



FURG

Dissertação de Mestrado

Determinação de resíduos de agrotóxicos em água para consumo humano
utilizando SPE e quantificação/confirmação por LC-MS quadrupolar simples

Giovani Zandoná

PPGQTA

Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

2019

Determinação de resíduos de agrotóxicos em água para consumo humano utilizando SPE e quantificação/confirmação por LC-MS quadrupolar simples

por

Giovani Zandoná

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química Tecnológica e Ambiental.

PPGQTA

Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

2019

Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

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

**DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA
PARA CONSUMO HUMANO UTILIZANDO SPE E
QUANTIFICAÇÃO/CONFIRMAÇÃO POR LC-MS QUADRUPOLAR
SIMPLES**

Elaborado por

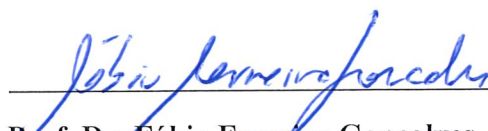
Giovani Zandoná

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica e
Ambiental


Comissão Examinadora



Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins
(Presidente-Orientador)



Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves - FURG



Prof. Dr. Filipe Fagan Donato - Colégio Politécnico/UFSM

Rio Grande, 10 de maio de 2019.

AGRADECIMENTOS

A minha família, pelo incentivo e apoio durante a realização deste projeto. Aos meus pais Aldenir Zandoná (*in memoriam*) e Sara Castoldi Zandoná por acreditar que a educação transformaria a minha vida. Aos meus irmãos Viviane Zandoná Rossetto, e Ricardo Zandoná por sempre estarem ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins, pelos ensinamentos acadêmicos e de vida aos longo desse período. Foste fundamental em minha formação e crescimento como profissional e ser humano. Muito obrigado!

Obrigado á todos os amigos e amigas, em especial Marcia Victória Silveira pelas incontáveis ajudas durante as disciplinas cursadas e também na realização deste trabalho.

Ao laboratório Econsulting por tornar possível a realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Química Tecnológica e Ambiental (PPGQTA), pelos ensinamentos no decorrer do curso.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Geral	16
2.2	Específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	Definição de agrotóxicos	17
3.2	Histórico do uso de agrotóxicos	19
3.3	Classificação dos agrotóxicos	22
3.4	Intoxicações por agrotóxicos no Brasil	24
3.5	Contaminação das águas por agrotóxicos	25
3.6	Definições em relação ao tipos de água	27
3.7	Legislações	28
3.7.1	Legislações no Mundo	28
3.7.2	Legislações no Brasil	28
3.7.3	Portaria RS/SES Nº 320	30
3.7.4	Formas de contaminação humana por agrotóxicos	31
3.7.5	Limites máximos permitidos	34
3.8	Preparo de amostras	35
3.8.1	SPE	36
4	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS	41
4.1	Fonte de ionização por eletronebulização (ESI)	43
4.2	Analisadores de massa	44
4.3	Quadrupolo simples	45
4.4	Técnicas de confirmação para resíduos e contaminantes orgânicos	46
4.4.1	Método SCAN	46
4.4.2	Método SIM	46
5	VALIDAÇÃO	48
5.1	Testes de Proficiência	49
5.2	Ensaio bilateral	49
6	MATERIAIS E MÉTODO	50
6.1	Seleção dos analítos para estudo	50
6.2	Instrumentação	50

