:acetato de etila (70:30) com 1% ác. Acético (v/v) → agitação vórtex 1 min → 4,0 g MgSO ₄ + 1,0 g NaAc → agitação vórtex → centrifugação (1900 g 9 min) → 0,5 mL do sobrenadante + 0,15 g MgSO ₄ + 0,050 g Florisil + 0,050 g PSA; → agitação vórtex → centrifugação (1900 g 9 min) → injeção	5	10 – 25	< 20	LC-MS/MS	TETTE et al., 2016
Carbendazim	Romã e solo	A) 15 g romã + 15 mL ACN → agitação 1 min → 6,0 g MgSO ₄ anidro + 1,5 g NaAc → agitação 2 min → centrifugação (4470 xg 10 min) → 4,0 mL do sobrenadante + 0,60 g MgSO ₄ + 0,10 g C18+ 0,20 g PSA; → agitação 2 min → centrifugação (4470 x g rpm 10 min) → 2 mL do sobrenadante → injeção B) 20 g solo + 30 mL ACN:água (2:1) → agitação 1 min → 6,0 g MgSO ₄ anidro + 1,5 g NaAc → agitação 2 min → centrifugação (4470 xg 10 min) → 10 mL solução NaCl → 4,0 mL do sobrenadante + 0,60 g MgSO ₄ + 0,10 g C18+ 0,20 g PSA; → agitação 2 min → centrifugação (4470 xg rpm 10 min) → 2 mL do sobrenadante → injeção	-	5	< 10,9	LC-MS/MS	MOHAPATRA; LEKHA, 2016

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo

(Continua)

Quadro 4 – Exemplos do uso QuEChERS para determinação de pesticidas em diferentes matrizes e novas aplicações (micotoxinas), incluindo modificações no método. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017).

Composto	Matriz	Preparo da amostra	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RDS (%)	Técnica de quantificação	Referência
30 pesticidas	Leite	20 mL amostra + 16 mL ACN → agitação manual 1 min → 8,0 g MgSO_4 anidro + 2,0 g NaCl → agitação manual → centrifugação (6000 rpm 5 min) → 12 mL do sobrenadante foram secos → reconstituídos em 1,2 mL de ACN → 0,125 g PSA + 0,025 g Z-Sep + 0,005 g Z-Sep Plus; → agitação 1 min → centrifugação (6000 rpm 5 min) → 800 μL do sobrenadante foram secos → ressuspensos em 200 μL ACN → injeção	0,02-0,06*	0,07-0,19*	< 20	LC-DAD	REJCZAK; TUZIMSKI, 2017
216 pesticidas e metabólitos	Solo	5 g amostra + 10 mL água → agitação manual 1 min → 10 mL 1% Ác. Fórmico em ACN → agitação vórtex 7 min → 4,0 g MgSO_4 + 1,0 g NaCl + 1,0 g Na_3 Citrato dihidratado + 0,5 g Na_2H Citrato sesqui-hidratado → agitação 1 min → centrifugação (4500 rpm 5 min) → congelador -60 °C → 2 mL do sobrenadante acidificados com 20 μL ác. Fórmico 1% em ACN → secos a 40 °C → reconstituídos em 2 mL n-hexano e acetona (9:1, v/v) → filtração nylon (0,45 μm) → injeção	-	5-10	< 17	GC-MS/MS	ŁOZOWICKA; RUTKOWSKA; JANKOWSKA, 2017

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo

* $\mu\text{g L}^{-1}$; Z-Sep e Z-Sep Plus: sorvente a base de zircônio.

3.5 TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO

A cromatografia é uma técnica sensível e é utilizada para a detecção e quantificação de agrotóxicos. Além disso, é uma técnica analítica reconhecida para a separação de misturas, na qual é possível realizar análises qualitativas e quantitativas das substâncias separadamente (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2011).

Diversos estudos mostram ser possível a detecção de pesticidas através de LC-DAD analisando diferentes matrizes, como é o caso de Primel et al. (2005), Lopes et al. (2011) e Ribeiro et al. (2013) que determinaram diferentes compostos, dentre eles o 2,4-D e carbendazim, em águas superficiais e/ou subterrâneas. Já Amadori et al. (2013) avaliaram atrazina e seus principais produtos de degradação na matriz solo e água subterrânea.

Outra técnica também muito utilizada é a cromatografia a gás. Lopes et al. (2011) determinaram ATZ, DIA, DEA, dentre outros, em águas superficiais e subterrâneas utilizando GC-DTE. Estudos utilizando GC-MS são comumente encontrados na literatura, na maioria dos casos determinam um grande número de analitos simultaneamente, como é o caso de He et al. (2015) os quais determinaram 219 pesticidas, em milho, trigo e arroz. Prates; Gebara; Ré-Poppi, (2011) analisando água subterrânea quantificaram 18 pesticidas organoclorados e Brondi et al. (2011) também analisando água superficial e sedimento determinaram ATZ, fipronil e endossulfan utilizando GC-MS.

No Quadro 5 são apresentados alguns dados compilados a partir da literatura referentes às técnicas de quantificação para as espécies de interesse, bem como os valores de LOD e LOQ e as técnicas de extração utilizadas.

Quadro 5 – Exemplos do uso técnicas de extração e quantificação para determinação de pesticidas em águas superficiais, com os respectivos LOD's e LOQ's. Dados compilados a partir da literatura (2011-2017)

Composto	Técnica de extração	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RDS(%)	Matriz	Valor encontrado nas amostras	Técnica de quantificação	Referência
Atrazina	QuEChERS	3	10	< 12 (água) < 16 (sedimento)	Água superficial e sedimento	nd	GC- MS	BRONDI et al., 2011
2,4-D	SPE/C18	0,072	0,22	< 11	Água superficial e subterrânea	Detectado-**	LC-UV	LOPES et al., 2011
DIA		-	-			nd	GC- DTE	
DEA		0,12	0,48			nd		
Atrazina		0,084	0,25			nd		
Carbendazim	SPE/C18	0,75	0,99	< 15	Água Superficial	12 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-DAD	RIBEIRO et al., 2013
Atrazina	SPE/OASIS HLB	0,0003	0,025	< 4	Água superficial	1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-MS/MS	DE GERÓNIMO et al., 2014
Atrazina	SPE/OASIS HLB	0,0001	0,0003	< 20	Água superficial	7,97 ng L^{-1}	LC-MS/MS	BELENGUER et al., 2014
DIA		0,0005	0,0015			nd		
DEA		0,0001	0,0003			4,48 – 10,61 ng L^{-1}		
Atrazina	SPE/C18	0,004	0,012	3,9	Água superficial	7,0 – 15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	LC-DAD	SOUSA et al., 2016
Atrazina	SPE/C18	0,35	-	2,1	Água superficial	nd	LC-DAD	BARCHANSKA et al., 2017
DIA		0,04	-	5,1				
DEA		0,19	-	3,6				
Atrazina	DLLME	0,0081	-	6,9	Água superficial	nd	GC-FID	LETSEKA; GEORGE, 2017
Atrazina	SPE/OASIS HLB	0,02	0,07	0,20	Água superficial	<LOD	LC-MS/MS	RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2017
DIA		0,03	0,08	0,22				
DEA		0,03	0,08	0,30				

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; nd: não detectável; RSD: desvio padrão relativo

3.5.1 Análise de figuras de mérito

O objetivo em se validar um método é garantir confiabilidade aos resultados para atender exigências analíticas (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003). Para isto, deve-se fazer um planejamento da metodologia e dos objetivos a serem alcançados antes da validação do método (INMETRO, 2016), segundo uma determinada norma. Entretanto, mesmo que uma validação propriamente dita não seja aplicada, deve-se ainda buscar garantir a qualidade dos resultados apresentados. Para isso, algumas figuras de mérito devem ser avaliadas.

Diversos órgãos possuem documentos os quais dão diretrizes de como realizar a validação de um método analítico. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) possui a Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 a qual determina os parâmetros analíticos para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. O Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) apresenta um documento mais abrangente denominado de “Orientação sobre validação de métodos analíticos” DOQ-CGCRE-008, o qual teve a sua última atualização em agosto de 2016. Neste documento é sugerida uma forma de validação, mas esta é aberta a interpretação e adaptação do analista de acordo com a finalidade do método.

Em 2011, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou o “Manual da Garantia da Qualidade Analítica” o qual estabelece parâmetros e critérios para a análise de resíduos e contaminantes em alimentos, podendo ser aplicada em diversas áreas da atividade analítica laboratorial.

Tratando-se de confiabilidade dos resultados analíticos diversas fontes relacionam parâmetros de mérito que devem ser avaliados, como: linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação, seletividade, precisão e exatidão, (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016; LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004). De maneira geral, segundo algumas destas fontes, o conceito do parâmetro a ser analisado apresenta uma definição similar. Por exemplo:

Linearidade e faixa de trabalho é a capacidade de uma metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração

do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011).

O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016). O limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016).

Seletividade é a capacidade que o método possui de medir um composto na presença de interferentes, como produtos de degradação e componentes da matriz (ANVISA, 2003; MAPA, 2011; INMETRO, 2016).

A precisão mede a capacidade dos resultados obtidos se assemelharem entre si e representa a dispersão de resultados para uma mesma amostra, amostras ou padrões semelhantes, sob condições previamente definidas. Ela pode ser avaliada através da repetitividade, precisão intermediária e da reprodutibilidade. A reprodutibilidade somente pode ser estimada através de um ensaio interlaboratorial colaborativo. A repetitividade é a precisão intracorrída, ou seja, é a concordância entre resultados de medições sucessivas, realizadas sob as mesmas condições. Já a precisão intermediária é avaliada sobre a mesma amostra alterando algumas condições como: dia de análise, analista, equipamentos e condições ambientais (ANVISA, 2003; MAPA, 2011; INMETRO, 2016).

A exatidão representa o grau de concordância entre o valor encontrado experimentalmente com o valor esperado (concentração teórica). Deve ser determinada entre corridas e em uma mesma corrida analítica, não devendo exceder 15%, com exceção para o limite de quantificação, que pode admitir desvios menores ou iguais a 20% (ANVISA, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004).

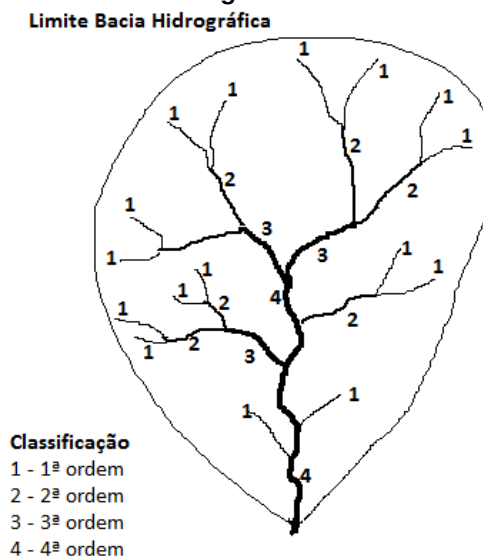
4 METODOLOGIA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL DE AMOSTRAGEM

Os pontos de coleta foram definidos juntamente com a Itaipu Binacional (BENASSI et al., 2016), pelo fato desta ter conhecimento prévio da área através do Programa de Gestão por Bacias Hidrográficas.

Entende-se por bacias hidrográficas como áreas delimitadas por divisores de águas (terreno mais elevado) as quais drenam a água da chuva para áreas mais baixas, formando a partir de afluentes, um curso de água principal. Dentro da área de uma bacia hidrográfica temos um conjunto de rios, que se encontram formando rios maiores até que esse último deságue em sua foz. Para esse conjunto de rios existe uma hierarquia, através da qual eles são classificados. Rios que não recebem nenhum afluente são denominados de rios de 1ª ordem. O encontro de dois rios de 1ª ordem dá origem a um rio de 2ª ordem e assim sucessivamente. Se rios de ordens diferentes se encontrarem, permanece a classificação do rio de maior ordem (TUCCI, 2002). A Figura 6 apresenta a representação de uma bacia hidrográfica com a classificação dos rios.

Figura 6 - Representação de uma Bacia Hidrográfica com a classificação dos rios

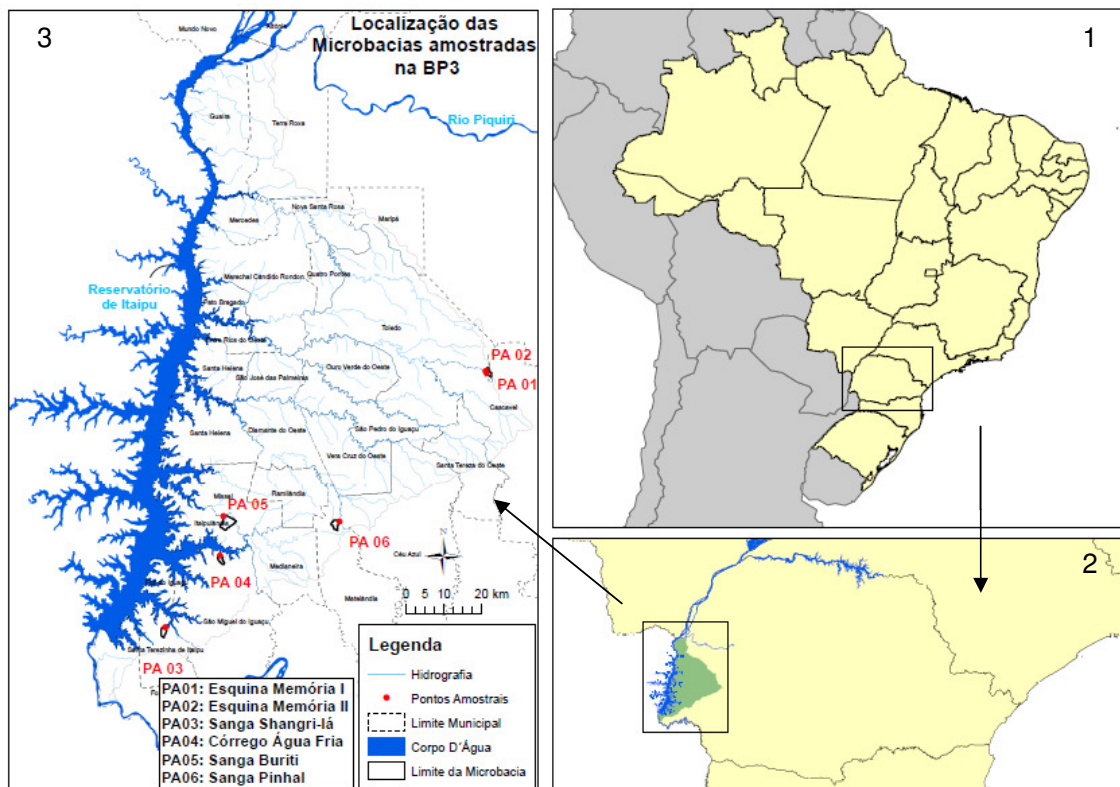


Fonte: Adaptado de Tucci,(2002).

Para este trabalho foram selecionados 06 pontos de coleta, sendo possível realizar a amostragem em um único dia. Para a escolha desses pontos foram utilizados alguns critérios como: as propriedades de entorno deveriam ter área maior ou próxima a 100 ha, as bacias hidrográficas deveriam ter até 1000 ha, foram priorizados rios de 1ª e 2ª ordem (apenas em casos excepcionais rios de 3ª ordem), pois foi dada preferência para cursos d'água que tivessem uma menor vazão, e desta forma maior probabilidade de detectar os micropoluentes e, além disso, os pontos de coleta deviam ser de fácil acesso, próximos a residências ou pequenas pontes rodoviárias (BENASSI et al., 2016).

A Figura 7 apresenta o mapa da Bacia Hidrográfica do Paraná 3 com a localização dos 06 pontos amostrais. No Apêndice A encontram-se algumas fotos dos locais de coleta.

Figura 7 - Mapa com a localização das Microbacias amostradas na Bacia Hidrográfica do Paraná 3



Fonte: Divisão de Geoprocessamento – Itaipu Binacional

Observação: Este mapa pode ser visualizado no Apêndice B.

No município de Toledo encontra-se a sub-bacia do rio São Francisco Verdadeiro, o qual deságua no rio Lopeí, que por sua vez deságua no rio homônimo a sub-bacia. Esta sub-bacia é formada pelas Microbacias Sanga Esquina Memória I (PA-01 – S 24° 48' 53,4" O 53° 33' 25,4"), com área de 102,79 ha, e Sanga Esquina Memória II (PA-02 – S 24° 48' 34,9" O 59° 33' 34,2"), com área de 71,69 ha, sendo estes dois pontos de coleta (BENASSI et al., 2016).

O comprimento das sangas – da nascente ao ponto de coleta – é de 1.135,38 m e 489,98 m, respectivamente. Ambas são classificadas como rios de primeira ordem. Quanto ao uso, mais de 95% do solo é utilizado para a agricultura (BENASSI et al., 2016).

Já no município de Santa Terezinha de Itaipu está localizada a sub-bacia do rio Passo Cuê, seu único rio, que deságua diretamente no Reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu. Esta sub-bacia é formada pela microbacia Sanga Shangri-lá (PA-03 – S 25°24'25,1" O 54°24'57,4"), com aproximadamente 307 ha e comprimento médio de 1.680 m, sendo classificado como um rio de primeira ordem. Quanto ao uso do solo 88,65% é destinado à agricultura (BENASSI et al., 2016).

No município de São Miguel do Iguçu está localizada a sub-bacia do Ocoí. Esta sub-bacia é formada pela microbacia Córrego Água Fria (PA-04 – S 25°14'19,8" O 54°16'01,7") que deságua diretamente no Reservatório da Usina Hidrelétrica de Itaipu. Apresenta uma área de 1.680 ha, com o comprimento do rio principal de 2.481 m, sendo classificado como um rio de primeira ordem. Nesta microbacia a agricultura é responsável por 77,05% do uso do solo (BENASSI et al., 2016).

Na sub-bacia do rio São João está localizada a microbacia Sanga Buriti (PA-05 – S 25°08'40,0" O 54°15'21,6") que se encontra na divisa dos municípios de Itaipulândia e Missal, com uma área estimada de 901 ha e seu rio principal apresenta 3.100 m de comprimento. É classificada como um rio de segunda ordem e possui 69,75% do seu solo destinado à agricultura (BENASSI et al., 2016).

Localizada no município de Matelândia a sub-Bacia do rio São Francisco Falso é formada pela microbacia Sanga Pinhal (PA-06 – S 25°09'48,9" O 53°57'04,6") com uma área de aproximadamente 376 ha e seu rio principal possui um comprimento de 2.607 m. Este é o único rio de terceira ordem que foi selecionado para este trabalho e possui 75,75% do seu solo destinado à agricultura (BENASSI et al., 2016).

Em todos os pontos selecionados predomina o cultivo de milho e soja.

4.1.1 Calendário de amostragem

O calendário de amostragem teve por base informações do calendário agrícola da região. A partir da segunda quinzena de janeiro até o final do mês de fevereiro/2017 ocorre a colheita da soja – neste intervalo foi realizada a primeira etapa de coleta de amostras, pois alguns agricultores utilizam atrazina como dessecante devido à variedade de soja cultivada na região.

No período de 07 de setembro a 12 de outubro de 2017 foi realizada a segunda etapa de coleta. Este período coincidiu com o preparo do solo e semeadura da soja, onde atrazina e glifosato normalmente são utilizados como dessecantes na região, na qual predomina o plantio direto no solo. Além disso, há possibilidade de ser encontrado carbendazim, que pode ser usado no tratamento das sementes ou aplicado após emergência da planta para o tratamento de algum fungo.

De acordo com a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (Adapar), o vazio sanitário da soja no estado, para o ano de 2017, foi de 10 de junho a 10 de setembro. O vazio sanitário da cultura de soja é uma forma de se evitar a ferrugem asiática, ou seja, os produtores não podem ter a presença de plantas vivas em qualquer estágio do desenvolvimento neste período, de acordo com a Portaria 202/17 (ADAPAR, 2017). Com base nisso, sabe-se que os agricultores procuram realizar o preparo do solo semanas antes do plantio, período em que as amostras foram coletadas.

4.2 MÉTODO DE AMOSTRAGEM E PREPARO DE AMOSTRA

A metodologia de amostragem seguiu a Resolução nº 724, de 03 de outubro de 2011 da Agência Nacional de Águas, a qual “estabelece procedimentos padronizados para a coleta e preservação de amostras de águas superficiais para fins de monitoramento da qualidade dos recursos hídricos, no âmbito do Programa Nacional de Avaliação da Qualidade das Águas (PNQA)” (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2011).

As amostras obtidas foram de coletas pontuais utilizando um balde plástico, sendo transferidas com o auxílio de um funil para dois frascos de armazenamento de borossilicato âmbar de 1 L cada, e posteriormente foram armazenadas sob a temperatura de 4 °C em caixa térmica provida de gelo para transporte.

Ao chegar ao laboratório, as amostras da primeira etapa de coleta foram filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm (Sartorius). Amostras da segunda etapa de coleta foram filtradas em fibra de vidro de aproximadamente 0,45 µm (GF-3, Macharey Nagel). Após as etapas de coleta e filtração, as amostras foram armazenadas em freezer, -20 °C, até a sua análise.

Algumas amostras foram fortificadas com 5, 50 e 100 µg L⁻¹ e para certificar que essas amostras não apresentavam as espécies de interesse foi realizado a análise de uma prova em branco. Para efeitos de cálculo, a recuperação foi obtida através da razão da concentração média e concentração esperada, multiplicada por 100 (Equação 1).

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média}}{\text{Concentração esperada}} \times 100 \quad (1)$$

Os resultados de recuperação obtidos para a análise das amostras de águas superficiais através do uso de membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro estão discutidos no item 5.3.3.

4.3 REAGENTES E INSUMOS

Todos os padrões dos pesticidas utilizados apresentaram pureza superior a 97,5%, atrazina (99,1%), carbendazim (99,2%), 2,4-D (99,9%), DIA (97,5%) e DEA (99,5%), e foram obtidos da Sigma- Aldrich.

Os solventes avaliados foram de grau HPLC, sendo testadas diferentes marcas (Honeywell – Riedel-de-Haën, Panreac e Sigma-Aldrich). A água ultrapura foi obtida através do sistema de purificação de água Elga (Purelab Option – Q), com resistividade de 18,2 MΩ cm. O sulfato de magnésio (MgSO₄) da marca Anidrol e Synth e o cloreto de sódio (NaCl) da marca Química Moderna foram de grau

analítico. A fase C18 foi adquirida da marca Sigma-Aldrich e a fase PSA da marca Supelco.

Foram preparados, 20,00 mL de solução estoque de cada pesticida, com as concentrações de 500 mg L⁻¹ em ACN. Para isso, foram pesadas as massas dos pesticidas e estas foram diluídas em balão volumétrico de 20,00 mL. As soluções de trabalho foram obtidas a partir da mistura dos padrões e diluição em ACN para se obter a concentração desejada.

4.4 SISTEMA CROMATOGRÁFICO

A determinação dos pesticidas foi realizada através de cromatografia líquida (LC), utilizando um cromatógrafo Thermo Fisher Scientific – modelo Dionex Ultimate 3000 series, com bomba (LGP-3400SD), injetor (WSP-3000), com detector de arranjo de diodos (DAD 3000), coluna de fase reversa ACE 5 C18 (250 x 4,6 mm – 5 µm), coluna guarda de mesma fase e com auxílio do Software Chromeleon® 7 versão 7.2.1.5537.

Foram realizados diversos testes alterando a fase móvel, sua vazão e a proporção do gradiente, com rampas íngremes ou mais suaves.

Ao fim dos ensaios, a vazão do método ficou estabelecida em 0,40 mL min⁻¹, temperatura da coluna ajustada a 25 ± 1,0 °C e volume de injeção de 50 µL. Para fase móvel foi utilizada ACN (A) e água (B), iniciando com 20% até 90% de A em 15 minutos, permanecendo nessa condição por mais 15 minutos, a condição pós corrida retorna a 20% de A em 2 minutos, assim permanecendo por mais 5 minutos antes de iniciar uma nova análise, totalizando 37 minutos de corrida cromatográfica.

Foi utilizado um detector de arranjo de diodos (DAD-3000) para quantificar as espécies de interesse, sendo monitorados os comprimentos de onda (λ) de 221 nm para ATZ, 213 nm para DIA e DEA, 286 nm para o CBZ e 230 nm para o 2,4-D (vide Quadros 1 a 3).

4.5 FIGURAS DE MÉRITO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO

A metodologia para a determinação das figuras de mérito de interesse se baseou na Resolução nº899/03 da ANVISA e no DOQ-CGCRE-008/16 do INMETRO. Além desses, também foi utilizado como base o Manual da Garantia da Qualidade Analítica – Resíduos e Contaminantes em alimentos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011).

4.5.1 Seletividade

Este parâmetro foi avaliado através da injeção da mistura dos padrões (0,20 mg L⁻¹) preparados na proporção inicial do gradiente (80:20, água ultrapura: ACN), buscando verificar a separação cromatográfica. Como a determinação analítica foi realizada utilizando o detector de arranjo de diodos, para confirmar a seletividade foram selecionados os comprimentos de onda de cada analito sendo possível a confirmação com base no espectro UV-Vis. Ainda, foram determinados os valores de fator de retenção (k), seletividade (α) e resolução (R_s), conforme as Equações 2 a 4: (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2011).

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (2)$$

$$\alpha = \frac{k_B}{k_A} \quad (3)$$

$$R_s = \frac{2[(t_r)_B - (t_r)_A]}{W_{b(A)} + W_{b(B)}} \quad (4)$$

Onde:

t_R = Tempo de retenção;

t_M = Tempo morto;

k_B = fator de retenção do composto mais retido que A;

k_A = fator de retenção do composto A;

W_b = largura da base do triângulo formado pelas tangentes dos pontos de inflexão do pico cromatográfico.

Também foi feita esta análise utilizando uma amostra de água do rio Boicy localizado dentro da área urbana de Foz do Iguaçu, o qual recebe aportes de vários tipos de efluentes. Esta amostra foi fortificada com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ dos padrões e posteriormente, foi submetida ao método *QuEChERS*, buscando avaliar se a seletividade dos analitos seria mantida.

4.5.2 Curva analítica, Linearidade e Sensibilidade

A quantificação das espécies de interesse por LC-DAD foi realizada por padronização externa.

Através da pesagem dos padrões sólidos, foram preparadas soluções estoque de 100 mg L^{-1} . A partir dessas soluções, foi preparada nova solução contendo a mistura das espécies de interesse na concentração de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ sendo realizadas as diluições para o preparo das concentrações da curva analítica, em triplicata.

Para a curva analítica foram preparados: 10, 20, 40, 75, 100, 125, 150, 175 e $200 \mu\text{g L}^{-1}$, para a curva em baixas concentrações. E para a curva de maiores concentrações os pontos 0,20, 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50, 3,00, 4,00 e $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, foram empregados. Essas concentrações foram preparadas a partir de diluições da concentração de $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ da mistura dos pesticidas em ACN. Posteriormente, esses pontos foram secos sob fluxo de nitrogênio e ressuspensos na proporção inicial da fase móvel (80:20, água ultrapura:ACN).

A linearidade foi obtida pela construção da curva analítica, utilizando 9 pontos para a curva de baixas concentrações e 11 pontos para a curva de maiores concentrações, a qual foi preparada em triplicata. Já a sensibilidade foi expressa através da inclinação (coeficiente angular) da curva analítica a partir dos cálculos de regressão linear.

4.5.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados com base nos dados da equação da regressão linear recomendado pela INMETRO.

Para a determinação do LOD utilizou-se a razão da estimativa do desvio padrão do coeficiente linear e a inclinação da curva, multiplicado por 3,3 (Equação 5).

$$LOD = \frac{\text{Estimativa do desvio padrão do coeficiente linear}(Sa)}{\text{Inclinação da curva}(b)} \times 3,3 \quad (5)$$

Para o cálculo do LOQ utilizou-se a mesma razão do limite de detecção, porém multiplicada por 10 (Equação 6).

$$LOQ = \frac{\text{Estimativa do desvio padrão do coeficiente linear}(Sa)}{\text{Inclinação da curva}(b)} \times 10 \quad (6)$$

4.5.4 Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão foram avaliadas através do preparo de triplicatas independentes de três diferentes concentrações. Para a curva de baixas concentrações foram avaliados os valores de 0,03, 0,10 e 0,17 mg L⁻¹, e para a curva de maiores concentrações foram avaliados os pontos de 0,60, 2,43 e 4,25 mg L⁻¹, sendo a menor concentração 3x o LOQ, contemplando valores de baixa, média e alta concentração em cada curva.

As soluções foram preparadas, inicialmente, em ACN para se obter a concentração desejada. Posteriormente, foram secas sob fluxo de nitrogênio, ressuspendidas na proporção inicial da fase móvel (80:20, água: ACN) e analisadas através do LC-DAD. Os resultados obtidos foram comparados com as curvas analíticas preparadas da mesma forma.

A precisão foi determinada através do desvio padrão relativo (RSD) das áreas obtidas para cada concentração em triplicata. O RSD foi calculado de acordo com a Equação 7, (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004).

$$\text{Desvio Padrão Relativo} = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{concentração média calculada}} \times 100 \quad (7)$$

A exatidão foi determinada pela razão da concentração média em relação à concentração teórica (Equação 8).

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad (8)$$

4.6 MÉTODO *QuEChERS*

Foi utilizada a metodologia desenvolvida por Anastassiades et al., (2003), adaptando as quantidades dos reagentes com o objetivo de reduzir a quantidade de resíduos gerados pela análise. Além disso, buscou-se obter um fator de concentração na análise, sem ser necessário o uso de outras técnicas de concentração.

4.6.1 Desenvolvimento do preparo de amostra

a) Ensaio preliminares

Foram realizados para avaliar a capacidade de limpeza da matriz (método 1) e a capacidade de concentração do método a ser empregado neste trabalho (método 2).

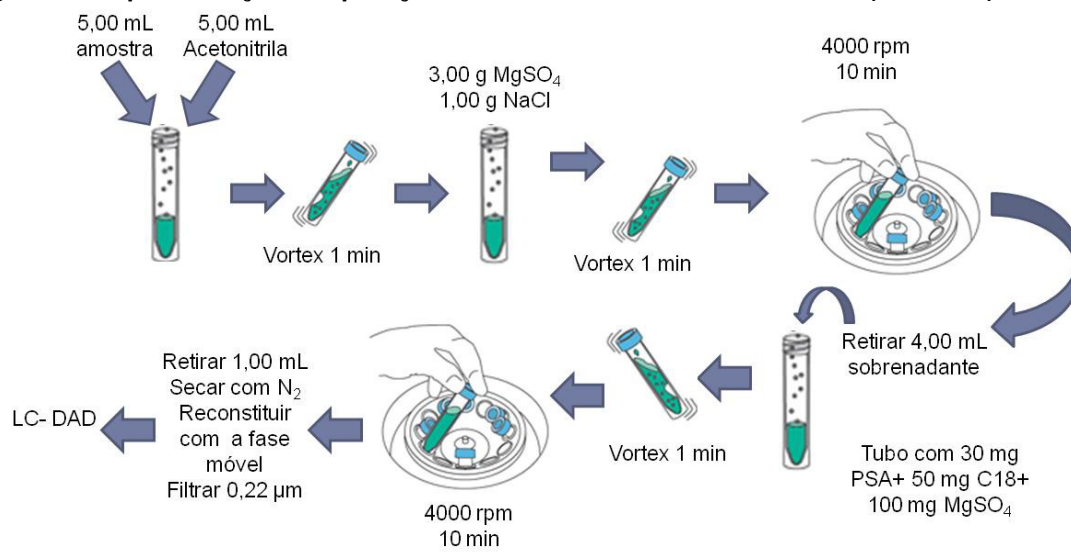
Para avaliar a capacidade de limpeza e concentração do método *QuEChERS* foram coletadas amostras de um rio de segunda ordem - rio Bonito- o qual está localizado no município de Santa Terezinha de Itaipu, pertence à sub-bacia do rio Passo Cuê e seu único rio deságua no reservatório de Itaipu. Esta microbacia foi escolhida devido ao fato de o Corredor de Biodiversidade estar contido (em parte) dentro dela. Quanto ao uso do solo 85,57% são utilizados para a agricultura.

As amostras foram filtradas com membrana de acetato de celulose 0,45 µm e fortificadas com os pesticidas ATZ, DIA, DEA e CBZ, permanecendo em repouso por 24h, após o qual foi aplicado o método 1.

Este método consistiu na adição de 5,00 mL de amostra a 5,00 mL de ACN, os quais foram agitados durante 1 minuto em vortex (extração). Posteriormente, foram adicionados 3,00 g de MgSO₄ e 1,00 g de NaCl, sendo agitados em vortex por 1 minuto e levados à centrifugação durante 10 minutos a 4000 rotações por minuto (rpm) (partição).

Após este período 4,00 mL do sobrenadante foram transferidos para tubo Falcon contendo 30 mg de fase PSA, 50 mg de fase C18 e 100 mg de MgSO₄, levado a agitação por 1 minuto, seguido de centrifugação durante 10 minutos a 4000 rpm (*clean-up*). Do sobrenadante, aproximadamente 4,00 mL, foram retiradas alíquotas de 1,00 mL e estas foram secas em fluxo de nitrogênio (Figura 8). Em seguida as amostras foram ressuspensas em solução aquosa contendo 20% de ACN, em 1,00 mL ou 0,50 mL (concentração da amostra), sendo então filtradas em filtro PTFE de 0,22 µm.

Figura 8 - Esquemática da aplicação do método QuEChERS modificado (método 1)



Fonte: Autoria própria

A capacidade de concentração, método 2, foi avaliada aumentando o volume de amostra para 10 mL (extração), aumentando o volume de amostra coletada após a etapa de *clean-up*, de alíquotas de 1,00 mL para 3,00 mL e reduzindo o volume de ressuspensão para 0,25 mL.

b) Influência do material filtrante usado no preparo da amostra

Nesta etapa também buscou-se avaliar a influência do material filtrante na adsorção dos analitos durante a etapa de filtração da amostra. Para isto foram avaliados dois materiais filtrantes, membranas de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro, quando usados com dois tipos de matriz, água ultrapura ou água de rio.

❖ *Avaliação da adsorção dos analitos em diferentes materiais filtrantes*

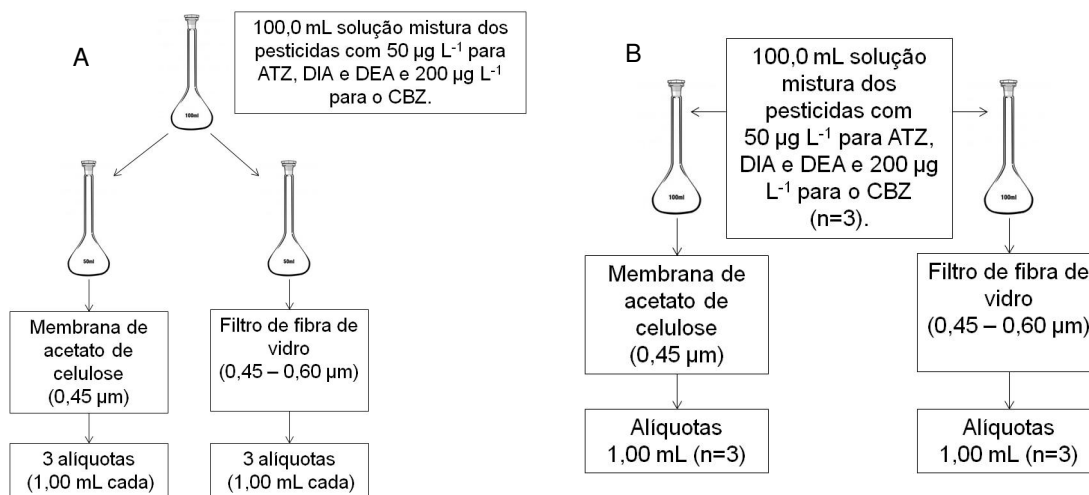
O objetivo deste teste foi avaliar a possível adsorção dos analitos em diferentes materiais filtrantes. Além disso, também foi testada a influência do volume filtrado (50 e 100 mL) sobre a adsorção dos analitos nos diferentes materiais.

Para os testes de adsorção dos analitos na matriz de água ultrapura foram preparados 100 mL de uma solução contendo a mistura dos pesticidas com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para ATZ, DIA e DEA e $200 \mu\text{g L}^{-1}$ para o CBZ. Metade desta solução foi filtrada em membrana de acetato de celulose (Sartorius - $0,45 \mu\text{m}$), e a outra metade foi filtrada em filtro de fibra de vidro (GF-3, Macharey Nagel - $0,45 - 0,60 \mu\text{m}$). Após a filtração, foram retiradas 3 alíquotas de 1,00 mL de cada amostra aquosa, e estas foram secas em fluxo de nitrogênio e posteriormente ressuspensas em 1,00 mL de fase móvel cromatográfica (ACN:H₂O, 20:80) (Figura 9A).

Já para os testes com volume maior de amostra, o procedimento foi o mesmo. No entanto, foram preparados 100 mL de solução da mistura dos analitos, em triplicata para cada membrana, e o volume total (100 mL) foi filtrado, não havendo divisão da solução (Figura 9B).

Um fluxograma deste processo é apresentado na Figura 9.

Figura 9 - Etapas dos testes de adsorção dos analitos nos materiais filtrantes com diferentes volumes - filtrando 50 mL (A) e filtrando 100 mL (B) - em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro.



Fonte: Autoria própria

4.6.2 Avaliação da recuperação dos analitos em amostra de água superficial

Buscando avaliar a recuperação dos analitos após serem submetidos ao método *QuEChERS* sob diferentes matrizes foi realizada a coleta de amostras de dois rios, os quais não faziam parte do calendário de coleta – rio Almada e rio Boicy - ambos dentro da área urbana de Foz do Iguaçu. Além destes, também foi utilizada uma amostra coletada dentro do Parque Nacional do Iguaçu – Poço Preto II – que foi considerado como prova em branco por se encontrar dentro de uma área de preservação ambiental, doravante denominado Branco Parque 02 (PB-02).

Para este teste as amostras de cada um dos 3 rios foram divididas em 2 volumes de 0,5 L, sendo uma parte filtrada em membrana de acetato de celulose de 0,45 μm e a outra em fibra de vidro de aproximadamente 0,45 a 0,6 μm .

As amostras filtradas em acetato de celulose foram divididas em duas, amostras fortificadas e amostras brutas.

Para as amostras fortificadas foram preparados 100 mL nas concentrações de 5,0, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. De cada uma destas foram retiradas 2 alíquotas ($n = 2$) de 10,00 mL para se realizar a análise de extração/concentração por *QuEChERS*, utilizando o método 2 (item 4.6.1) (concentração de aproximadamente 25 x).

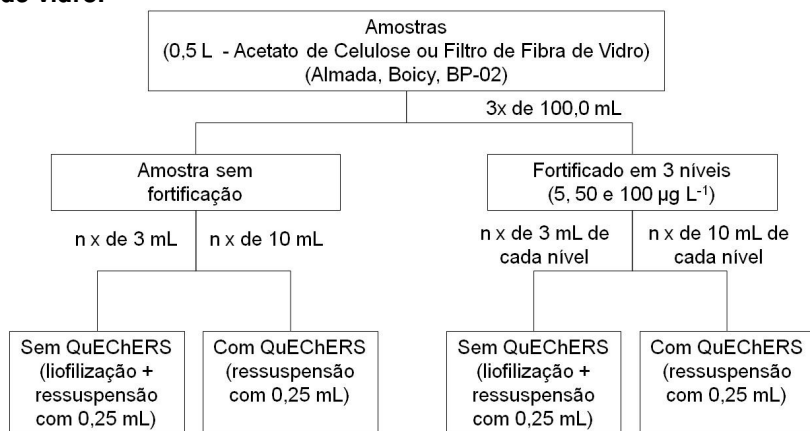
Para efeitos de cálculo, considera-se que os analitos foram transferidos da fase aquosa (10,00 mL de amostra) para a fase orgânica (5,00 mL de ACN). Porém, como parte da ACN fica dissolvida na fase aquosa foram realizadas cinco medidas do volume de recuperação de ACN, e obteve-se a média de 4,68 mL de ACN recuperados. Desta forma, considerou-se que na fase de extração ocorria a concentração de 2,14 x. Posteriormente, na fase de *clean up* 3,00 mL de fase orgânica eram secos e ressuspensos em 250 μL , sendo assim, nesta etapa a concentração da amostra é de 12 x. Considerando todas as concentrações que ocorrem no decorrer do método, tem-se que o método *QuEChERS* desenvolvido foi capaz de concentrar aproximadamente 25 x a amostra.

Paralelamente foram retiradas 2 alíquotas de 3,00 mL das amostras fortificadas e estas foram liofilizadas e ressuspensas para 250 μL (concentração de 12x). Um fluxograma deste processo é mostrado na Figura 10.

Para as amostras filtradas em filtro de fibra de vidro o procedimento foi o mesmo, no entanto, foram realizadas em triplicata ($n=3$). Buscando obter o mesmo

fator de concentração da amostra entre os métodos (com e sem *QuEChERS*), para as amostras filtradas em filtro de fibra de vidro, foram liofilizados 6,25 mL.

Figura 10 - Etapas dos testes para avaliação do efeito do método *QuEChERS* na limpeza e recuperação dos analitos, para as amostras filtradas em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro.



Fonte: Autoria própria

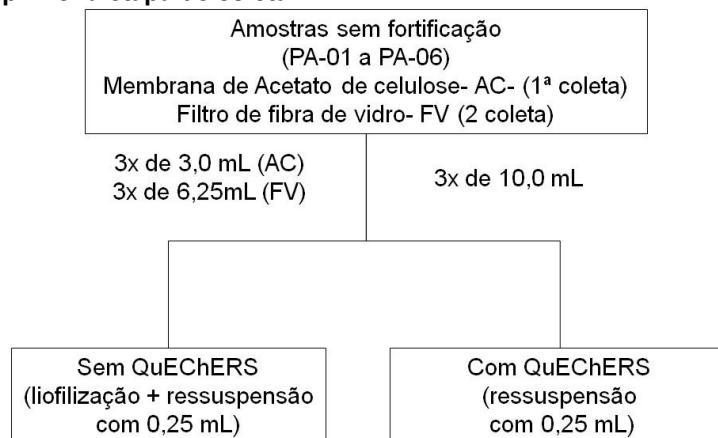
4.7 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As amostras da primeira etapa de coleta (jan/fev- 2017) foram analisadas sem realização de fortificação com os analitos estudados nesse trabalho. Cada amostra foi analisada em triplicata, como forma de avaliar o comportamento do método em cada um dos rios, estas amostras foram analisadas na presença e ausência do método *QuEChERS* (Figura 11). Para aquelas que não passariam pelo método, uma alíquota de 3,00 mL de amostra de água foi liofilizada e ressuspensa, chegando a um fator de concentração de 12 vezes.

Já para as amostras referentes a segunda etapa de coleta, filtradas em filtro de fibra de vidro, que também não passariam pelo método, uma alíquota de 6,25 mL de amostra de água foi liofilizada e ressuspensa em 250 µL, obtendo um fator de concentração de 25 vezes.

Para todas as amostras analisadas pelo método *QuEChERS*, houve um fator de concentração de aproximadamente 25 x.

Figura 11 - Etapas dos testes para avaliação do comportamento do método *QuEChERS* em cada um dos rios na primeira etapa de coleta.



Fonte: Autoria própria

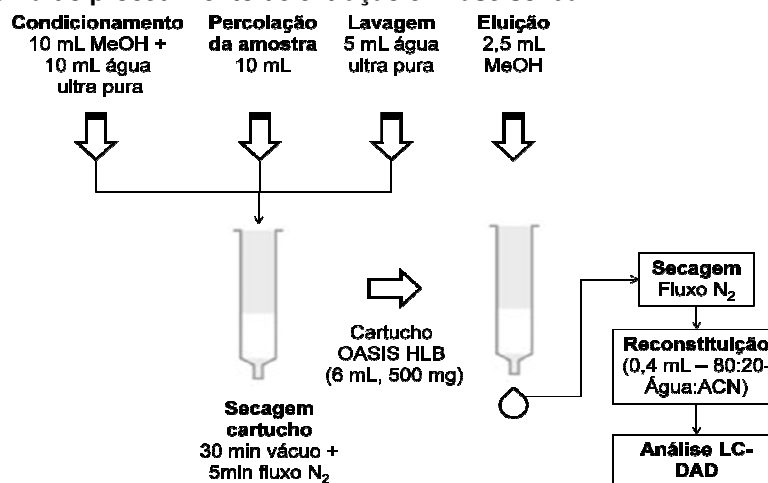
4.8 EXPERIMENTOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

Testes com extração em fase sólida - SPE foram realizados buscando comparar o método *QuEChERS* com um método já consolidado para limpeza e concentração da amostras aquosas.

Para esses testes foi utilizado como base o trabalho de Rodríguez-González et al. (2017), sendo apenas replicado o método por eles utilizado. Os autores avaliaram triazinas e seus produtos de degradação em água do mar utilizando o SPE, como método de extração, com cartuchos Oasis HLB (6 mL, 200 mg). O preparo do cartucho consistiu no condicionamento com 10,0 mL de metanol e 10,0 mL de água ultrapura. Em seguida, 10,0 mL da amostra foram percolados pelo cartucho, seguidos de 5,0 mL de água ultrapura. Concluído esta etapa, o cartucho foi levado a secar durante 30 minutos no vácuo seguido de 5 minutos sob pressão em fluxo de nitrogênio. Os compostos retidos foram eluídos com 2,5 mL de metanol.

Para que fosse possível comparar os resultados já obtidos utilizando o método *QuEChERS* com os dados de SPE, após a eluição com metanol os 2,5 mL do eluato foram secos sob fluxo de nitrogênio e posteriormente ressuspensos para 0,40 mL na proporção inicial da fase móvel (80:20, água:ACN), obtendo-se assim a concentração de 25 vezes da amostra. A Figura 12 apresenta o procedimento realizado para o método SPE.

Figura 12 - Fluxograma do procedimento de extração em fase sólida



Fonte: A autoria própria

Foram realizados testes fortificando água ultrapura com os analitos ATZ, DIA, DEA e CBZ nas concentrações de 5, 7 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, objetivando verificar a recuperação do método.

Além disso, o método também foi aplicado a uma amostra da segunda etapa de coleta e esta foi fortificada com a mistura dos analitos estudados nas concentrações de 2,0, 5,0, 7,0 e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, a qual também foi submetida ao método *QuEChERS* para comparação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO

No estudo inicial foram empregados ATZ e 2,4-D, dois herbicidas comumente utilizados em plantio de milho e soja, culturas predominantes na região da BP3, os metabólitos DIA e DEA dois conhecidos produtos de degradação da ATZ, e carbendazim (CBZ), um fungicida também bastante utilizado em plantações de milho e soja.

Devido a parcerias em andamento no desenvolvimento de método cromatográfico para determinação de pesticidas, tomou-se como ponto de partida o método cromatográfico empregado por Silveira (2017), utilizando uma eluição por gradiente de concentração. Devido a dificuldades na separação dos compostos 2,4 D e CBZ o método foi sendo modificado para alcançar a separação desejada.

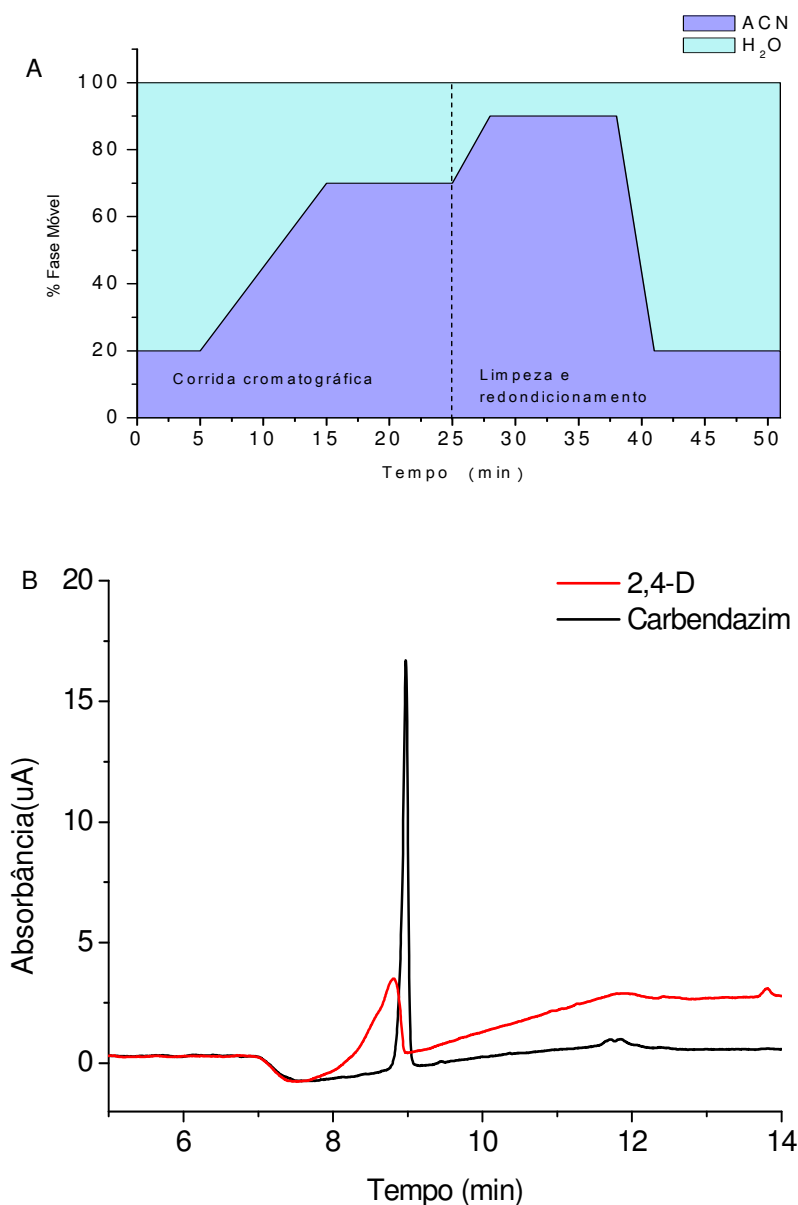
Um dos melhores resultados para a separação dos compostos Carbendazim e 2,4-D forneceu os tempos de retenção mostrados no Quadro 6, utilizando o gradiente 1, apresentado na Figura 13A.

Na Figura 13B são apresentados os cromatogramas, sobrepostos, dos respectivos analitos. Como pode ser observado, os analitos 2,4-D e CBZ continuaram apresentando tempos de retenção similares. Nos testes por eluição gradiente também foram realizadas variações na proporção inicial da fase móvel e na inclinação da rampa, no entanto, a coeluição continuou ocorrendo.

Quadro 6 - Tempos de retenção encontrados para os analitos Atrazina, DIA, DEA, 2,4-D e carbendazim, quando utilizado o método gradiente 1.

Analito	DIA	2,4-D	Carbendazim	DEA	Atrazina
Tempo de retenção (min)	7,08	8,80	9,02	11,41	16,34

Figura 13 - Gradiente utilizado (A) e Sobreposição dos cromatogramas dos pesticidas 2,4-D ($\lambda=230$ nm) e carbendazim ($\lambda=280$ nm) na concentração de $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ (B) preparados na fase móvel. Eluição por gradiente utilizando como fase móvel ACN: Água, vazão $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção $20 \text{ }\mu\text{L}$.



Fonte: Autoria própria

Diante das dificuldades observadas buscaram-se na literatura outros métodos que apresentassem melhores sinais para o 2,4-D. Primel et al. (2005), em seu estudo envolvendo o herbicida 2,4-D, utilizaram como fase móvel MeOH:Solução de H₃PO₄, pH 4,0.

Com base no uso de soluções ácidas foi desenvolvido um método de

separação por gradiente empregando ACN:Solução de H_3PO_4 0,01% (pH 3,0), mostrado na Figura 14A.

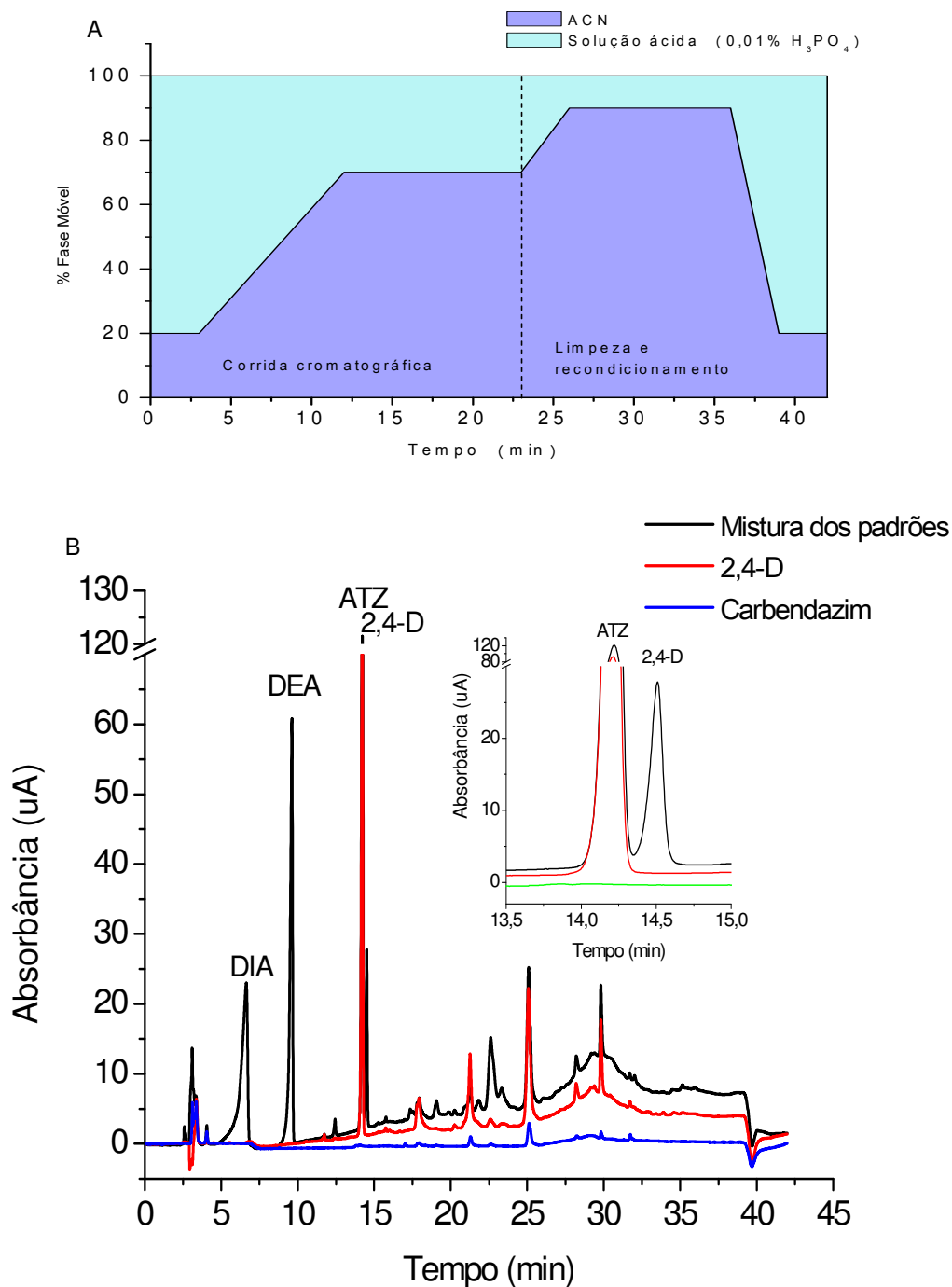
Como pode ser observado na Figura 14B, quando se utiliza solução ácida (0,01% de H_3PO_4) há uma melhora na assimetria do pico cromatográfico do herbicida 2,4-D, no entanto, não se pode afirmar o mesmo para o carbendazim uma vez que não foi encontrado um pico cromatográfico referente a esse analito. A não ocorrência do sinal analítico do CBZ pode estar associada a forma em que o analito está disponibilizado na solução. Neste caso, como o pK_a do CBZ é 4,2 e a solução da fase móvel apresenta pH em torno de 3, tem-se o CBZ predominantemente na forma protonada, o que pode ter aumentado a sua solubilidade na fase móvel, fazendo com que o mesmo elua junto com o tempo morto da corrida cromatográfica. Por outro lado, a melhora na assimetria do pico do 2,4-D, também está relacionada ao seu pK_a de 2,73. Como o pH da solução está muito próximo ao pK_a pode-se considerar que o deslocamento do equilíbrio do 2,4-D contribuiu com a eluição do composto pela coluna cromatográfica melhorando sua assimetria.

Além disso, a separação entre 2,4-D e atrazina não é completa, havendo ainda uma pequena sobreposição entre os picos.

Diante de tal circunstância duas condições foram levadas adiante. Uma mistura contendo ATZ, DIA, DEA e 2,4-D (situação 1); e outra mistura contendo os pesticidas ATZ, DIA, DEA e Carbendazim (situação 2).

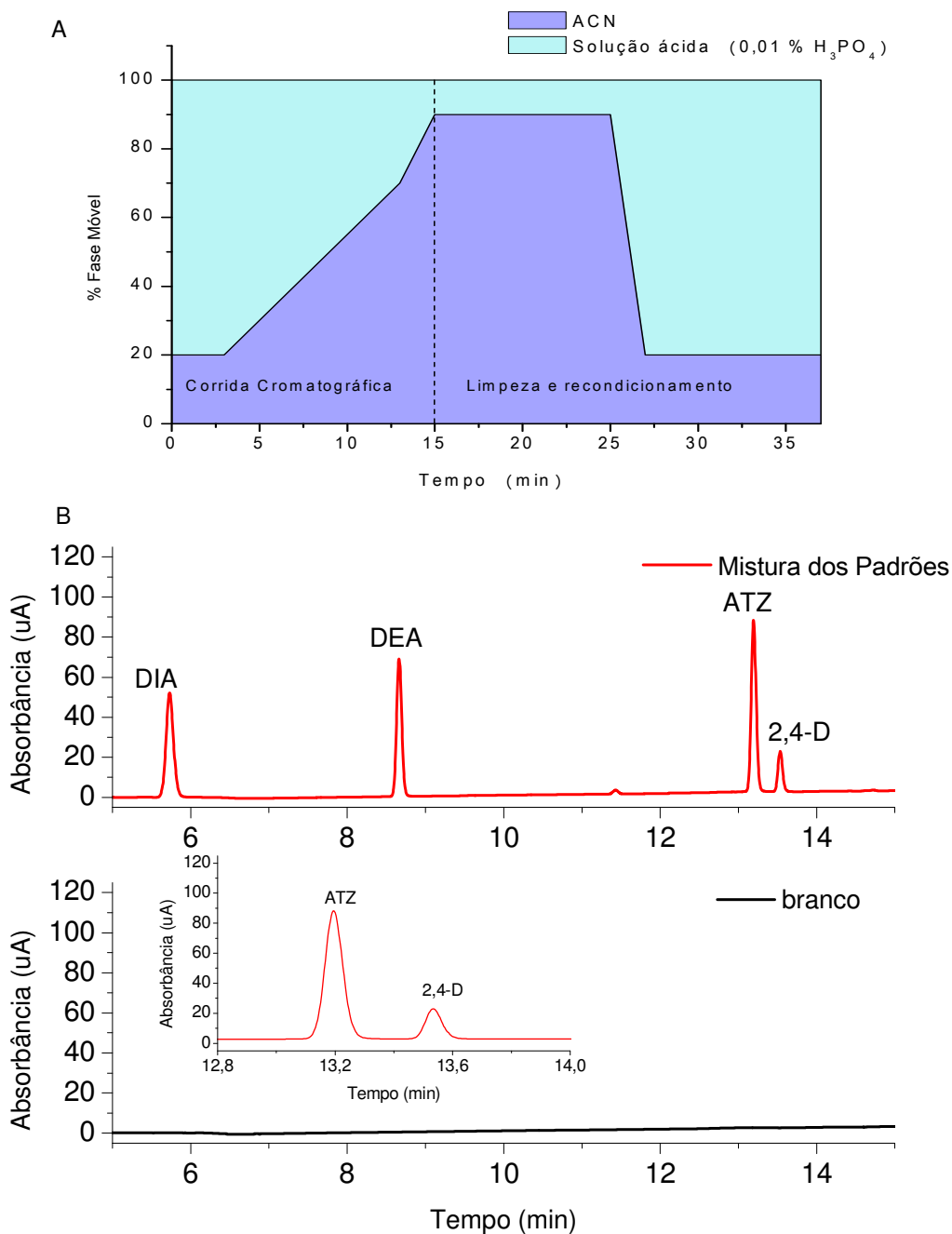
Para a situação 1 buscou-se uma melhor separação dos analitos ATZ e 2,4-D, inicialmente modificando-se a vazão (0,8, 1,0 e 1,2 mL min^{-1}). Estes resultados permitiram concluir que o uso de 1,2 mL min^{-1} proporcionou a melhor separação destes compostos. Avaliaram-se também alterações da composição da fase móvel. Na Figura 15 são mostrados o gradiente (A) em que se obteve a melhor separação e seu respectivo cromatograma (B). Para essas condições cromatográficas foram obtidos os seguintes tempos de retenção 5,7 min (DIA), 8,6 min (DEA), 13,2 min (ATZ) e 13,5 min (2,4-D). A corrida cromatográfica teve duração de 15 minutos, sendo o restante do tempo mostrado na Figura 15A destinada à limpeza e recondicionamento da coluna.

Figura 14 - Gradiente utilizado (A) e Sobreposição dos cromatogramas dos pesticidas 2,4-D ($\lambda=230$ nm) e Carbendazim ($\lambda=280$ nm) na concentração de 4,0 mg L⁻¹, juntamente com a injeção da mistura dos pesticidas ($\lambda=221$ nm) (B). Eluição por gradiente utilizando como fase móvel ACN: Solução ácida (0,01% de H₃PO₄), vazão 1,0 mL min⁻¹ e volume de injeção 20 μ L.



Fonte: Autoria própria

Figura 15 - Resultado das melhores condições de separação alcançadas para a situação 1 : gradiente (A) e cromatograma de separação da mistura dos pesticidas contendo ATZ, DIA, DEA e 2,4-D, na concentração de $3,50 \text{ mg L}^{-1}$ (B). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água acidificada (0,01% H_3PO_4), vazão $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ ($\lambda=221 \text{ nm}$).



Fonte: Autoria própria

Para a condição acima foram preparadas soluções com concentrações de 0,10, 0,30, 0,50, 0,75, 1,00, 2,00 e $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, com o intuito de estimar inicialmente

o limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) instrumental. Os dados das regressões são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 0,10 a 5,00 mg L⁻¹ para as espécies de interesse (n=3).

<i>Analitos</i>	ATZ	DIA	DEA	2,4-D
λ (nm)	220	220	220	230
<i>Desvio coef. Linear</i>	0,077	0,048	0,044	0,013
<i>Desvio coef. Angular</i>	0,036	0,023	0,020	0,006
<i>Eq.de Regressão</i>	y=2,18631x-0,01054	y=2,10489x-0,05084	y=1,9987x-0,02188	y=0,49426x-0,00557
r^2	0,9983	0,9993	0,9993	0,9990
<i>LOD (mg L⁻¹)</i>	0,1159	0,0753	0,0721	0,0880
<i>LOQ (mg L⁻¹)</i>	0,3511	0,2281	0,2184	0,2666
<i>FLT</i>	0,30 – 5,00	0,10 – 5,00	0,10 – 5,00	0,10 – 5,00

λ : comprimento de onda; FLT: faixa linear de trabalho.

Comparando-se os resultados obtidos com dados da literatura, para a ATZ, Amadori et al., (2016) obtiveram LOQ de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto Sousa et al., (2016) alcançaram 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, percebe-se que os valores de LOQ instrumental alcançados neste trabalho são aproximadamente de 50 a 60 vezes superiores aos relatados. Para DIA e DEA Amadori et al. (2016) também obtiveram LOQ de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo de 30 a 40 vezes inferiores aos valores obtidos neste trabalho.

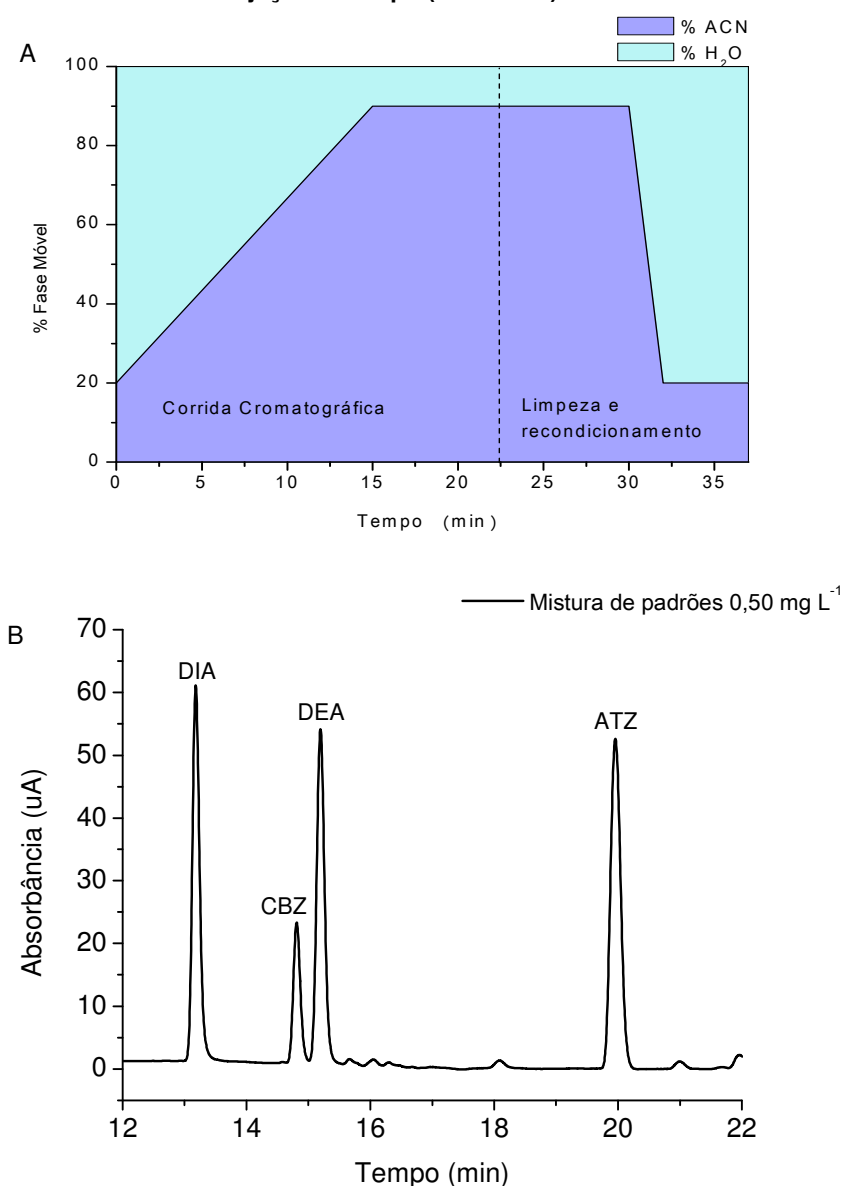
Os valores obtidos neste trabalho foram considerados elevados, uma vez que se pretende avaliar os pesticidas em concentrações ambientais as quais são da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} . Além disso, o método de preparo de amostra avaliado não apresenta elevado fator de concentração, o que acaba dificultando o uso do método cromatográfico desenvolvido para a situação 1.

Paralelamente foram efetuados experimentos utilizando fase móvel sem acidificação, mesmo conhecendo-se a impossibilidade de análise do 2,4-D juntamente com o CBZ (situação 2). Para esta situação também foram avaliados diferentes gradientes de eluição da fase móvel. Nestes testes, houve alterações nos tipos de solventes de ressuspensão após secagem da amostra – utilizou-se metanol:água e acetonitrila:água, alterações de vazão da fase móvel e composição

do gradiente.

Para as melhores condições cromatográficas alcançadas foram obtidos os tempos de retenção de 13,1 min (DIA), 14,8 min (CBZ), 15,2 min (DEA) e 20,0 min (ATZ). A Figura 16 A apresenta o gradiente empregado para esta situação, e a Figura 16 B apresenta o cromatograma.

Figura 16 - Resultado das melhores condições de separação alcançadas para a situação 2 : gradiente (A) e cromatograma de separação da mistura dos pesticidas contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, na concentração de 0,50 mg L⁻¹ (B). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min⁻¹ e volume de injeção de 20 µL ($\lambda=221$ nm).



Fonte: Autoria própria

Como pode ser observado na Figura 16B, há a proximidade entre os picos DEA e CBZ. Então foi calculada a resolução entre os picos no comprimento de onda de 213 nm, comprimento no qual o DEA é avaliado, e obteve-se a resolução de 1,53 indicando que houve a completa separação entre os analitos.

Após determinar as novas condições cromatográficas preparou-se, em triplicata, soluções analíticas de 0,010, 0,025, 0,050, 0,075, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,40 e 0,50 mg L⁻¹, com o intuito de estimar inicialmente o limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) instrumental. Na Tabela 3 são mostrados os parâmetros de regressão e as principais figuras de mérito obtidas para ATZ, DIA, DEA e CBZ.

Tabela 3 - Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 0,01 a 0,50 mg L⁻¹ para as espécies de interesse (n=3).

<i>Analitos</i>	<i>ATZ</i>	<i>DIA</i>	<i>DEA</i>	<i>CBZ</i>
λ (nm)	221	213		286
<i>Desvio coef. Linear</i>	0,018	0,003	0,024	0,008
<i>Desvio coef. Angular</i>	0,234	0,028	0,216	0,025
<i>Eq.de Regressão</i>	$y=9,69855x-0,05529$	$y=9,83493x-0,01076$	$y=10,59347x-0,02345$	$y=1,80584x+0,01431$
r^2	0,9947	0,9999	0,9963	0,9985
<i>FLT</i>	0,025 – 0,50	0,010 – 0,50	0,025 – 0,50	0,05 – 0,50
<i>LOD (mg L⁻¹)</i>	0,006	0,001	0,007	0,014
<i>LOQ (mg L⁻¹)</i>	0,019	0,003	0,023	0,042
<i>LOQ adotado (mg L⁻¹)</i>	0,025	0,010	0,025	0,050

λ : comprimento de onda;FLT: Faixa linear de trabalho.

Vale ressaltar que, como os valores calculados através da equação de regressão para o LOQ eram inferiores a menor concentração utilizada para construir a curva analítica de cada analito, optou-se por adotar o ponto de menor concentração da FLT como o limite de quantificação.

Na situação 2 pode-se observar que os valores encontrados para os limites de detecção e quantificação de ATZ, DIA e DEA foram inferiores aos valores obtidos para curva anteriormente preparada e analisada na situação 1. Tal fato, pode estar

relacionado a presença de solução ácida que influencia no deslocamento do equilíbrio dos compostos.

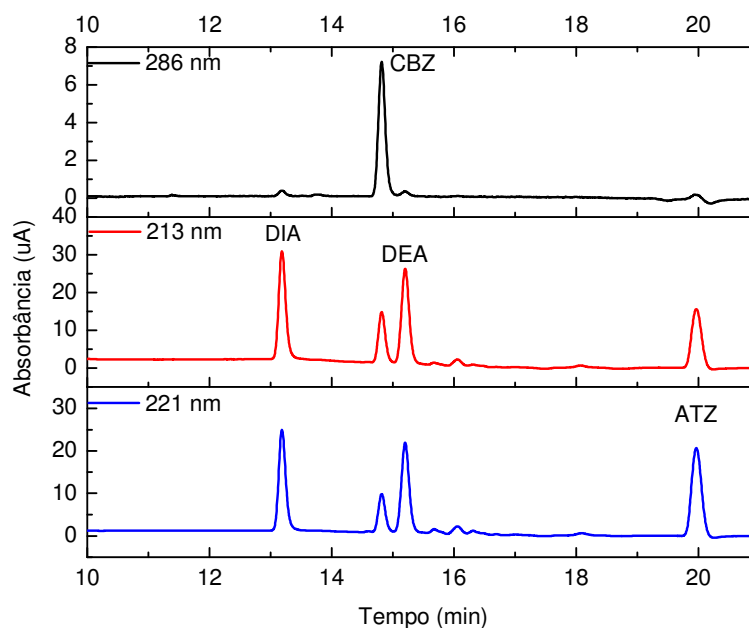
Diante dos resultados obtidos em relação ao LOQ, a baixa concentração destes pesticidas relatadas na literatura (BARCHANSKA et al., 2017; LOPES et al., 2011; RIBEIRO et al., 2013; SOUSA et al., 2016) e ao fato do método *QuEChERS* a ser desenvolvido apresentar baixo fator de concentração da amostra por se tratar de micropoluentes optou-se por utilizar a situação 2, contendo os analitos ATZ, DIA, DEA e CBZ, sem determinação do pesticida 2,4-D. Cabe ressaltar ainda, que tal escolha também foi realizada devido a dificuldade na separação dos analitos quando 2,4-D e CBZ encontravam-se presentes na mistura. Além disso, o carbendazim é o terceiro pesticida mais encontrado nos produtos utilizados na região da BP3, ficando atrás somente do glifosato e da atrazina.

5.2 FIGURAS DE MÉRITO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO

5.2.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada conforme descrito no item 4.5.1. A Figura 17 apresenta o cromatograma obtido para a mistura dos padrões, observados nos seus respectivos comprimentos de onda. Na Tabela 4, são apresentados os comprimentos de onda selecionados, juntamente com os tempos de retenção e fator de retenção de cada analito.

Figura 17 - Cromatograma da mistura dos pesticidas em solvente contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, na concentração de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL .



Fonte: Autoria própria

Tabela 4 – Características cromatográficas dos compostos determinados.

Composto	Comprimento de Onda (λ)	Tempo de retenção (min)	Fator de retenção (k)
ATZ	221 nm	20,0	3,71
DIA	213 nm	13,1	2,08
DEA	213 nm	15,2	2,58
CBZ	286 nm	14,8	2,49

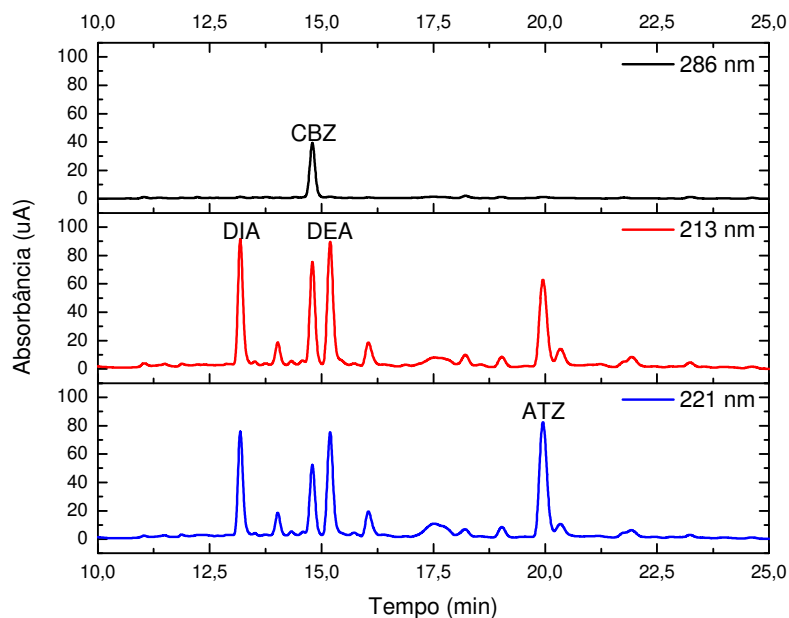
Devido à proximidade entre os picos DEA e CBZ, observada no comprimento de onda de 213 nm calculou-se a seletividade (α) do DEA em relação ao CBZ, sendo obtido o valor de 1,04.

Considerando ainda este comprimento de onda, de 213 nm, a resolução entre os picos do CBZ e DEA, foi de 1,7 indicando que ocorreu a completa separação entre os analitos.

Ainda, buscando avaliar a seletividade do método, uma amostra do rio Boicy, foi fortificada com todos os analitos de estudo e submetida ao método *QuEChERS*.

Os cromatogramas a seguir (Figura 18) são referentes a esta amostra fortificada, após filtração, com 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos.

Figura 18 - Cromatograma da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy contendo ATZ, DIA, DEA e CBZ, após o método *QuEChERS*, na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$.



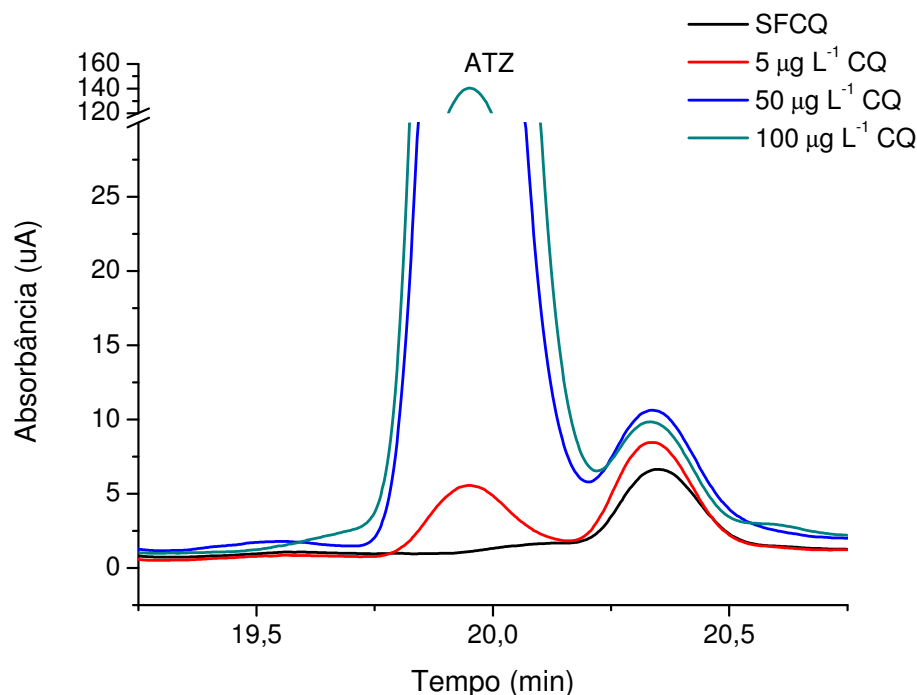
Fonte: Autoria própria

Como no cromatograma da Figura 18 avaliou-se a seletividade do método quando aplicado em uma amostra de água de rio foi realizado o cálculo da resolução entre os picos do CBZ e DEA, em 213 nm, a resolução entre eles, foi de 1,63 indicando que, mesmo na presença de interferentes da matriz ocorreu a completa separação entre os analitos.

Este cromatograma permite observar a presença de uma pequena interferência eluindo após o pico de ATZ (221nm), em 20,31 minutos.

Para melhor avaliar esta influência foram realizados ensaios com uma amostra do mesmo rio, sem fortificar e fortificada com 5, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de ATZ. Estes cromatogramas são apresentados na Figura 19.

Figura 19 - Cromatograma de separação da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy com enfoque na ATZ, após o método *QuEChERS*, na concentração de 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (CQ) e amostra sem fortificar (SFCQ). Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão 0,4 mL min^{-1} , volume de injeção de 50 μL ($\lambda=221 \text{ nm}$).



Fonte: Autoria própria

Com base nos cromatogramas pode-se observar que à medida que as concentrações se tornam menores também é reduzida a interferência entre os picos. Cabe ainda salientar que a amostra na concentração de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi submetida ao processo *QuEChERS* resultando em uma área equivalente a 125 $\mu\text{g L}^{-1}$.

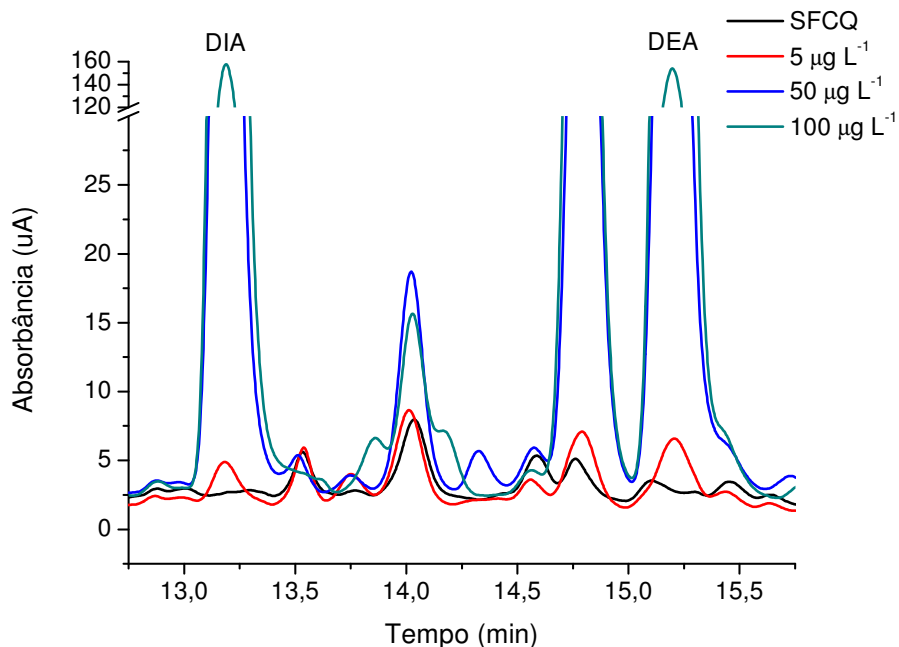
Dados da literatura têm reportado concentrações de ATZ em águas superficiais da ordem de 5,2 a 28 $\mu\text{g L}^{-1}$ (AMADORI et al., 2016). No entanto, ainda são desconhecidos valores para os rios analisados neste trabalho. Caso eles venham a ser superiores a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ sabe-se que estes poderão sofrer interferência, mas isto dependerá da matriz de cada rio a ser analisado, motivo pelo qual não foram realizados estudos aprofundados para otimizar ainda mais a separação.

Devido à presença desse interferente, foi calculada a seletividade deste em relação a ATZ, obtendo o valor de 1,02. Por outro lado, ao calcular a resolução entre os picos nas diferentes concentrações testadas obteve-se como resultado 1,17, 0,98 e 1,0 para as concentrações de 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Confirmando a

hipótese de que em concentrações superiores a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ poderá haver interferência. Vale ressaltar, que tal fato é dependente da matriz analisada.

Para o composto DIA (Figura 20) não foram encontradas interferências significativas da matriz sobre o composto na concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Já para o DEA nota-se no cromatograma referente à amostra sem fortificação que existe um sinal de baixa intensidade na matriz que apresenta tempo de retenção muito próximo ao analito, sendo sobreposto pelo DEA até mesmo em concentrações de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Para concentrações maiores que este valor, também ocorre sobreposição do DEA para compostos que encontram-se após o sinal analítico deste, sendo possível observar uma cauda no pico cromatográfico. Em concentrações na ordem de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ esta interferência também foi considerada pouco significativa, levando-se em conta o fato de estar sendo avaliado em uma matriz ambiental.

Figura 20 - Cromatograma de separação da mistura dos pesticidas em água do rio Boicy com enfoque no DIA e DEA, após o método *QuEChERS*, na concentração de 5, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$ ($\lambda=213 \text{ nm}$).



Fonte: Autoria própria

Já para o CBZ, apresentado na Figura 21, verifica-se que mesmo na amostra sem fortificar e sem empregar o procedimento *QuEChERS* há a presença de um sinal analítico no tempo de retenção do analito, levantando a hipótese da presença do CBZ no rio Boicy. Esta mesma amostra após passar por *QuEChERS*, apresentou um sinal mais intenso levando a supor uma possível concentração deste analito. Porém, ao analisar o espectro UV-Vis deste sinal verificou-se que o mesmo é completamente diferente do sinal padrão do CBZ.

Comparando-se ainda uma amostra deste rio fortificada a $5 \mu\text{g L}^{-1}$, observa-se uma sobreposição do sinal do interferente em relação ao sinal do CBZ. Isto é plausível ao se avaliar simultaneamente os espectros UV-Vis para o padrão do CBZ, sinal do interferente na análise da amostra do rio Boicy SFCQ e o sinal obtido com fortificação a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ para a amostra do rio Boicy.

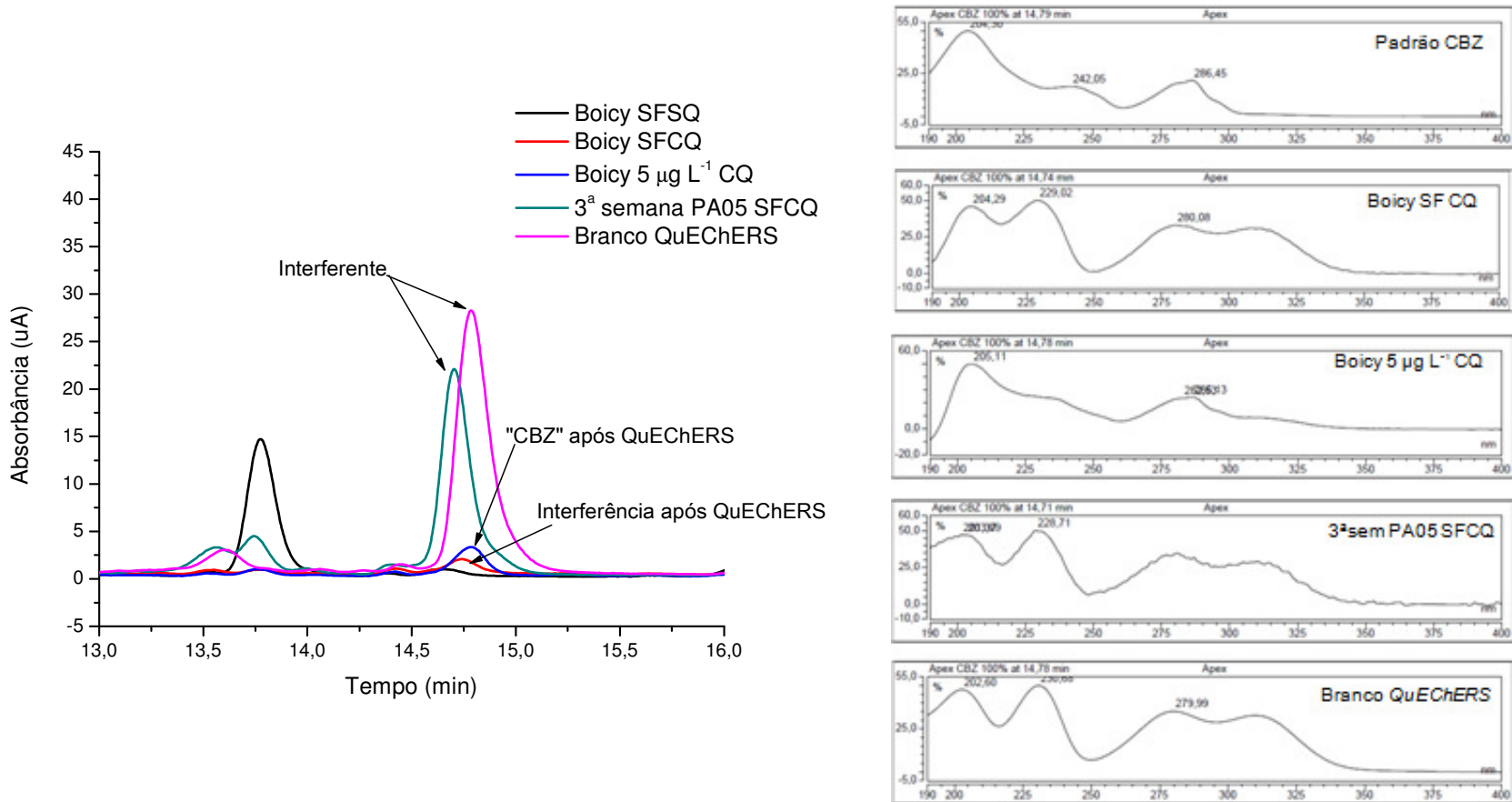
Buscando avaliar se este sinal poderia ser originário do sal empregado no método *QuEChERS* realizou-se o procedimento em água ultrapura sem fortificação, onde foi observado um sinal de grande intensidade no tempo de retenção do CBZ, muito superior ao sinal verificado na análise do rio Boicy SFCQ. Cabe ressaltar que o espectro UV-Vis deste interferente em água ultrapura é altamente similar ao observado na análise do Boicy SFCQ.

Por fim, realizou-se uma análise na matriz de um segundo rio, pertencente aos pontos amostrais de interesse para avaliação da presença dos pesticidas (3ª semana PA05), sendo novamente observado um forte sinal de um interferente no mesmo tempo de retenção e com características de espectro UV-Vis similar ao sinal atribuído ao interferente.

Estas evidencias nos permitem afirmar que o sinal do interferente não era da amostra, mas possivelmente proveniente de um dos sais utilizados no processo.

Cabe ressaltar que houve a troca de fornecedor do sulfato de magnésio, um dos sais utilizados no método *QuEChERS*, onde só foi possível obter a pronta entrega um sal de marca diferente do inicialmente utilizado (Anidrol para Synth). Simultaneamente, observou-se que as amostras analisadas com este segundo sal apresentaram uma interferência mais acentuada no sinal do CBZ.

Figura 21 - Cromatograma da sobreposição de amostras do rio Boicy fortificadas com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, amostra da 3ª semana PA05 sem fortificar (SF) e branco do método *QuEChERS* com enfoque no tempo de retenção do CBZ. Eluição por gradiente utilizando ACN:Água, vazão $0,4 \text{ mL min}^{-1}$, volume de injeção de $50 \mu\text{L}$ ($\lambda=286 \text{ nm}$).



Fonte: Autoria própria

Diante dos resultados, pode-se afirmar que o método é seletivo para ATZ, DIA e DEA uma vez que foi aplicado a uma matriz aquosa que sofre interferência antrópica e não apresenta interferentes nos tempos de retenção avaliados. Já para o CBZ os processos testados não se mostraram suficientes para a sua aplicação em matriz ambiental.

5.2.2 Curva analítica, Linearidade e Sensibilidade

Foram construídas duas curvas analíticas a primeira na faixa de 0,010 a 0,200 mg L⁻¹, denominada de curva de baixa concentração e a segunda de 0,200 a 5,0 mg L⁻¹, denominada de curva de alta concentração.

A Tabela 5 apresenta a equação da reta, o coeficiente de determinação e o desvio dos coeficientes lineares e angulares para as espécies de interesse, cada um analisado no seu respectivo comprimento de onda.

Tabela 5 – Parâmetros das curvas analíticas (baixa concentração (b) 0,010 a 0,200 mg L⁻¹ e alta concentração (a) 0,200 a 5,00 mg L⁻¹).

Composto	Equação de Regressão	Coeficiente de determinação(r ²)	Desvio coef.	
			Linear	Angular
ATZ λ = 221 nm	(b) y = 18,1549x + 0,3365	0,9999	0,006	0,060
	(a) y = 20,3351x – 0,0738	0,9999	0,030	0,048
DIA λ = 213 nm	(b) y = 19,3236x + 0,0158	0,9998	0,007	0,088
	(a) y = 19,7073x – 0,0406	0,9999	0,021	0,036
DEA λ = 213 nm	(b) y = 18,2167x + 0,0183	0,9978	0,013	0,301
	(a) y = 19,1298x – 0,1302	0,9999	0,017	0,046
CBZ λ = 286 nm	(b) y = 6,2186x + 0,0071	0,9987	0,002	0,078
	(a) y = 5,5858x + 0,0779	0,9864	0,114	0,207

Nota:(b): curva baixa; (a): curva alta.

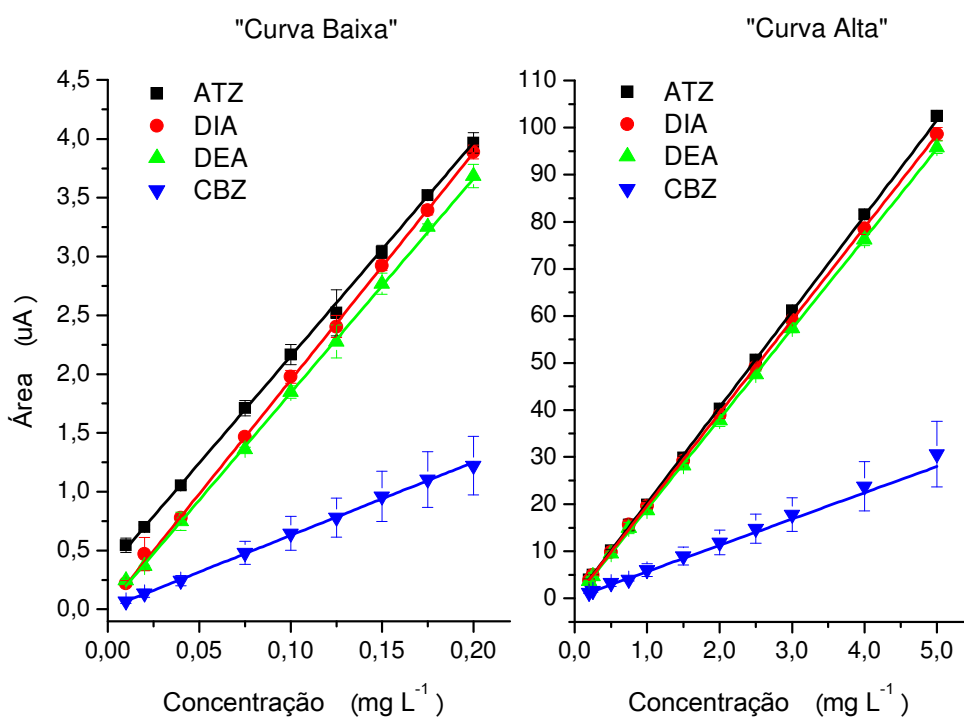
O critério mínimo aceitável do coeficiente de determinação da reta (r²) pela ANVISA (2003) deve ser igual a 0,99 e pelo INMETRO (2010) deve ser superior a

0,9. Neste caso, com exceção à curva de alta concentração referente ao CBZ, que se enquadra apenas no critério do INMETRO, os demais analitos apresentaram linearidade de acordo com os critérios da ANVISA.

A sensibilidade do método foi expressa pelo coeficiente angular da curva, ou seja, pela inclinação da curva analítica.

Na Figura 22 é possível observar o comportamento das curvas analíticas quanto à sensibilidade apresentada para o método.

Figura 22 - Representação das curvas analíticas para cada analito.



Fonte: Autoria própria

Como pode ser observado, o método apresentou-se sensível para a ATZ e seus principais produtos de degradação, tanto para a faixa de maior concentração como para a de menor concentração, isso pode ser observado devido aos valores do coeficiente angular serem próximos.

Já para o CBZ, quando comparado com os demais analitos, mostrou-se ser menos sensível. Porém, quando analisado independentemente tanto a curva de alta

como a curva de baixa apresentaram sensibilidade semelhante. Cabe ressaltar que o CBZ não foi analisado no seu comprimento de onda mais intenso (204 nm) (*vide* Quadro 2), devido a esta região ser mais suscetível a interferência de outros analitos, optando-se por realizar sua análise no segundo comprimento de onda mais intenso (286nm), desta forma, a baixa sensibilidade do CBZ pode ser justificada com base no λ utilizado. Caso o analito tivesse sido analisado no λ de maior absorção a sensibilidade obtida poderia ser maior.

Com relação às curvas analíticas, é importante salientar que amostras ambientais são comumente determinadas em baixas concentrações, por isso, tomou-se o cuidado de trabalhar com duas faixas de concentração de modo que a curva de baixas concentrações permite analisar concentrações ambientais com menor risco de erro.

5.2.3 Limite de detecção e Limite de Quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados conforme descrição no item 4.5.3. A Tabela 6 apresenta os LOD e LOQ's calculados e adotados para a curva baixa.

Tabela 6 - Parâmetros de regressão e principais figuras de mérito para o intervalo de 10,0 a 200,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as espécies de interesse (n=3).

<i>Analitos</i>	ATZ	DIA	DEA	CBZ
λ (nm)	221	213		286
<i>Desvio coef. Linear</i>	0,006	0,007	0,013	0,002
<i>Desvio coef. Angular</i>	0,059	0,088	0,301	0,078
r^2	0,9999	0,9999	0,9978	0,9987
<i>FLT ($\mu\text{g L}^{-1}$)</i>	10,0 – 200,0	10,0 – 200,0	10,0 – 200,0	10,0 – 200,0
<i>LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)</i>	1,0	1,0	2,0	1,0
<i>LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)</i>	3,0	3,0	7,0	4,0
<i>LOQ adotado ($\mu\text{g L}^{-1}$)</i>	10,0	10,0	10,0	10,0

λ : comprimento de onda; FLT: Faixa linear de trabalho.

Empregando o método da equação obtêm-se um LOQ de 3, 3, 7 e 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ATZ, DIA, DEA e CBZ, respectivamente. Porém, comparando-se o espectro UV-Vis da análise de padrões com os espectros obtidos para soluções de 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ observou-se diferenças entre estes, atribuído a interferências. Desta forma, adotou-se o LOQ como sendo de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, devido ao fato do espectro UV-Vis deste corresponder ao espectro UV-Vis do padrão analítico.

Em relação os limites de detecção e quantificação alcançados, os valores obtidos nesse estudo encontram-se próximos a valores relatados na literatura. Amadori et al. (2013) obtiveram limite de detecção para atrazina 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para DIA e DEA, e limite de quantificação 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para atrazina e metabólitos. Enquanto que Brondi et al. (2011) ao avaliarem atrazina e outros pesticidas em água e sedimento de açudes utilizando o método *QuEChERS* obtiveram para a atrazina LOD de 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

5.2.4 Precisão e Exatidão

Como descrito no item 4.5.4, a precisão e a exatidão foram avaliadas em termos de repetitividade (intracorrída), através do preparo em triplicata de três níveis de concentração, sendo elas: 0,030, 0,100 e 0,170 mg L^{-1} para a curva de baixa concentração e 0,6, 2,425 e 4,250 mg L^{-1} para a curva de alta concentração.

A Tabela 7 apresenta as concentrações médias de cada analito das amostras em triplicata e os valores de precisão e exatidão calculados.

Para a curva de menor concentração os valores do RSD encontram-se na faixa de 0,6 a 11,0 % e os valores de exatidão acima de 83,7 %, exceto para o CBZ, o qual apresentou uma exatidão menor que 47%. Já para a curva de maior concentração o RSD variou de 0,5 a 10,2%, com exatidão superior a 97,8 %. Neste caso o CBZ apresentou valores inferiores a 55%.

Em relação à precisão, a ANVISA recomenda um RSD de até 20% em relação a concentração nominal para o limite de quantificação e um RSD menor ou igual a 15% em relação à concentração nominal para as outras concentrações da curva analítica para a precisão (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA,

2003; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011; RIBANI et al., 2004). E para a exatidão são aceitos valores de 70% a 120% (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011).

Tabela 7 – Valores de precisão e exatidão do método de quantificação das espécies de interesse através de LC-DAD (n=3).

Curva	Concentração teórica (mg L ⁻¹)	Concentração média obtida (mg L ⁻¹) ± DP	RSD (%)	Exatidão (%)	
ATZ	0,030	0,025 ± 0,003	11,0	83,7	
	Baixa	0,100	0,104 ± 0,001	1,2	104,4
		0,170	0,180 ± 0,007	3,7	105,7
		0,600	0,587 ± 0,039	6,6	97,8
	Alta	2,425	2,442 ± 0,024	1,0	100,7
		4,250	4,303 ± 0,020	0,5	101,3
DIA		0,030	0,030 ± 0,002	5,4	99,6
	Baixa	0,100	0,103 ± 0,001	1,4	102,8
		0,170	0,169 ± 0,004	2,2	99,2
		0,600	0,593 ± 0,013	2,3	98,9
	Alta	2,425	2,431 ± 0,045	1,9	100,3
		4,250	4,269 ± 0,036	0,9	100,5
DEA		0,030	0,028 ± 0,002	8,6	94,6
	Baixa	0,100	0,097 ± 0,001	1,2	97,4
		0,170	0,168 ± 0,004	2,3	98,6
		0,600	0,595 ± 0,021	3,5	99,2
	Alta	2,425	2,426 ± 0,055	2,3	100,0
		4,250	4,265 ± 0,072	1,7	100,4
CBZ		0,030	0,012 ± 0,001	8,7	40,6
	Baixa	0,100	0,045 ± 0,001	1,7	45,4
		0,170	0,079 ± 0,003	0,6	46,6
		0,600	0,332 ± 0,034	10,2	55,3
	Alta	2,425	1,252 ± 0,043	3,5	51,6
		4,250	2,188 ± 0,057	2,6	51,5

De acordo com o Manual de Garantia da Qualidade Analítica (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011) quando um analito apresenta baixa recuperação, mas demonstra boa precisão, uma recuperação abaixo de 70% pode ser aceitável. Desta forma, apesar dos valores de exatidão do CBZ não estarem dentro da faixa aceitável, podem ser tidos como confiáveis, uma vez que a precisão ficou abaixo de 15%. Desta forma, o método pode ser considerado preciso para o CBZ.

Diante dos resultados, é possível afirmar que o método desenvolvido apresentou precisão para todos os analitos de estudo e exatidão para ATZ, DIA e DEA.

5.3 MÉTODO *QuEChERS*

A seguir serão apresentados os resultados de avaliação do método *QuEChERS*. Foram realizados ensaios preliminares, onde se procurou conhecer o comportamento do método em matriz aquosa, além de ensaios de testes de recuperação dos analitos em matrizes aquosas mais complexas, ou seja, rios com maiores vazões e que já receberam maior influência antrópica quando comparados aos rios que foram escolhidos para este estudo.

5.3.1 Desenvolvimento do preparo de amostra

a) Ensaios Preliminares

Buscando conhecer como seria a aplicabilidade do método *QuEChERS* em amostra de rio, foram testados 2 métodos. O primeiro, denominado de método 1, buscou avaliar a capacidade de limpeza quando aplicado à matriz. Por se tratar de um método que, em sua concepção, foi desenvolvido para o *clean up* da amostra. Também foi avaliado se haveria a possibilidade de concentração da amostra no decorrer da aplicação do *QuEChERS*, denominado de método 2.

Os ensaios prévios para avaliar o método *QuEChERS* foram realizados conforme descrito no item 4.6.1.

No método 2, ao utilizar 10,00 mL de amostra, juntamente com 5,00 mL de acetonitrila, foi possível recuperar - com o auxílio de uma microsseringa - 4,68 mL, devido à solubilidade parcial da acetonitrila em água. Isso fez com que os analitos

presentes nos 10,00 mL de amostra fossem extraídos para os 4,68 mL de ACN, concentrando-se neste último volume. Deste volume, 3,00 mL do sobrenadante, após a fase de *clean up*, foram levados a secura e ressuspensos em diferentes volumes (1,00 mL, 0,50 mL e 0,25 mL) para posterior análise, objetivando avaliar a capacidade de concentração do método.

A partir desses testes, foi possível alcançar um fator de concentração na ordem de 25 vezes – utilizando um volume final de 0,25 mL. Sendo assim, diante dos resultados obtidos, para a análise das amostras ambientais será utilizado o método 2 devido ao fator de concentração alcançado, uma vez que, por se tratar da determinação de micropoluentes em matrizes ambientais estes se encontram na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} . Com relação ao LOQ, quando se considera o fator de concentração do método o LOQ dos analitos é de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

b) Influência do material filtrante usado no preparo da amostra

❖ Avaliação da adsorção dos analitos em diferentes materiais filtrantes

Os testes de adsorção dos analitos nas membranas de filtração foram realizados conforme descrito no item 4.6.1.

Devido ao fato de alguns compostos poderem ser adsorvidos pelo material buscou-se investigar possíveis adsorções dos analitos em dois materiais filtrantes (membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro) sendo realizados testes de filtração com soluções aquosas preparadas em água ultrapura a partir do padrão analítico.

Na Tabela 8 são apresentadas as recuperações obtidas após a análise cromatográfica, juntamente com a média e a estimativa do desvio padrão das determinações.

Tabela 8 – Recuperação (%) das amostras da mistura dos pesticidas (ATZ, DIA e DEA 50 µg L⁻¹ e CBZ 200 µg L⁻¹) após a filtração em membrana de acetato de celulose (0,45 µm) e filtro de fibra de vidro (0,45 – 0,60 µm), em diferentes volumes (50 mL e 100 mL), analisadas em LC-DAD modo eluição por gradiente utilizando ACN: água ultrapura, vazão 0,4 mL min⁻¹.

Membrana	Analitos	50 mL		100 mL	
		Média ± DP	RSD (%)	Média ± DP	RSD (%)
Acetato de Celulose (µg L ⁻¹)	ATZ	52,6 ± 18,5	35,2	65,0 ± 2,8	4,3
	DIA	92,5 ± 18,8	20,4	98,2 ± 2,7	2,8
	DEA	71,0 ± 19,6	27,6	116,8 ± 4,8	4,1
	CBZ	88,4 ± 6,4	7,2	94,4 ± 6,3	6,6
Fibra de Vidro (µg L ⁻¹)	ATZ	85,8 ± 15,7	18,3	80,0 ± 3,0	3,7
	DIA	101,2 ± 10,4	10,3	99,3 ± 1,3	1,3
	DEA	96,6 ± 10,6	11,0	115,0 ± 2,4	2,1
	CBZ	112,7 ± 3,4	3,0	82,3 ± 8,6	10,4

Nota: RSD: desvio padrão relativo.

Para o volume filtrado de 50 mL, os valores apresentados na Tabela 8 indicam que ao utilizar a membrana de acetato de celulose há uma perda maior dos analitos ATZ, DIA e DEA, quando comparados com os valores obtidos com filtração por fibra de vidro. Além disso, os valores de RSD foram maiores para acetato de celulose em relação à filtração por fibra de vidro.

Dos analitos estudados aquele que apresentou maior adsorção na membrana foi a atrazina. Este também apresentou o maior RSD para os dois materiais filtrantes.

Clausen (2000) avaliou a retenção de pesticidas, dentre eles a ATZ, em 5 materiais filtrantes diferentes, entre os quais a membrana de acetato de celulose. Foi analisada a filtração de uma solução de 9,5 µg L⁻¹ de pesticidas, preparada em água ultrapura. O autor observou que a ATZ fica retida na faixa de 20 a 55% na membrana de acetato de celulose, valor similar ao encontrado neste estudo.

Por outro lado, ao filtrar o volume de 100 mL, os dados da Tabela 8 indicam que não há grande influência na adsorção para DIA, DEA e CBZ com relação ao material filtrante utilizado. A diferença pronunciada ocorre para a ATZ, com uma melhora na exatidão passando de 65% para 80% de recuperação na concentração testada.

Esse resultado vai de encontro com dados encontrados na literatura, como é o caso de Li, Liu e Duan, (2015) que investigaram o efeito da adsorção em membranas para 8 pesticidas e verificaram que a medida que o volume filtrado é

aumentado o efeito de adsorção do analito sobre a membrana é reduzido. E, além disso, verificaram que pesticidas com maior $\log K_{ow}$ tendem a adsorver mais facilmente na superfície da membrana. Fato também observado neste trabalho, pois de modo geral, a ATZ ($\log K_{ow} = 2,61$) apresentou menores recuperações quando comparado aos outros analitos, independente do volume de filtrado.

Mouvet e Jücker, (1997) também avaliaram a influência de filtros na concentração de pesticidas dissolvidos em água. Testaram 3 membranas (éster de celulose, PVDF e fibra de vidro) e filtraram 4 L de amostra (água sintética – simulando condições naturais - fortificada com $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada pesticida) em cada membrana. Eles verificaram que para a ATZ não houve variação da concentração para as membranas testadas com maiores volumes filtrados.

Os resultados apresentados demonstram a importância do estudo realizado, sugerindo que o uso de filtro de fibra de vidro, e maiores volumes de amostras, apresentam melhores resultados para os analitos testados.

Buscando avaliar a influência da matriz no processo de filtração também foram realizados testes de recuperação aplicando os materiais filtrantes em amostras de água superficial

5.3.2 Avaliação da recuperação dos analitos em amostra de água superficial

Dando continuidade aos testes de adsorção em diferentes materiais filtrantes, foram realizados ensaios com amostras de água superficial dos rios Almada, Boicy e PB02, as quais após coletadas eram filtradas em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro. Para esses ensaios foi utilizado 0,5 L de amostra para cada material filtrante e, além disso, as amostras foram fortificadas após a filtração. Cabe ressaltar que optou-se por filtrar esse volume de amostra com o intuito de se ter a mesma matriz em todos os testes que foram realizados (fortificação em diferentes níveis, com e sem *QuEChERS* e replicatas). Para isso, os experimentos foram realizados conforme o item 4.6.2, sendo conduzidas determinações sem fortificar visando identificar a presença dos analitos na matriz

(prova em branco). Já as avaliações com *QuEChERS* e sem *QuEChERS* buscaram verificar a recuperação do analito presente na fração solúvel da amostra.

Cabe ressaltar que este experimento apresenta algumas diferenças com relação ao item anterior (5.3.1). Primeiramente, nesta situação foram utilizados, como amostra, dois rios pertencentes à área urbana de Foz do Iguaçu e um rio localizando dentro da área do Parque Nacional do Iguaçu. Sob esse aspecto, a principal diferença está nos constituintes da na matriz analisada, uma vez que, anteriormente estava sendo analisada água ultrapura com adição de padrão (condição ideal). Além disso, nesta situação as concentrações dos analitos testadas foram inferiores às do experimento 5.3.1, pois, neste caso, a matriz avaliada era diferente e para isso as amostras foram fortificadas com 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e ao passarem pelo método de extração foram submetidas a um fator de concentração de até 25 vezes .

As Tabela 9 e Tabela 10 apresentam os valores de recuperação obtidos para as amostras filtradas em membrana de acetato de celulose e filtro de fibra de vidro, respectivamente. Os valores referentes às concentrações dos analitos, para as amostras filtradas em membrana de acetato de celulose, podem ser encontrados no Apêndice C, enquanto que os resultados referentes às amostras filtradas em filtro de fibra de vidro encontram-se no Apêndice D.

Considerando primeiramente as análises das amostras filtradas em membrana de acetato de celulose, e fortificadas com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, algumas considerações podem ser apresentadas para os rios Almada e Boicy (Tabela 9).

No caso da ATZ, a aplicação do método *QuEChERS* proporcionou recuperações de até 6,6 vezes superiores em relação ao processo sem aplicação do método.

Em relação ao DIA, para fortificações de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ o uso do método *QuEChERS* apresentou melhoras na recuperação na ordem de 36 a 100% superiores. Para o DEA nestas mesmas concentrações de fortificação, os resultados aplicando o método *QuEChERS* foram superiores na ordem de 72 a 315 %.

Para o CBZ, de modo geral, as recuperações foram melhores sem a aplicação do método *QuEChERS*, confirmando o efeito já observado de interferência do sal utilizado pelo método.

O uso do método *QuEChERS* também permitiu obter resultados para a análise das amostras quando fortificadas em concentrações da ordem de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Já para as amostras referentes ao PB02, quando o método foi aplicado observou-se para a ATZ recuperações 3 vezes superiores. Enquanto que para o DIA não passaram de 50%, para o DEA ficaram na faixa de 21 a 69% e para o CBZ foram da ordem de 10 a 23%, quando da aplicação do método.

Para as amostras filtradas em filtro de fibra de vidro, e fortificadas com 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, foi possível observar que o uso do *QuEChERS*, para os rios Almada e Boicy, proporcionou recuperações de ATZ na ordem de 30 a 100% superiores.

Em relação ao DIA, para fortificações de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, a aplicação do método *QuEChERS* possibilitou melhoras na recuperação na ordem de 3 a 24 % superiores. Enquanto que para o DEA, quando avaliado a mesma faixa de concentração, os resultados utilizando o método apresentaram melhorias na ordem de 7 a 55%.

Para o CBZ, ao contrário do que foi observado quando da utilização da membrana de acetato de celulose, ao utilizar filtro de fibra de vidro em conjunto com a aplicação do *QuEChERS* foi possível verificar melhoras na recuperação do analito na ordem de 5 a 31% superiores, na faixa de concentração de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. No entanto, existe a possibilidade deste acréscimo ser decorrente do interferente do sal, anteriormente avaliado.

Quando fortificadas em concentrações da ordem de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, o uso do filtro de fibra de vidro juntamente com a aplicação método *QuEChERS* permitiu obter resultados para todos os analitos. Sendo possível verificar uma melhora de 100% para as recuperações da ATZ.

Já para os analitos DIA e DEA, na mesma concentração, observou-se que não houveram diferenças consideráveis quando o método foi aplicado.

Já para as amostras do PB02, fortificadas com 5, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, as recuperações para a ATZ foram superiores, chegando à ordem de 1500%. Para o DIA ficaram em torno de 39 a 100%, DEA 24 a 115% e CBZ de 22 a 42%.

Com relação aos coeficientes de variação, para a membrana de acetato de celulose, de modo geral, observou-se uma melhora em 60% dos casos quando as amostras passaram pelo método *QuEChERS*. Já para as amostras filtradas em filtro de fibra de vidro, observou-se que quando o método é aplicado 72 % das amostras apresentaram uma melhora no RSD, indicando ser mais preciso.

Tabela 9 – Recuperação média (%) das amostras fortificadas, com e sem *QuEChERS*, para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹, filtradas em membrana de acetato de celulose. Volume: 10,0 mL com *QuEChERS*, 3,0 mL sem *QuEChERS*.

[Fortif.]	Ensaio	ATZ		DIA		DEA		CBZ		
		Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	
Rio Almada	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	-	-	14,4 ± 0,2	-	32,5 ± 2,6	-	12,5 ± 3,5	-
		RSD (%)	-	-	1,5	-	8,1	-	27,8	-
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	46,6 ± 5,3	-	33,4 ± 5,9	16,7 ± 2,6	41,4 ± 8,0	13,8 ± 1,9	42,8 ± 1,3	51,9 ± 6,8
		RSD (%)	11,4	-	17,6	15,3	19,3	14,0	3,0	13,2
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	48,3 ± 0,1	7,3 ± 2,1	42,1 ± 0,8	23,8 ± 3,7	49,7 ± 1,2	16,8 ± 2,7	33,9 ± 0,2	52,4 ± 2,1
		RSD (%)	0,3	28,2	1,9	15,4	2,5	16,2	0,6	4,0
Rio Boicy	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	62,4 ± 6,0	-	19,3 ± 2,0	40,8 ± 8,1	29,0 ± 4,0	65,8 ± 2,3	19,4 ± 2,0	34,9 ± 2,8
		RSD (%)	9,6	-	10,4	19,8	13,7	3,5	10,4	7,9
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	47,8 ± 4,0	6,5 ± 0,6	34,6 ± 3,6	25,3 ± 14,4	43,3 ± 7,2	25,7 ± 14,2	38,1 ± 0,2	59,7 ± 33,3
		RSD (%)	8,3	8,8	10,5	57,0	16,6	55,2	0,4	55,7
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	50,5 ± 7,0	10,7 ± 6,2	41,6 ± 6,6	28,0 ± 3,7	48,0 ± 8,1	25,4 ± 3,3	40,4 ± 0,1	34,8 ± 0,1
		RSD (%)	13,9	57,5	15,9	13,3	16,8	13,0	0,2	0,3
PB02	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	49,4 ± 23,4	-	19,2 ± 3,5	36,6 ± 1,5	47,4 ± 0,4	60,4 ± 6,1	84,0 ± 0,3	-
		RSD (%)	47,4	-	18,1	4,0	0,8	10,1	0,4	-
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	45,2 ± 4,3	14,1 ± 4,1	33,7 ± 4,8	22,7 ± 3,4	44,0 ± 7,1	26,8 ± 6,0	52,1 ± 3,7	47,0 ± 2,0
		RSD (%)	9,6	29,1	14,3	15,2	16,1	22,6	7,0	4,3
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	48,9 ± 3,3	14,8 ± 0,2	40,4 ± 4,7	29,9 ± 0,6	46,8 ± 3,8	29,2 ± 1,4	53,1 ± 6,8	43,2 ± 5,0
		RSD (%)	6,7	1,4	11,6	2,1	8,1	4,6	12,8	11,5

Tabela 10 – Recuperação média (%) das amostras fortificadas, com e sem *QuEChERS*, para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹, filtradas em filtro de fibra de vidro. Volume: 10,0 mL com *QuEChERS*, 6,25 mL sem *QuEChERS*.

[Fortif.]	Ensaio	ATZ		DIA		DEA		CBZ		
		Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	
Rio Almada	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	52,8 ± 5,9	25,2 ± 8,3	37,7 ± 4,0	49,7 ± 3,7	52,6 ± 6,6	54,1 ± 7,8	77,6 ± 20,4	59,2 ± 0,7
		RSD (%)	11,2	33,1	10,5	7,5	12,6	14,5	26,2	1,1
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	36,0 ± 0,1	24,6 ± 4,1	43,7 ± 6,5	38,9 ± 5,9	59,3 ± 8,5	38,6 ± 4,7	64,6 ± 7,5	59,1 ± 10,6
		RSD (%)	0,3	16,6	15,0	15,1	14,4	12,2	11,6	17,9
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	46,3 ± 2,9	35,6 ± 2,7	53,8 ± 1,9	51,2 ± 3,6	59,0 ± 1,2	49,0 ± 4,5	61,6 ± 1,8	58,2 ± 4,4
		RSD (%)	6,2	7,7	3,5	7,0	2,0	9,3	2,8	7,5
Rio Boicy	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	31,4 ± 1,4	15,6 ± 1,3	28,1 ± 1,9	40,9 ± 5,8	41,8 ± 3,9	47,4 ± 0,2	30,2 ± 6,0	51,2 ± 5,6
		RSD (%)	4,4	8,3	6,6	14,2	9,4	0,3	20,0	10,9
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	62,2 ± 1,9	43,5 ± 1,5	50,3 ± 7,1	55,9 ± 1,3	59,6 ± 5,4	55,1 ± 1,1	66,9 ± 4,7	63,2 ± 1,4
		RSD (%)	3,0	3,4	14,2	2,3	9,0	1,9	7,0	2,2
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	61,6 ± 6,0	29,9 ± 0,6	46,1 ± 4,0	45,5 ± 4,1	53,8 ± 4,2	43,4 ± 3,7	50,2 ± 2,8	38,7 ± 4,1
		RSD (%)	9,8	2,1	8,6	9,1	7,8	8,5	5,6	10,5
PB02	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	59,7 ± 6,8	3,9 ± 1,0	38,4 ± 0,7	26,9 ± 3,1	56,8 ± 6,7	26,3 ± 4,0	56,8 ± 36,1	45,5 ± 6,2
		RSD (%)	11,4	25,0	1,9	11,4	11,8	15,4	63,7	13,2
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	64,4 ± 0,6	12,9 ± 2,0	47,8 ± 1,4	23,8 ± 1,8	56,3 ± 3,8	25,5 ± 5,0	55,9 ± 4,0	45,2 ± 5,3
		RSD (%)	0,9	15,3	2,9	7,7	6,8	19,5	7,1	11,8
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	70,4 ± 1,9	25,7 ± 7,7	53,5 ± 4,8	38,1 ± 6,2	61,0 ± 6,8	33,6 ± 6,3	67,6 ± 1,5	47,8 ± 5,8
		RSD (%)	2,7	30,0	8,9	16,4	11,1	18,8	2,2	12,2

Em geral os resultados de recuperação obtidos para as amostras filtradas em acetato de celulose foram inferiores às aquelas encontradas para as amostras que foram filtradas em filtro de vidro.

Verificou-se ainda que, para os diferentes materiais filtrantes avaliados, quanto maior a concentração dos analitos presente na fortificação da amostra, maior foi a recuperação destes quando utilizou-se o método *QuEChERS*. Fato também observado por Montagner e Jardim (2011), que avaliaram a recuperação de hormônios e produtos farmacêuticos em amostras de rio fortificadas em diferentes concentrações. Montagner e Jardim (2011), verificaram que para concentrações de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ as recuperações foram da ordem de 50%, enquanto que para fortificações de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ as recuperações foram superiores a 80%.

Como pode ser observado nas tabelas 9 e 10, em geral, quando o método *QuEChERS* é aplicado tem-se uma maior recuperação dos analitos, comparando com as amostras que não passaram pelo método. Com relação ao tipo de membrana ou fibra utilizada na filtração, nota-se que foram obtidas recuperações mais elevadas para as amostras filtradas em filtro de fibra de vidro.

Como as amostras foram fortificadas após o processo de filtração, estes resultados estão relacionados ao eluato das amostras. Desta forma, indiretamente, os resultados estão relacionados às características estruturais das membranas, sendo que na membrana de acetato de celulose predominam características mais apolares do que no filtro de fibra de vidro. De alguma forma, ainda não muito bem compreendida, a presença de maior quantidade de matéria apolar, não retida no processo de filtração pela fibra de vidro, acaba favorecendo a recuperação dos analitos.

Diante desses resultados, algumas discussões adicionais são feitas para as análises em fibra de vidro, considerando a aplicação do método *QuEChERS* frente a análise de amostras sem fortificação com analitos, ou fortificadas a baixas concentrações, $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Para fins didáticos em alguns casos são apresentados resultados com fortificação a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ visando auxiliar a identificação dos picos.

Os cromatogramas apresentados na Figura 23 comparam resultados da aplicação do método *QuEChERS* para o rio Almada considerando a análise da prova em branco (A) e amostras fortificadas a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (B). Dados de fortificação a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ são apresentados em cada cromatograma para auxílio na identificação dos picos dos analitos.

Apesar do cromatograma mostrar o comprimento de onda de 221 nm, ideal para a ATZ, pode-se observar pelos cromatogramas das amostras SFSQ (Figura 23A), que o rio Almada apresenta poucos problemas de interferência para os compostos DIA e ATZ. O mesmo não pode ser afirmado para o DEA e CBZ, podendo ser observados picos cromatográficos mais intensos, com tempos de retenção próximos aos analitos, mesmo quando observados nos seus respectivos comprimentos de onda. Assim como já indicado no item 5.2.3, o CBZ sofre interferência proveniente de um composto presente no sal utilizado no método *QuEChERS*.

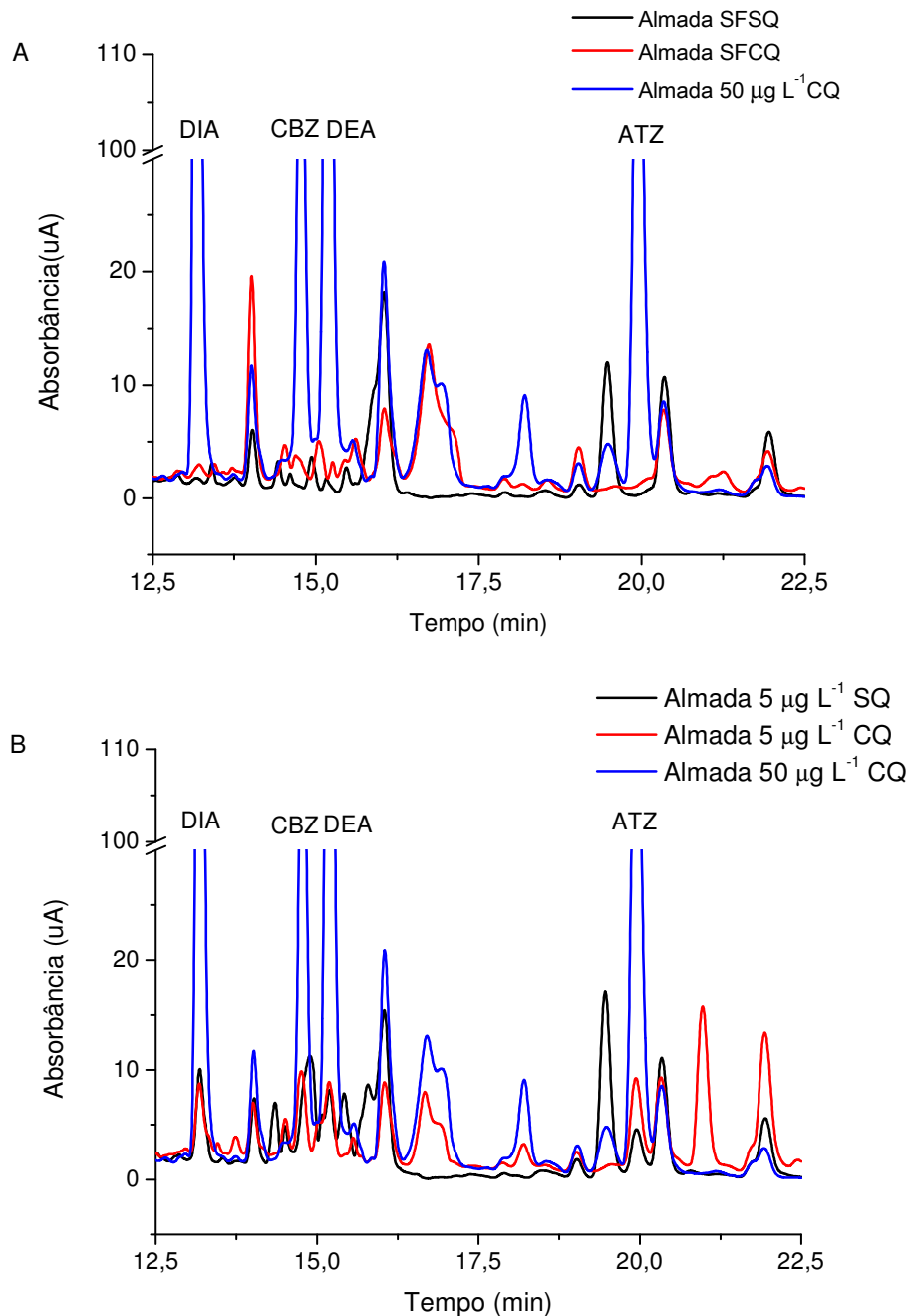
Com relação às amostras fortificadas em $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ e CQ (Figura 23 B), é possível notar que os picos dos analitos DIA, DEA e CBZ se sobrepõem em área, indicando que a recuperação de ambos os métodos foi similar. Para ATZ foi possível notar um aumento na área do pico cromatográfico da amostra CQ. Estas observações estão de acordo com os resultados apresentados na Tabela 10.

Nos cromatogramas apresentados na Figura 24, para o rio Boicy, também em 221 nm, foram feitas as mesmas avaliações mostradas na Figura 23, sendo comparados para este rio os resultados da aplicação do método *QuEChERS* para análise da prova em branco (A) e amostras fortificadas a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (B). Dados de fortificação a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ são apresentados em cada cromatograma para auxílio na identificação dos picos dos analitos.

Comparando-se os cromatogramas da Figura 24A, no tempo de retenção da atrazina, é possível verificar uma pequena interferência de um pico subjacente próximo ao término da eluição do analito. Conforme mostrado na Figura 19 esta interferência tende a diminuir em concentrações menores de ATZ.

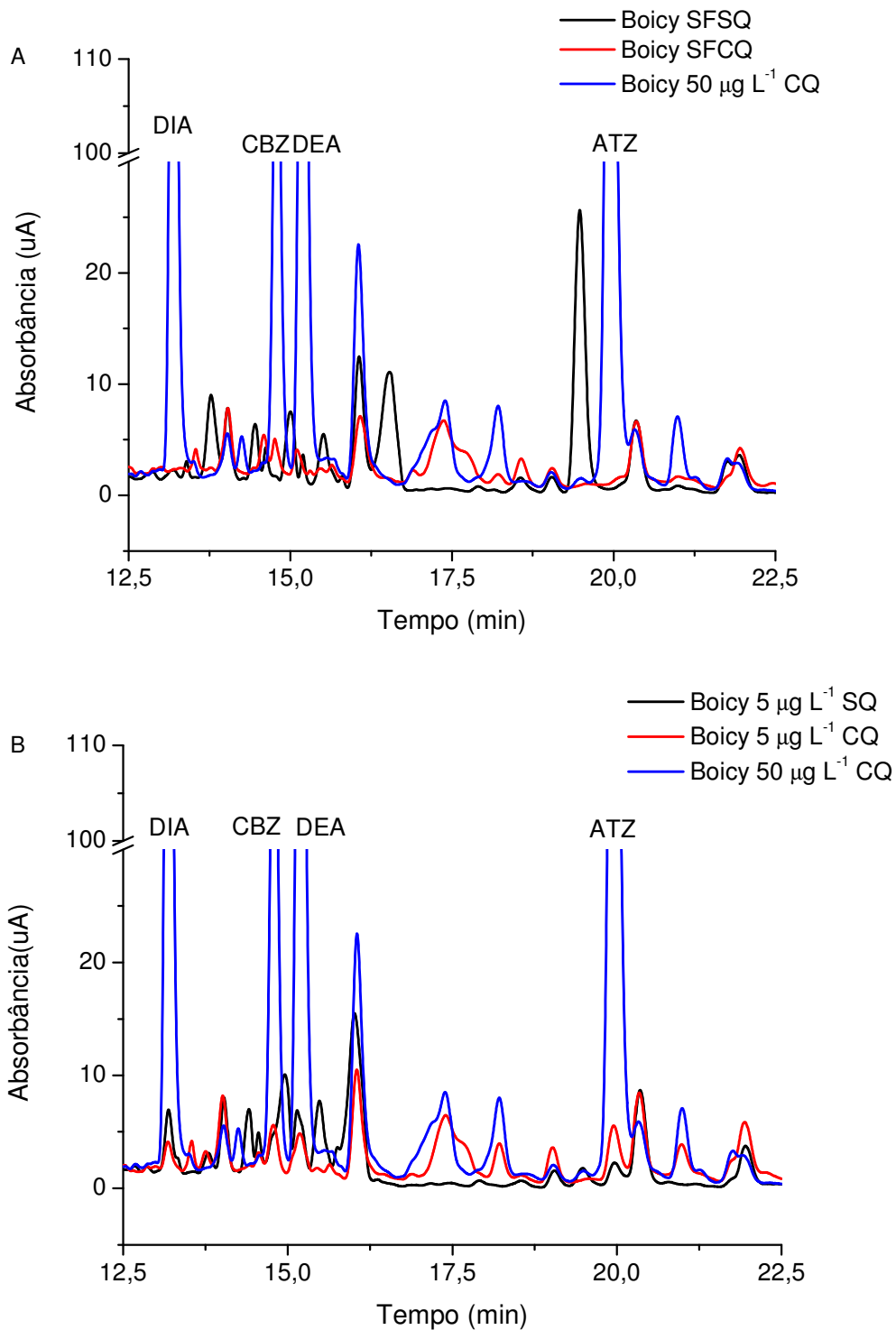
Pode-se observar pelo cromatograma da amostra SFSQ da Figura 24 A, mesmo que este esteja apresentado no comprimento de onda de 221 nm, que o rio Boicy, assim como o rio Almada, apresenta poucos problemas de interferência para os compostos DIA e ATZ. No entanto, para a amostra SFCQ para os analitos DEA e CBZ é possível observar picos cromatográficos com tempos de retenção próximos aos analitos, com interferente da matriz para o DEA. Para o CBZ se reproduzem os problemas de interferência provocados pelo sal usado no método *QuEChERS*, conforme já indicado no item 5.2.3.

Figura 23 - Cromatogramas dos experimentos com o rio Almada sem fortificar sem *QuEChERS* (SFSQ), sem fortificar com *QuEChERS* (SFCQ), fortificado com $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ sem *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221\text{nm}$).



Fonte: Autoria própria

Figura 24 - Cromatogramas dos experimentos com o rio Boicy sem fortificar sem *QuEChERS* (SFSQ), sem fortificar com *QuEChERS* (SFCQ), fortificado com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ sem *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221\text{nm}$).



Fonte: Autoria própria

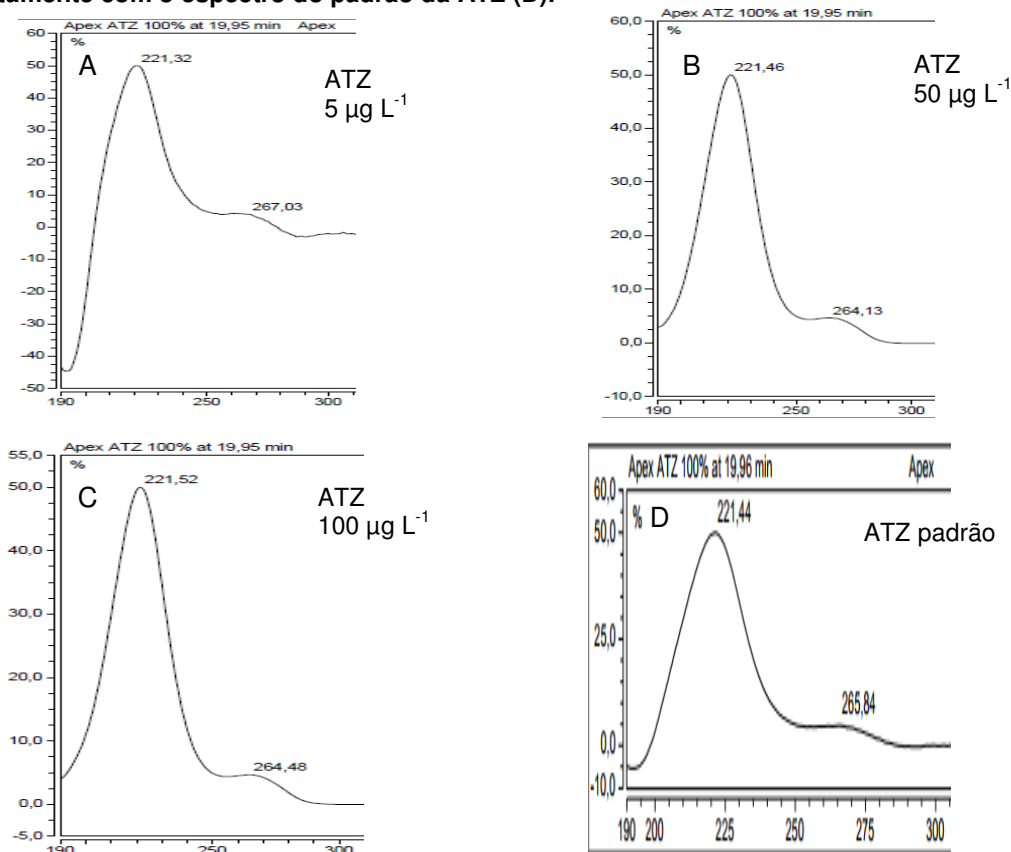
Já para as amostras fortificadas em $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ e CQ (Figura 24B), pode-se notar que os picos dos analitos DIA, DEA e CBZ apresentam área similar, indicando que a faixa de recuperação é próxima para ambos os métodos. Foi possível notar um aumento na área do pico cromatográfico da amostra CQ, apenas para a ATZ. Estas observações estão de acordo com os resultados apresentados na Tabela 10.

Buscando avaliar de que forma este interferente poderia alterar o perfil UV-Vis da ATZ, foi realizada uma comparação entre os espectros obtidos nas concentrações de 5, 50 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$, conforme apresentado na Figura 25, em relação ao espectro padrão da ATZ.

De acordo com a Figura 25, percebe-se que o sinal do interferente sobre o sinal da ATZ modificou levemente o espectro UV-Vis da amostra a $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, no entanto sem alterar seus máximos de absorção. Para concentrações maiores de ATZ a proporção de contribuição do interferente no sinal UV-Vis da amostra praticamente não afetou o espectro. Estas considerações permitem inferir, que nesta situação, o sinal UV-Vis sofrerá maiores interferências em concentrações menores do analito na amostra, porém, quanto menor a concentração do analito também tende a ser menor a sobreposição entre os picos cromatográficos.

Nos cromatogramas apresentados na Figura 26, para o rio localizado dentro do Parque Nacional do Iguaçu, área de preservação ambiental (PB02), com cromatograma obtido a 221 nm, foram repetidas as avaliações mostradas nas Figura 23 e Figura 24, sendo comparados para este rio os resultados da aplicação do método *QuEChERS* para análise da prova em branco (A) e amostras fortificadas a $5 \mu\text{g L}^{-1}$ (B). Dados de fortificação a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ são apresentados em cada cromatograma para auxílio na identificação dos picos dos analitos.

Figura 25 - Espectros UV-Vis da ATZ nas concentrações de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ (A), $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (B) e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (C), juntamente com o espectro do padrão da ATZ (D).

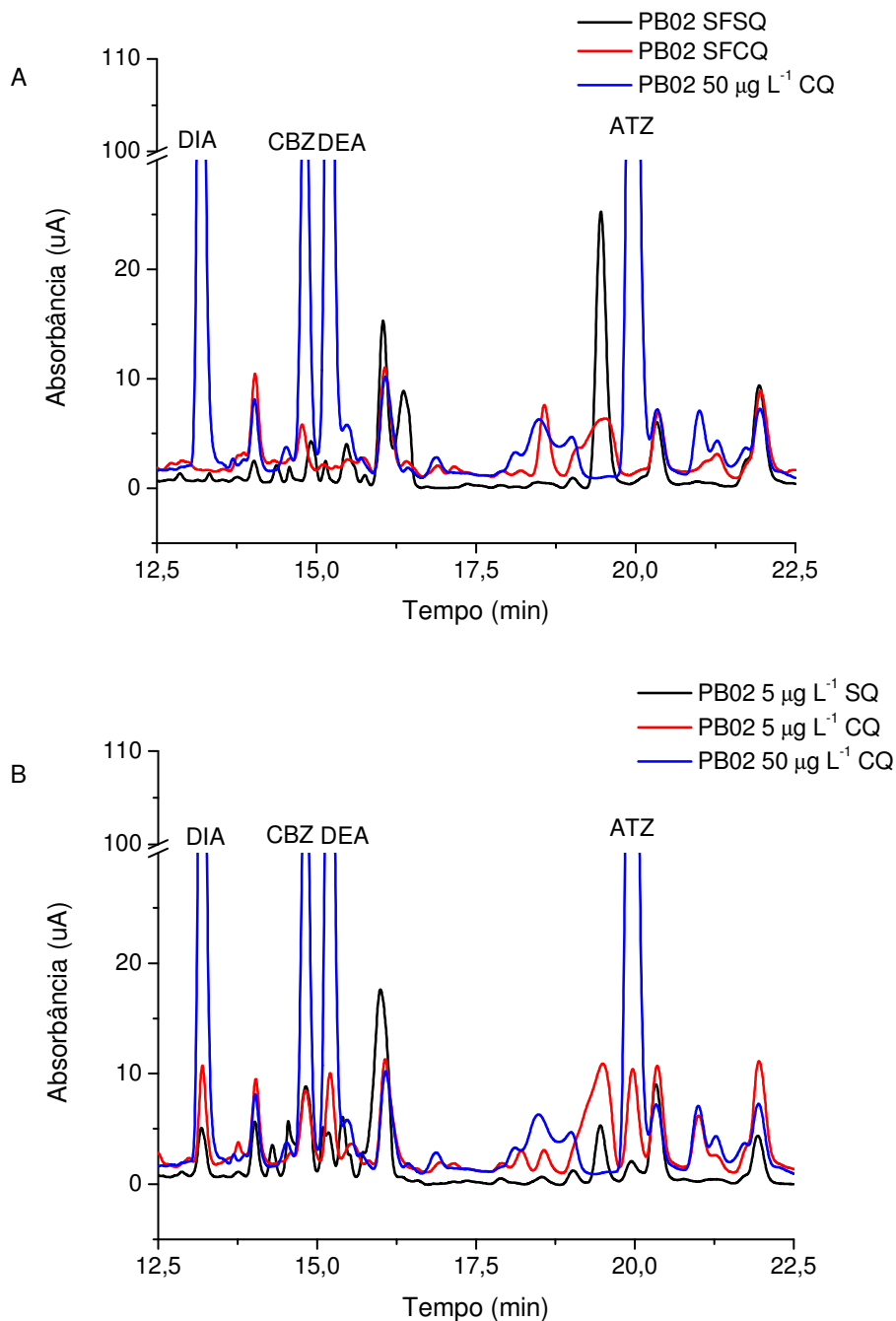


Fonte: Autoria própria

Em relação a prova em branco, sem *QuEChERS* e com *QuEChERS* (Figura 26A) verifica-se que o método aplicado promoveu a limpeza de interferentes que estavam localizados nos tempos de retenção do DIA e do DEA. Para o CBZ verificou-se que o uso do método, conforme já citado, agregou o sinal de um interferente para o tempo de retenção do analito. Em relação à ATZ o resultado observado foi igual ao dos rios Almada e Boicy.

De modo geral, o fato do PB02 tratar-se de um rio localizado dentro de uma área de preservação, considerada menos impactada, em tese, esta pode apresentar menos interferentes de matriz que os rios Almada e Boicy. Isso se confirmou pela análise dos cromatogramas da Figura 26A, na qual as regiões dos analitos DIA e DEA, antes e após *QuEChERS*, demonstraram que houve a limpeza da amostra.

Figura 26 - Cromatogramas dos experimentos com o rio PB02 sem fortificar sem *QuEChERS* (SFSQ), sem fortificar com *QuEChERS* (SFCQ), fortificado com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (A) e fortificado com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ sem *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ), fortificado com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($5 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) e fortificado com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ com *QuEChERS* ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ CQ) (B) ($\lambda=221\text{nm}$).



Fonte: Autoria própria

Ao comparar estes resultados com os obtidos para estes analitos nas Figura 23A e Figura 24A, observa-se que o processo *QuEChERS* foi mais eficiente na remoção de interferentes para o rio PB02.

Apesar dos cromatogramas do PB02 se mostrarem mais limpos nestas regiões do que os observados nestas condições para os rios Almada e Boicy, ao se analisar os dados da Tabela 10 percebe-se que a recuperação entre os rios Almada e PB02 são similares, e, um pouco melhores que aquelas obtidas para o rio Boicy.

Com relação às amostras fortificadas em $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ SQ e CQ (Figura 26B), nota-se que os picos dos analitos DIA, DEA e ATZ apresentaram um aumento na área do pico cromatográfico da amostra com *QuEChERS*.

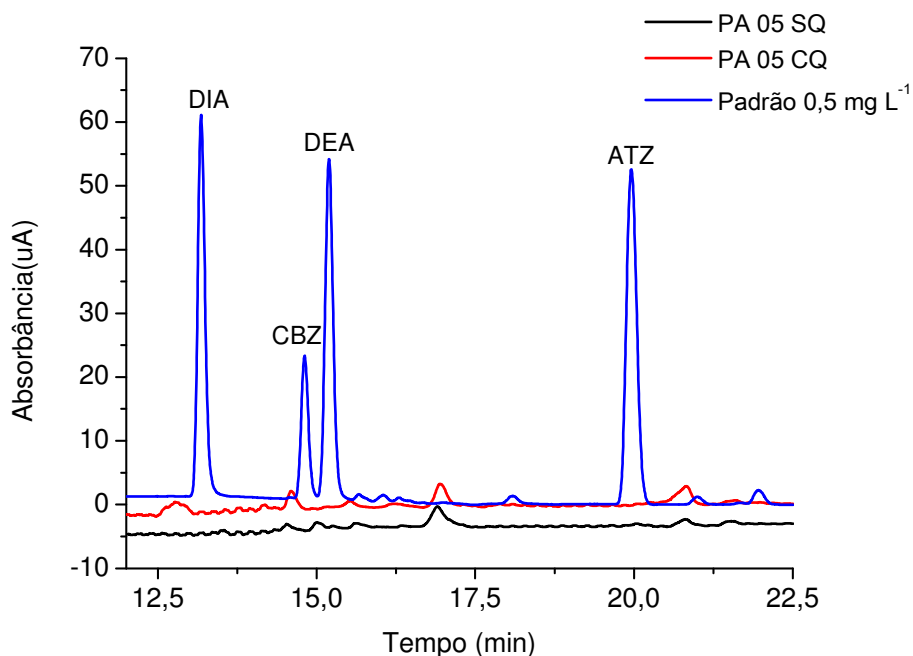
5.4 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Antes de apresentar os resultados da etapa de análise das amostras é importante ressaltar que na primeira coleta, foi utilizada a membrana de acetato de celulose para a filtração das amostras, procedimento padrão adotado no laboratório onde o trabalho foi desenvolvido, na Universidade Federal da Integração Latino-Americana (UNILA). No entanto, antes da segunda coleta foram realizados ensaios comparativos entre os materiais filtrantes - membrana de acetato de celulose ($0,45 \mu\text{m}$) e filtro de fibra de vidro ($0,45\text{-}0,60 \mu\text{m}$), materiais comumente usados no processo de filtração de amostra, sendo que melhores resultados foram obtidos para o filtro de fibra de vidro. Desta forma, as amostras da segunda coleta foram filtradas com Fibra de vidro.

Para todas as análises realizadas, com filtração das amostras com membrana de acetato de celulose ou filtro de fibra de vidro não foi observada a presença de nenhum dos analitos, empregando o método *QuEChERS*.

Um exemplo dos resultados obtidos é mostrado na Figura 27, na qual podem ser visualizados os cromatogramas do ponto amostral 05 (PA-05) referentes à coleta da 1ª semana da primeira etapa. Os cromatogramas referem-se à amostra deste rio sem e com a aplicação do método *QuEChERS*, juntamente com um cromatograma dos padrões analíticos a $0,50 \text{mg L}^{-1}$. Mesmo o método concentrando a amostra não foram observados sinais dos analitos.

Figura 27 - Cromatogramas sobrepostos do PA-05, na presença do método *QuEChERS* (CQ) e na ausência do método *QuEChERS* (SQ) coletados na primeira semana e a mistura dos padrões a 0,50 mg L⁻¹.



Fonte: Autoria própria

Há relatos na literatura onde estes compostos foram detectados em águas superficiais, principalmente a ATZ, em concentrações acima de 5 µg L⁻¹ (AMADORI et al., 2016; SOUSA et al., 2016).

Com relação ao uso do método *QuEChERS* em amostras de águas superficiais, até aonde se conseguiu pesquisar, somente dois trabalhos foram encontrados na literatura. Brondi et al. (2011) avaliaram ATZ, fipronil e α e β – Endossulfan em reservatório de água para dessedentação de rebanho bovino e não detectaram nenhum dos analitos. Enquanto que Wu et al. (2013) desenvolveram um método analítico para determinação de propisocloro em diferentes matrizes, entre elas a água, porém o trabalho foi realizado somente com amostras fortificadas, não sendo aplicado na análise de amostras ambientais.

5.5 EXPERIMENTOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

Uma vez que não foram encontrados sinais de nenhum dos analitos empregando o método *QuEChERS*, e, conhecida a capacidade de recuperação para o método SPE, decidiu-se realizar testes de concentração das amostras com a técnica de SPE, utilizando a fase HLB, conforme descrito no item 4.8.

Para efeitos de comparação de eficiência de recuperação a água ultrapura foi fortificada com ATZ, DIA, DEA e CBZ nas concentrações de 5,0, 7,0 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Então, em ensaios em triplicata, 10,0 mL de amostra foram passadas pelo cartucho de SPE e eluídas com 2,5 mL de metanol. Estas amostras foram secas sob fluxo suave de nitrogênio e ressuspendidas para 0,40 mL da proporção inicial da fase móvel. Isto garante que o fator de concentração obtido para a técnica SPE será o mesmo empregado para o método *QuEChERS*. Cabe ressaltar, que procurou-se manter o mesmo volume de amostra utilizado no método *QuEChERS* para efeitos de comparação sob as mesmas condições iniciais.

Os valores de recuperação para o método SPE das amostras acima são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Recuperação média (%) do método SPE para água ultrapura fortificada com as concentrações de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, 7,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Volume inicial: 10,0 mL de amostra. Reconstituição para 0,40 mL da fase móvel. n=3

[Fortif.]	Ensaio	ATZ	DIA	DEA	CBZ
5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Média \pm DP	26,0 \pm 4,1	55,1 \pm 7,3	53,9 \pm 4,7	46,9 \pm 11,5
	RSD (%)	15,6	13,2	8,7	24,5
7,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Média \pm DP	36,2 \pm 6,2	61,9 \pm 2,7	62,9 \pm 8,4	50,6 \pm 7,4
	RSD (%)	17,0	4,4	13,4	14,7
10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Média \pm DP	41,7 \pm 4,1	56,0 \pm 2,1	62,0 \pm 2,4	57,3 \pm 0,9
	RSD (%)	9,8	3,8	3,8	1,6

n = 3

Nos resultados apresentados na Tabela 11 observa-se que em média as recuperações para os analitos testados variaram entre 26% e 63%, sendo obtidos, geralmente, maiores recuperações para as maiores concentrações.

Montagner e Jardim, (2011), utilizando 1 L de amostra, também obtiveram resultados onde existe uma tendência a se obter recuperações mais elevadas quanto maior for a concentração do analito. Eles observaram que para concentrações de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ as recuperações são de 50%, enquanto que para concentrações de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ as recuperações passam a ser de 80 %.

Trabalhando com amostras de água do mar, com volumes iniciais e finais iguais aos testados neste experimento, porém usando um cartucho contendo diferente massa de adsorvente em relação ao cartucho empregado neste trabalho, Rodríguez-González et al. (2017) obtiveram recuperações superiores a 92% para ATZ, DIA e DEA.

Entre as possibilidades para valores tão diferentes de recuperação empregando o mesmo método foram levantadas algumas hipóteses. Os analitos podem ter sido extraídos da fase aquosa para a fase estacionária devido a um efeito salino da amostra ou não ter sido completamente eluídos do cartucho SPE com os 2,5 mL de metanol utilizados na eluição dos cartuchos.

Os cartuchos utilizados nos dois casos são OASIS HLB, sendo o cartucho usado neste trabalho de 500 mg de fase estacionária e o cartucho utilizado por Rodríguez-González et al., de 200 mg de fase estacionária, sendo mais provável a retenção dos analitos no interior dos cartuchos testados, não tendo sido completa sua eluição do mesmo.

Para avaliar esta possibilidade um volume adicional de 5 mL de ACN, um solvente mais forte que o metanol, foi passado nestes mesmos cartuchos, sendo então o eluato evaporado em fluxo suave de nitrogênio e reconstituído em 0,40 mL da fase móvel. Os resultados da recuperação com ACN, para os cartuchos já eluídos com 2,5 mL de metanol, são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Recuperação média (%) do método SPE em 5,0 mL de ACN, para água ultrapura fortificada com as concentrações de $7,0 \mu\text{g L}^{-1}$, após eluição com 2,5 mL de MeOH.

[Fortif.]	Ensaio	ATZ	DIA	DEA	CBZ
$7,0 \mu\text{g L}^{-1}$	Média \pm DP	$4,6 \pm 0,5$	$5,6 \pm 2,2$	$15,5 \pm 10$	$21,0 \pm 0,7$
	RSD (%)	9,9	39,2	64,4	3,4

n = 3

Os resultados da Tabela 12 permitem concluir que parte dos analitos havia ficado retida na fase estacionária do cartucho SPE, sendo que estes valores variaram bastante para o DEA. Pela soma das concentrações encontradas na análise com cada solvente pode-se dizer que a recuperação pelo método SPE foi da ordem de 40,8%, 67,5%, 78,4% e 71,6%, respectivamente para ATZ, DIA, DEA e CBZ. Estes valores ainda ficaram abaixo dos resultados obtidos por Rodríguez-González et al., (2017).

Comparando ainda, os valores de recuperação encontrados com os relatados por D'Archivio et al.(2007), os quais obtiveram recuperações superiores a 70% para ATZ, DIA e DEA utilizando cartuchos OASIS HLB e STRATA X, verifica-se que os encontrados neste trabalho foram inferiores também. Porém, cabe ressaltar que o volume de amostra utilizado por eles foi 100 vezes superior ao utilizado neste estudo.

Há relatos na literatura (GIROTTTO et al., 2007; LIZ et al., 2017; LÓPEZ DE ALDA; BARCELÓ, 2000) sobre a influência da variação de volume e concentração do analito demonstrando que menores volumes de amostra, abaixo do volume de quebra, proporcionam recuperação mais baixas, bem como menores concentrações também tendem a apresentar recuperações inferiores. Quando consideradas baixas concentrações e baixos volumes, estes trabalhos demonstram uma redução significativa nos valores das recuperações dos analitos avaliados.

Outro fator que pode ter vindo a interferir na recuperação dos analitos é o volume de solvente utilizado para eluir o cartucho e o tipo de solvente. D'Archivio et al.(2007) utilizaram 10 mL, sendo 5 mL de ACN e 5 mL de MeOH, enquanto que neste trabalho, na maior parte dos experimentos utilizou-se apenas 2,5 mL de MeOH, exceto em um caso no qual o cartucho foi reeluído com 5,0 mL de ACN.

Vale lembrar que foi utilizado pouco volume de amostra, quando comparado a dados da literatura, com o intuito de comparar os métodos QuEChERS e SPE sob as mesmas condições (volume de amostra inicial e fator de concentração).

Paralelamente, uma amostra da segunda etapa de coleta, referente ao ponto PA-01 da terceira semana do calendário, foi fortificada com a mistura dos pesticidas nas concentrações de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $7,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e estas foram submetidas ao método *QuEChERS*, desenvolvido neste trabalho, e ao método SPE segundo metodologia publicada por Rodríguez-González et al (2017), sendo eluídos

com 2,5 mL de metanol. Os resultados para este teste de recuperação são apresentados na Tabela 13.

Ao observar a Tabela 13, nota-se que de forma geral as recuperações dos analitos para o método SPE foram inferiores às recuperações obtidas pelo método *QuEChERS*, para os analitos ATZ, DIA e DEA. O CBZ não pode ser comparado entre os dois métodos devido ao problema de interferência já relatado para o *QuEChERS*.

Ao comparar resultados obtidos somente pelo método SPE, considerando a concentração de $7,0 \mu\text{g L}^{-1}$, para a matriz de água superficial (Tabela 13), e a matriz de água ultrapura (Tabela 11), as recuperações são da mesma ordem de grandeza.

Ao analisar os resultados obtidos somente pelo método *QuEChERS*, considerando a concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, as recuperações médias obtidas para os rios Almada, Boicy e PB02 (Tabela 10), são da ordem de 48%, 35% e 50% para ATZ, DIA e DEA, respectivamente. Os resultados para o ponto PA01 (Tabela 13) foram da ordem de 114%, 69% e 63% para ATZ, DIA e DEA, respectivamente, sendo estes resultados consideravelmente melhores.

Esta melhoria provavelmente está associada à matriz das amostras. O ponto PA01 pertence a um rio de primeira ordem (Sanga Esquina Memória 01), localizado em uma propriedade com atividade predominante de agricultura, protegido por mata ciliar.

Em baixas concentrações dos analitos, na ordem de $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$, quando submetidos à concentração de 25 vezes, observou-se que para ambos os métodos a recuperação para o DEA variou de 60 a 70%. Para o DIA as recuperações por SPE da ordem de 56% inferior ao *QuEChERS* (125%). Para a ATZ os melhores resultados foram obtidos para o método *QuEChERS*, aproximadamente 41%. Diante dos resultados obtidos para as condições testadas, pode-se dizer que o método *QuEChERS* foi melhor que o SPE.

Tabela 13 – Comparação da Recuperação média (%) de uma amostra do ponto PA-01 (3ª semana de coleta) fortificada com as concentrações de 2,0 µg L⁻¹, 5,0 µg L⁻¹, 7,0 µg L⁻¹ e 10,0 µg L⁻¹.

[Fortif.]	Ensaio	ATZ		DIA		DEA		CBZ		
		<i>QuEChERS</i>	<i>SPE</i>	<i>QuEChERS</i>	<i>SPE</i>	<i>QuEChERS</i>	<i>SPE</i>	<i>QuEChERS</i>	<i>SPE</i>	
PA-01 3ª semana	2,0 µg L ⁻¹	Média ± DP	41,3 ± 3,3	22,4 ± 1,4	125,1 ± 56,9	55,6 ± 3,2	60,8 ± 10,8	69,6 ± 3,1	1268,4 ± 156,3	63,3 ± 3,9
		RSD (%)	8,1	6,5	45,5	5,7	17,7	4,4	12,3	6,2
	5,0 µg L ⁻¹	Média ±DP	113,9 ± 14,7	23,2 ± 6,5	69,0 ± 3,4	49,5 ± 6,7	62,8 ± 7,1	55,9 ± 3,7	426,0 ± 29,4	42,9 ± 6,5
		RSD (%)	12,9	28,1	5,0	13,5	11,4	6,7	6,9	15,1
	7,0 µg L ⁻¹	Média ±DP	106,9 ± 3,2	41,8 ± 7,1	71,9 ± 7,4	53,7 ± 6,9	86,0 ± 8,1	77,2 ± 12,4	628,9 ± 23,7	30,8 ± 4,2
		RSD (%)	3,0	17,1	10,3	12,8	9,4	16,1	3,8	9,0
	10,0 µg L ⁻¹	Média ±DP	91,8 ± 3,6	52,0 ± 0,5	67,3 ± 5,9	65,3 ± 1,2	63,5 ± 2,5	76,2 ± 3,1	312,9 ± 1,1	35,3 ± 2,5
		RSD (%)	3,9	1,0	8,8	1,8	4,0	4,1	0,3	4,7

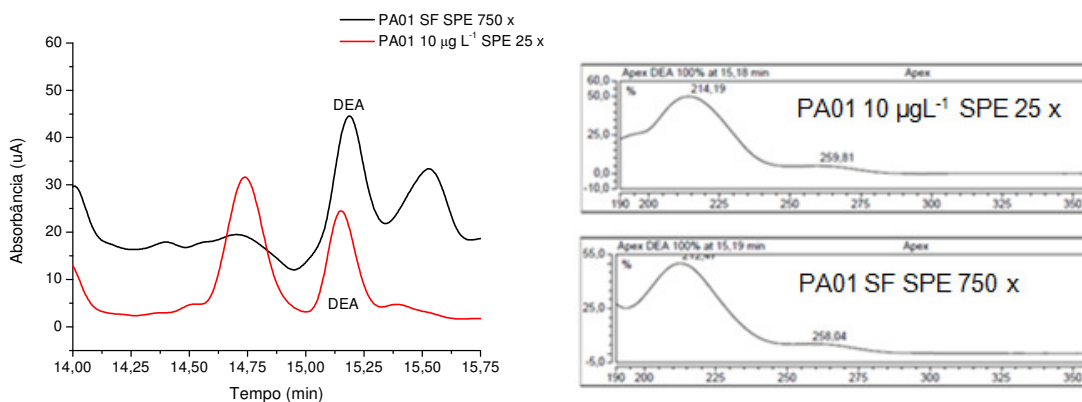
Considerando ainda as recuperações médias, para o método *QuEChERS*, nas concentrações testadas, 2,0, 5,0, 7,0 e 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, para os analitos (Tabela 13), foram obtidos valores de 88%, 83% e 68% para ATZ, DIA e DEA, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com a polaridade dos compostos, do mais polar para o menos (DEA, DIA, ATZ). Primeiramente, espera-se que a ACN extraia de forma mais eficiente o composto menos polar. Também, no processo de *clean up* a fase sorvente PSA tem a capacidade de reter compostos mais polares. Novamente, o DEA seria o composto de melhor interação com a PSA, porém nesta etapa o interesse está sobre os analitos presentes na fase líquida.

Diante a dificuldade em estabelecer a presença dos analitos nas amostras avaliadas optou-se ainda por realizar um experimento pelo método SPE com maior fator de concentração.

Neste caso, foram passados 300 mL da amostra PA01 pelo cartucho, o qual foi seco e eluído com 2,5 mL com MeOH. O eluato foi seco sob fluxo suave de nitrogênio e ressuspendido em 0,4 mL na proporção inicial da fase móvel, obtendo-se um fator de concentração de 750 vezes. Ao realizar a análise cromatográfica, os resultados indicaram a presença de DEA na ordem de 0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor inferior a capacidade de determinação do método *QuEChERS* proposto. No entanto, os demais analitos não foram detectados.

A Figura 28 apresenta o cromatograma obtido para a amostra concentrada 750 vezes sem fortificação e como comparação a amostra fortificada com 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ concentrada 25 vezes.

Figura 28 - Cromatograma amostra PA 01 sem fortificar com SPE 750 vezes e PA01 fortificado com 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ SPE 25 vezes ($\lambda=213\text{nm}$)



Fonte: Autoria própria

Os espectros UV-Vis apresentados na Figura 28, referem-se aos picos indicados como DEA no cromatograma. Quando comparados ao espectro padrão do DEA, confirma-se a presença deste composto na amostra concentrada 750 vezes.

Os resultados para os experimentos *QuEChERS* e SPE com fator de concentração da ordem de 25 vezes permitem concluir que o método *QuEChERS* apresenta vantagens, pois seus resultados de recuperação foram superiores em relação ao SPE. Entretanto, os resultados da Figura 28, permitem concluir que para concentrações muito baixas o método SPE, com maior capacidade de concentração permite determinar estes analitos.

Oshita e Jardim (2015), em estudo recente, compararam LC-DAD e LC-MS/MS na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em morangos. Eles relataram que o uso da técnica espectrometria de massas apresenta um LOQ inferior a técnica utilizando detector de arranjo de diodos. Na disponibilidade de um LC-MS/MS, esta poderia ser uma alternativa para tentar determinar os analitos utilizando o método *QuEChERS* proposto neste trabalho.

6 CONCLUSÃO

Entre os diversos métodos avaliados foi desenvolvido e determinados vários parâmetros de mérito do método cromatográfico para a determinação de ATZ, DIA, DEA e CBZ com limites de detecção e quantificação compatíveis com a análise desejada, sendo obtido LOQ na faixa de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

Diferente do que já existe disponível na literatura, este trabalho comprovou ser viável o uso do método *QuEChERS* no preparo de amostras de águas superficiais, inovando cientificamente ao aplicar um fator de concentração da ordem de 25 vezes para amostras aquosas.

Ao aplicar o método *QuEChERS* em amostras de diferentes rios, as quais foram fortificadas, foi possível observar que este pode ser aplicado em matrizes ambientais e, além disso, houve a intensificação do sinal dos analitos.

Os testes de filtração realizados com membrana de acetato de celulose permitiram concluir que compostos menos polares, como a ATZ, em concentrações inferiores a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ sofrem retenção da ordem de 50% na membrana, dependente do volume, quando analisadas em água ultrapura. Estes experimentos quando realizados com filtro de fibra de vidro, permitiram obter resultados de recuperação da ordem de 85%, independente do volume de 50 ou 100 mL.

Os testes comparando o método *QuEChERS* ao SPE, sobre as condições de concentração da amostra, permitem concluir que o *QuEChERS* proporcionou melhores recuperações para ATZ, DIA e DEA.

Para as amostras coletadas durante a execução desse trabalho, nas duas campanhas (jan-fev/17 e set-out/17), o método desenvolvido não foi capaz de detectar nenhum analito, fato este que pode ser atribuído à baixa concentração dos analitos nas amostras avaliadas.

Ao realizar o teste com SPE concentrando uma amostra aleatória da segunda etapa de coleta (3ª semana PA01) em 750 vezes, os resultados indicaram a presença de DEA na ordem de $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$, valor abaixo da capacidade de determinação do método *QuEChERS*. Os demais analitos não foram detectados, neste ponto.

Nesta situação, o SPE foi vantajoso frente ao *QuEChERS* por possuir maior capacidade de concentração da amostra. No entanto, se os estudos com

QuEChERS fossem aplicados em técnicas analíticas mais sensíveis como, LC-MS/MS, pode ser que o fator de concentração alcançado nesse estudo fosse suficiente para a quantificação dos analitos em concentrações inferiores.

7 SUGESTÃO PARA ESTUDOS FUTUROS

- Avaliação de outros materiais adsorventes que permitam melhores recuperações dos analitos;
- Otimizar a combinação ou não do uso de adsorventes no método QuEChERS;
- Conduzir trabalho em paralelo avaliando parâmetros como:
- Determinação simultânea empregando SPE com elevado fator de concentração;
- Utilizar outros detectores, como fluorescência e MS/MS e
- Ampliar o número de analitos a serem analisados nas amostras.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ. **Paraná adota vazio sanitário da soja para evitar proliferação da ferrugem asiática**. Disponível em: <<http://www.agricultura.pr.gov.br/modules/noticias/article.php?storyid=6049>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

_____. **Portaria nº 202, de 19 de julho de 2017**, 2017. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GABINETE/PORTARIAS/2017/202_17.pdf>

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **Resolução nº 724, de 3 de outubro de 2011** Brasil, 2011. Disponível em: <<http://arquivos.ana.gov.br/resolucoes/2011/724-2011.pdf>>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução RE n 899, 29 de maio de 2003**, 2003.

_____. **Cartilha sobre agrotóxicos série trilhas do campo** Brasília, 2011.

_____. **Monografia de agrotóxicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 22 maio. 2016.

ALVES, M. I. R. et al. Avaliação da Contaminação por Pesticidas Organoclorados em Recursos Hídricos do Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 15, n. 1, p. 67–74, 2010.

AMADORI, M. F. et al. Extraction method for the determination of atrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine in agricultural soil using factorial design. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 3, p. 483–491, 2013.

AMADORI, M. F. et al. Behavior of Atrazine and Its Degradation Products Deethylatrazine and Deisopropylatrazine in Oxisol Samples. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 10, 2016.

ANASTASSIADES, M. et al. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the

Determination of Pesticide Residues in Produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412–431, 2003.

ANDRADES, T. O. DE; GANIMI, R. N. REVOLUÇÃO VERDE E A APROPRIAÇÃO. **Revista Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora**, p. 43–56, 2007.

BANDEIRA, D. D. et al. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando o método QuEChERS modificado e GC-MS/MS. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 900–907, 2014.

BARCHANSKA, H. et al. Atrazine, triketone herbicides, and their degradation products in sediment, soil and surface water samples in Poland. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 1, p. 644–658, 2017.

BEDASSA, T.; GURE, A.; MEGERSA, N. Modified QuEChERS Method for the Determination of Multiclass Pesticide Residues in Fruit Samples Utilizing High-Performance Liquid Chromatography. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 8, p. 2020–2027, 2015.

BELENGUER, V. et al. Patterns of presence and concentration of pesticides in fish and waters of the júcar river (eastern Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 265, p. 271–279, 2014.

BENASSI, S. F. et al. **Relatório sobre as microbacias de estudo para o Projeto de Monitoramento de Micropoluentes (Glifosato e Atrazina)**. Foz do Iguaçu: [s.n.].

BRASIL. **Lei n 7.802, de 11 de julho de 1989**. Brasil, 1989.

_____. **Decreto nº 4.074 de 4 de janeiro de 2002**. Brasil, 2002.

BRONDI, S. H. G. et al. Evaluation of the QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis pesticide residues in water and sediment. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, p. 18–22, 2011.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, 2011.

CARMO, D. A. et al. Comportamento ambiental e toxicidade dos herbicidas atrazina e simazina. **Revista Ambiente & Água**, v. 8, n. 1, p. 133–143, 2013.

CARNEIRO, R. P. et al. Development and method validation for determination of 128 pesticides in bananas by modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS analysis. **Food Control**, v. 33, n. 2, p. 413–423, 2013.

CIÉSLIK, E. et al. Evaluation of QuEChERS method for the determination of organochlorine pesticide residues in selected groups of fruits. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 773–778, 2011.

CLAUSEN, L. Retention of pesticides in filter membranes. **Journal of Environmental Quality**, v. 29, n. 2, p. 654–657, 2000.

COELHO, E. R. C.; DI BERNARDO, L. Remoção de atrazina e metabólitos pela filtração lenta com leito de areia e carvão ativado granular. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 17, p. 269–276, 2012.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: [s.n.].

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, C. **Resolução nº 357, 18 de março de 2005. Diário Oficial**, 2005.

D'ARCHIVIO, A. A. et al. Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 71, n. 1, p. 25–30, 2007.

DE GERÓNIMO, E. et al. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. **Chemosphere**, v. 107, p. 423–431, 2014.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; LÓPEZ DE ALDA, M. J.; BARCELÓ, D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 340–351, 2003.

GIROTTO, G. et al. Estrógenos em água: Otimização da extração em fase sólida utilizando ferramentas quimiométricas. **Eletica Quimica**, v. 32, n. 2, p. 61–67, 2007.

GOLGE, O.; KABAK, B. Evaluation of QuEChERS sample preparation and liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry method for the determination of 109 pesticide residues in tomatoes. **Food Chemistry**, v. 176, p. 319–332, 2015.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. et al. Evolution and applications of the QuEChERS method. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 169–185, 2015.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á. et al. Insecticides extraction from banana leaves using a modified QuEChERS method. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 1083–1090, 2011.

HE, Z. et al. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry-based method. **Food Chemistry**, v. 169, p. 372–380, 2015.

HOU, X. et al. A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 1198–1205, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Produtos agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil**. Brasília, 2010. Disponível em:
<<http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/livros/produtosagrotoxicoseafinscomercializadosem2009nobrasildigital.pdf>>

_____. **Relatório de Comercialização de Agrotóxicos**. Disponível em:
<<http://www.ibama.gov.br/phocadownload/qualidadeambiental/relatorios/2016/grafico-consumo-agrototoxicos-2000-2016.pdf>>. Acesso em: 7 maio. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientação Sobre Validação De Métodos Analíticos**., 2010.

_____. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos DOQ-CGCRE-008**, 2016.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Indicadores de desenvolvimento sustentável por bacias hidrográficas do estado do Paraná**. [s.l.: s.n.]. Disponível em:
<http://www.ipardes.gov.br/biblioteca/docs/indicadores_2013.pdf>.

_____. **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável por bacias hidrográficas do estado do Paraná.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.ipardes.pr.gov.br/IDS/index.php/IDS2017/article/view/41/39>>.

KOESUKWIWAT, U.; SANGUANKAEW, K.; LEEPIPATPIBOON, N. Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice. **Food Chemistry**, v. 153, p. 44–51, 2014.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise.** São Carlos: Editora Rima, 2004.

LEHOTAY, S. J.; MASTOVSKÁ, K.; LIGHTFIELD, A. R. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 9, p. 615–629, 2005.

LETSEKA, T.; GEORGE, M. J. Hollow-fibre-supported dispersive liquid-liquid microextraction for determination of atrazine and triclosan in aqueous samples. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 2017, 2017.

LI, W.; LIU, Y.-C.; DUAN, J.-M. Effects of microfiltration membrane adsorption on detection of pesticides in water by direct injection liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2015.

LIZ, M. V. DE et al. Sensitive estrogens determination in wastewater samples by HPLC and fluorescence detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 8, p. 1453–1460, 2017.

LOPES, M. N. T. et al. Validação e aplicação de método para análise de pesticidas em água para consumo humano de Dourados (MS) Por CLAE/UV e CG/DTE. **Ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 21, p. 103–116, 2011.

LÓPEZ DE ALDA, M. J.; BARCELÓ, D. Determination of steroid sex hormones and related synthetic compounds considered as endocrine disrupters in water by liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 892, n. 1–2, p. 391–406, 2000.

ŁOZOWICKA, B.; RUTKOWSKA, E.; JANKOWSKA, M. Influence of QuEChERS modifications on recovery and matrix effect during the multi-residue pesticide analysis in soil by GC/MS/MS and GC/ECD/NPD. **Environmental Science and**

Pollution Research, v. 24, n. 8, p. 7124–7138, 2017.

MILHOME, M. A. L. et al. Avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas aplicados na agricultura do Baixo Jaguaribe, CE. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 363–372, 2009.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, B. **Manual de garantia da qualidade analítica - Resíduos e Contaminantes em Alimentos** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, , 2011.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Agrotóxicos**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos>>. Acesso em: 19 jun. 2017.

MOHAPATRA, S.; LEKHA, S. Residue level and dissipation of carbendazim in/on pomegranate fruits and soil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 7, 2016.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, Sao Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452–1462, 2011.

MOUVET, C.; JÜCKER, C. Influence of various filters on the concentration of pesticides dissolved in water. **Environmental Science and Technology**, v. 31, n. 8, p. 2434–2437, 1997.

NARITA, K. et al. Selecting pesticides for inclusion in drinking water quality guidelines on the basis of detection probability and ranking. **Environment International**, v. 63, p. 114–120, 2014.

OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. [s.l.] ALICE, 2011. p. 263–304.

OSHITA, D.; JARDIM, I. C. S. F. Comparação de métodos por cromatografia líquida na determinação de multiresíduos de agrotóxicos em morangos. **Quimica Nova**, v. 38, n. 10, p. 1273–1281, 2015.

PAYÁ, P. et al. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection.

Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 389, p. 1697–1714, 2007.

PINHEIRO, A. et al. Estudo da Presença de Pesticidas no Perfil do Solo , sob Diferentes Tipos de Culturas. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 14, n. 3, p. 51–59, 2009.

PRATES, C. B.; GEBARA, S. S.; RÉ-POPPI, N. Análise de pesticidas organoclorados em água usando a microextração em fase sólida por headspace com cromatografia gasosa e espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1260–1264, 2011.

PRESTES, O. D. et al. QuEChERS – um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 1620–1634, 2009.

PRIMEL, E. G. et al. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo do arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: Predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 605–609, 2005.

PUBCHEM. **Open Chemistry Data Base**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 20 set. 2017.

REJGZAK, T.; TUZIMSKI, T. QuEChERS-based extraction with dispersive solid phase extraction clean-up using PSA and ZrO₂-based sorbents for determination of pesticides in bovine milk samples by HPLC-DAD. **Food Chemistry**, v. 217, p. 225–233, 2017.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, A. C. A. et al. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do rio São Lourenço-MT: Validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 284–290, 2013.

RIBEIRO, M. L. et al. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 688–694, 2007.

RIDGWAY, K.; LALLJIE, S. P. D.; SMITH, R. M. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. **Journal of**

Chromatography A, v. 1153, p. 36–53, 2007.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, N. et al. Reliable methods for determination of triazine herbicides and their degradation products in seawater and marine sediments using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 7764–7775, 2017.

SILVEIRA, P. L. DA. **Avaliação de técnicas de extração em fase líquida na determinação de micropoluentes em matrizes ambientais**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2017.

SOBHANZADEH, E. et al. A simple and efficient multi-residue method based on QuEChERS for pesticides determination in palm oil by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 9, p. 5821–5828, 2012.

SOUSA, A. S. et al. Estimated Levels of Environmental Contamination and Health Risk Assessment for Herbicides and Insecticides in Surface Water of Ceara, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, n. 1, p. 90–95, 2016.

TETTE, P. A. S. et al. Multiclass method for pesticides quantification in honey by means of modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 211, p. 130–139, 2016.

TUCCI, C. E. M. **Hidrologia: Ciência e aplicação**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS-Faculdade de Agronomia, 2002.

WU, X. et al. Determination of herbicide propisochlor in soil, water and rice by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) method using by UPLC-ESI-MS/MS. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 34, n. 3, p. 917–921, 2013.

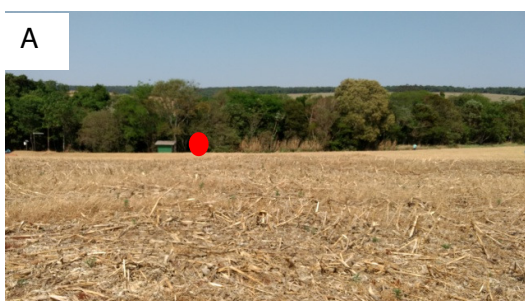
APÊNDICE A – Fotos dos locais de coleta

A seguir serão apresentadas fotos dos pontos de coleta. É possível verificar fotos ilustrando a paisagem, para visualizar o entorno do ponto de coleta (A) e detalhe do local de coleta (B) para cada um dos pontos.

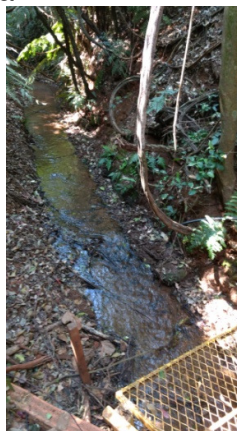
Como os pontos PA01 e PA02 apresentam o mesmo entorno, é apresentada uma foto C, para mostrar a presença de calha Parshall (a qual está presente somente nos pontos PA01 e PA02).

Nota: o símbolo ● foi marcado para identificar, aproximadamente, a localização do ponto de coleta.

PA 01 – Esquina Memória I



B



PA 02 – Esquina Memória II

C



B



PA 03 – Sanga Shangri-lá

A



B

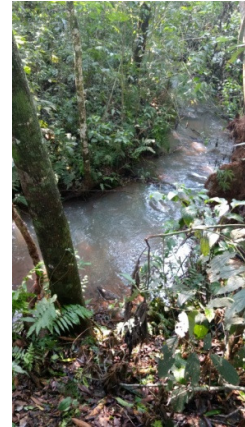


PA 04 – Córrego Água Fria

A



B



PA 05 – Sanga Buriti

A



B



PA 06 – Sanga Pinhal

A

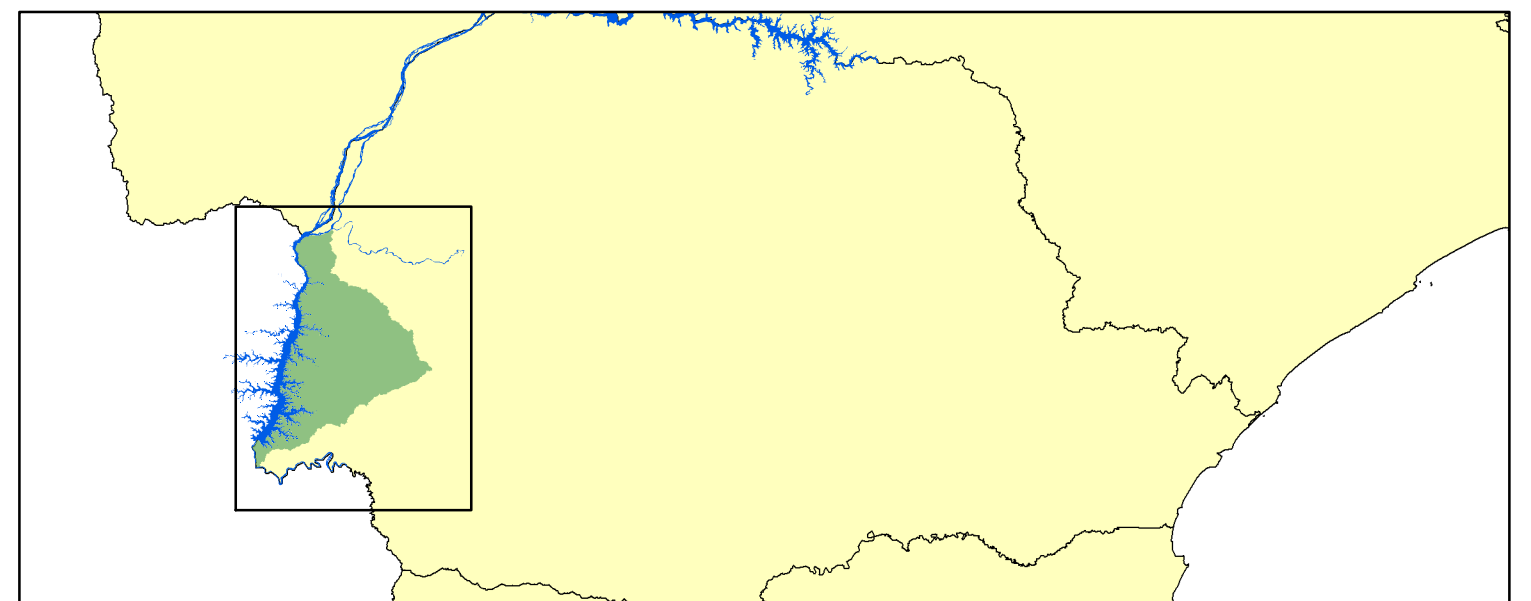
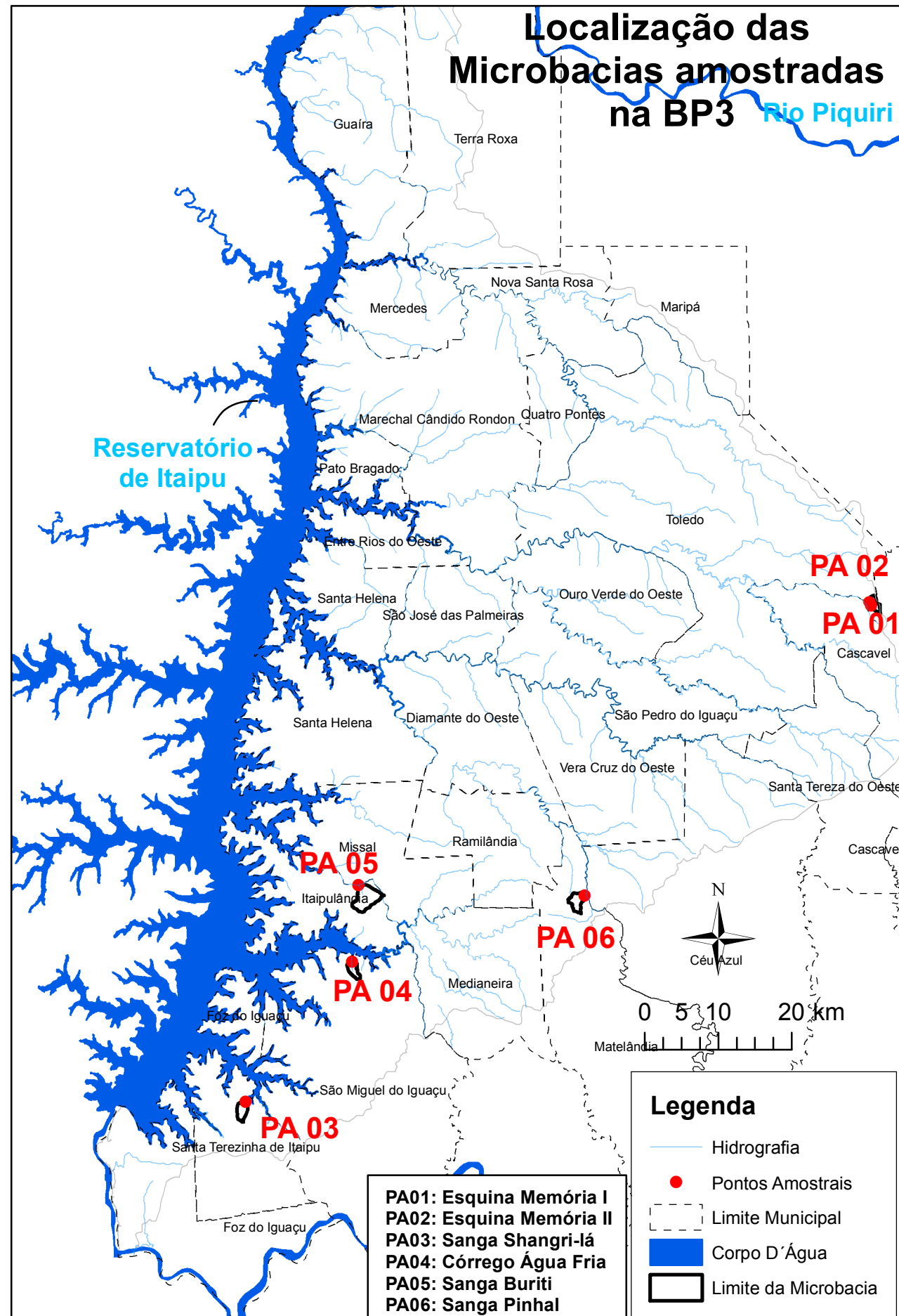


B



APÊNDICE B – Mapa com a localização das microbacias na Bacia Hidrográfica do Paraná 3.

Localização das Microbacias amostradas na BP3



APÊNDICE C – Concentrações das amostras fortificadas, com e sem QuEChERS, para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹, filtradas em membrana de acetato de celulose.

[Fortif.]	Ensaio	ATZ		DIA		DEA		CBZ		
		Com QuEChERS	Sem QuEChERS	Com QuEChERS	Sem QuEChERS	Com QuEChERS	Sem QuEChERS	Com QuEChERS	Sem QuEChERS	
Rio Almada	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	-	-	0,02 ± 0,00	-	0,04 ± 0,00	-	0,02 ± 0,00	-
		RSD (%)	-	-	1,54	-	8,13	-	27,78	-
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,58 ± 0,03	-	0,42 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,52 ± 0,04	0,08 ± 0,00	0,54 ± 0,00	0,31 ± 0,01
		RSD (%)	4,62	-	5,11	12,82	7,70	7,73	0,90	2,22
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,21 ± 0,00	0,09 ± 0,02	1,05 ± 0,02	0,29 ± 0,04	1,24 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,85 ± 0,00	0,63 ± 0,03
		RSD (%)	0,28	28,19	1,91	15,36	2,47	16,20	0,57	4,04
Rio Boicy	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,08 ± 0,01	-	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
		RSD (%)	9,60	-	10,36	19,76	13,68	3,49	10,43	7,92
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,60 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,43 ± 0,05	0,15 ± 0,00	0,54 ± 0,05	0,15 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,36 ± 0,00
		RSD (%)	1,86	59,73	10,46	1,64	8,51	1,23	0,59	0,52
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,26 ± 0,01	0,13 ± 0,02	1,04 ± 0,01	0,34 ± 0,03	1,20 ± 0,06	0,31 ± 0,03	1,01 ± 0,00	0,42 ± 0,00
		RSD (%)	1,05	17,52	1,28	9,61	5,15	9,30	0,28	0,44
PB02	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,06 ± 0,03	-	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,07	0,11 ± 0,00	-
		RSD (%)	47,38	-	18,13	75,32	0,84	9,86	0,40	-
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,57 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,42 ± 0,00	0,14 ± 0,02	0,55 ± 0,01	0,16 ± 0,04	0,65 ± 0,03	0,28 ± 0,02
		RSD (%)	1,12	29,08	1,14	15,20	1,64	22,57	4,29	5,95
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,22 ± 0,04	0,18 ± 0,12	1,01 ± 0,07	0,36 ± 0,26	1,17 ± 0,02	0,35 ± 0,23	1,33 ± 0,08	0,52 ± 0,39
		RSD (%)	2,97	69,98	6,72	71,37	1,42	67,02	5,90	74,55

Nota - com QuEChERS (concentração de 25 x): 5 µg L⁻¹ = 0,125 mg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ = 1,25 mg L⁻¹, 100 µg L⁻¹ = 2,5 mg L⁻¹;

sem QuEChERS (concentração de 12 x): 5 µg L⁻¹ = 0,06 mg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ = 0,6 mg L⁻¹, 100 µg L⁻¹ = 1,2 mg L⁻¹

APÊNDICE D – Concentrações das amostras fortificadas, com e sem QuEChERS, para os rios Almada, Boicy e PB-02, nas concentrações de 5,0 µg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ e 100 µg L⁻¹, filtradas em filtro de fibra de vidro.

[Fortif.]		Ensaio	ATZ		DIA		DEA		CBZ	
			Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>	Com <i>QuEChERS</i>	Sem <i>QuEChERS</i>
Rio Almada	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,07 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01
		RSD (%)	11,19	59,91	10,54	7,46	12,58	23,23	24,90	16,97
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,53 ± 0,14	0,35 ± 0,08	0,62 ± 0,14	0,56 ± 0,14	0,74 ± 0,11	0,60 ± 0,11	0,69 ± 0,01	0,57 ± 0,10
		RSD (%)	26,33	23,99	22,61	24,72	14,40	17,86	1,43	18,25
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,32 ± 0,29	0,89 ± 0,07	1,35 ± 0,05	1,28 ± 0,09	1,48 ± 0,03	1,22 ± 0,11	1,54 ± 0,01	1,45 ± 0,11
		RSD (%)	21,66	7,70	3,46	7,03	2,03	9,27	0,64	7,51
Rio Boicy	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,01
		RSD (%)	25,96	57,25	25,14	14,17	15,38	19,09	19,98	10,95
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,78 ± 0,021	0,54 ± 0,02	0,63 ± 0,09	0,70 ± 0,02	0,75 ± 0,07	0,69 ± 0,01	0,84 ± 0,06	0,79 ± 0,02
		RSD (%)	3,04	3,42	14,19	2,29	8,98	1,91	6,98	2,25
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,54 ± 0,15	0,84 ± 0,16	1,15 ± 0,10	1,24 ± 0,20	1,34 ± 0,11	1,19 ± 0,20	1,26 ± 0,07	1,07 ± 0,19
		RSD (%)	9,78	19,43	8,58	15,91	7,84	16,52	5,56	17,78
PB02	5 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,07 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01
		RSD (%)	11,44	47,56	25,59	11,40	11,79	15,38	10,84	20,95
	50 µg L ⁻¹	Média ±DP	0,80 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,60 ± 0,02	0,33 ± 0,06	0,70 ± 0,05	0,32 ± 0,05	0,70 ± 0,05	0,56 ± 0,07
		RSD (%)	0,93	15,32	2,89	18,43	6,75	6,75	7,15	11,82
	100 µg L ⁻¹	Média ±DP	1,76 ± 0,05	0,64 ± 0,19	1,34 ± 0,12	0,95 ± 0,163	1,53 ± 0,17	0,84 ± 0,16	1,50 ± 0,34	1,20 ± 0,15
		RSD (%)	2,68	29,99	8,89	16,35	11,11	18,84	22,47	12,21

Nota - concentração de 25 x: 5 µg L⁻¹ = 0,125 mg L⁻¹, 50 µg L⁻¹ = 1,25 mg L⁻¹, 100 µg L⁻¹ = 2,5 mg L⁻¹;