6.3	Materiais, solventes, reagentes e sorventes.....	50
6.4	Preparo das soluções analíticas	52
6.4.1	Preparo das soluções analíticas com a mistura dos analitos	52
6.4.2	Fase móvel.....	55
6.4.3	Soluções da Curva de Calibração.....	55
6.4.4	Preparo das fortificações das amostras	55
6.5	Processamento das amostras	57
6.6	Condições operacionais do Sistema LC-MS.....	57
6.7	Padrão Interno e Padrão de Substituição	58
6.8	Plano de Validação	58
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
7.1	Seleção da coluna cromatográfica.	60
7.2	Seleção do sorvente.	61
7.3	Procedimento de extração.....	62
7.4	Determinação por LC-MS	62
7.5	Curva analítica e Linearidade	72
7.6	Efeito matriz	74
7.7	Exatidão e precisão	76
7.8	Precisão Intermediária	84
7.9	Limite de detecção e Limite de Quantificação	89
7.10	Aplicação no Método	90
7.11	Teste bilateral.....	93
8	CONCLUSÕES.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Consumo de agrotóxicos e afins (2000-2017).	21
Figura 2 - Representação esquemática das principais vias responsáveis pelo impacto da contaminação humana por agrotóxicos.....	32
Figura 3 - Estrutura agronegócio no RS.....	33
Figura 4 - Avanço da área plantada e produção de grão no RS	33
Figura 5 - Representação das etapas envolvidas na SPE	37
Figura 6 - Representação processo de eluição/extensão da amostra.....	37
Figura 7 - Componentes do espectrômetro de massas.....	43
Figura 8 - Ionização eletrospray (ESI).....	43
Figura 9 - Evaporação de íons (dessolvatação).....	44
Figura 10 - Representação quadrupolo.....	45
Figura 11 - Etapas do processamento da amostra.....	57
Figura 12 - Cromatogramas individuais e área do pico cromatográfico	65
Figura 13 - Cromatograma e espectro de massa do composto Acefato com energia de fragmentação 90 V e RT 0,98 min.....	66
Figura 14 - Cromatograma e espectro de massa do analito Acefato com energia de fragmentação 200 V e RT 0,98 min.....	66
Figura 15 - Fragmentação acefato com fragmentos m/z 254, 292 e 272.	67
Figura 16 - Cromatograma e espectro de massa do analito Epoxiconazol com energia de fragmentação 150 V e RT 2,7 min.....	67
Figura 17 - Cromatograma e espectro de massa do analito Epoxiconazol com energia de fragmentação 250 V e RT 2,7 min.....	67
Figura 18 - Fragmentação epoxiconazol	68
Figura 19 - Cromatograma e espectro de massa do analito Imidacloprido com energia de fragmentação 90 V e RT 0,97 min.....	69
Figura 20 - Cromatograma e espectro de massa do analito Imidacloprido com energia de fragmentação 150 V e RT 0,97 min.....	69
Figura 21 - Fragmentação imidacloprido	70
Figura 22 - Cromatograma e espectro de massa do analito Tiofanato metílico com energia de fragmentação 150 V e RT 1,26 min	70
Figura 23 - Cromatograma e espectro de massa do analito Tiofanato metílico com energia de fragmentação 250 V e RT 1,26 min.....	71
Figura 24 - Fragmentação tiofanato metílico	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os 10 Agrotóxicos mais vendidos em 2016.	21
Tabela 2 - Classificação dos agrotóxicos quanto a finalidade, modo de ação, persistência e duração do efeito de tratamento.....	22
Tabela 3 - Classificação quanto à toxicidade dos agrotóxicos.	23
Tabela 4 - Agrotóxicos e VMP listados nas portarias ao longo dos anos.....	29
Tabela 5 - Agrotóxicos não pertencentes a Portaria da Consolidação Nº 5.....	31
Tabela 6 - Agrotóxicos e VMP listados na Portaria RS/SES 320	34
Tabela 7 - Aplicações da SPE para a extensão de resíduos de agrotóxicos e outras substâncias químicas em amostras de água.....	39
Tabela 8 - Parâmetros de validação.....	48
Tabela 9 - Agrotóxicos utilizados neste estudo	51
Tabela 10 - Concentrações para cada um dos níveis.	53
Tabela 11 - Volumes de cada nível de concentração para o preparo da mistura de agrotóxicos	53
Tabela 12 - Preparo para a mistura de agrotóxicos	53
Tabela 13 - Preparo da curva de calibração	55
Tabela 14 - Preparo das fortificações.....	56
Tabela 15 - Fortificação das amostras	56
Tabela 16 - Parâmetros e condições do sistema LC-MS	57
Tabela 17 - Gradiente do método.....	58
Tabela 18 - Etapas na extração SPE	62
Tabela 19 - Equação da reta, coeficiente de determinação e faixa linear para cada analito do estudo	72
Tabela 20 - Efeito matriz para os agrotóxicos deste estudo.....	74
Tabela 21 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo A.....	80
Tabela 22 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo B.....	80
Tabela 23 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo C.....	80
Tabela 24 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo D.....	81
Tabela 25 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo E.....	82
Tabela 26 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo F.....	82
Tabela 27 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	85
Tabela 28 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	85

Tabela 29 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	85
Tabela 30 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	86
Tabela 31 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	87
Tabela 32 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária.....	87
Tabela 33 - Limites de detecção e limites de quantificação do método	89
Tabela 34 - Tabela de resultados teste bilateral.....	93

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABRASCO, Associação Brasileira de Saúde Coletiva.

ANA, Agência Nacional de Águas.

ANDEF, Associação Nacional de Defesa Vegetal.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

CLAE, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente.

CRQ, Conselho Regional de Química.

DDT, 1,1'-(2,2,2-Trichloroethane-1,1-diyl)bis(4-chlorobenzene).

DL₅₀, Dose Letal Mediana.

EPI, Equipamento de Proteção Individual.

ESI, Ionização *Eletrospray*.

FIOCRUZ, Fundação Osvaldo Cruz.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde.

HPLC, Cromatografia Líquida de alta eficiência, do *inglês High Performance Liquid Chromatography*.

IBAMA, Instituto Brasileiro do meio Ambiente e dos Produtos Naturais Renováveis.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia.

LC-MS, Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa, do inglês *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry*.

LD, Limite de Detecção, do inglês *Limit of Quantification*.

LMR, Limite Máximo de Resíduo.

LQ, Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Detection*.

MMA, Ministério do Meio Ambiente.

MS, Ministério da Saúde.

m/z, razão massa carga.

OMS, Organização Mundial da Saúde.

PIB, Produto Interno Bruto.

QQQ, Triplo quadrupolo.

r^2 , coeficiente de determinação.

RS, Rio Grande do Sul.

SLPA, Levantamento Sistemático de Produção Agrícola.

SCAN, Monitoramento por Varredura de Íons, do inglês *Scanning*.

SIM, Monitoramento Seletivo de Íons, do inglês *Selected Ion Recording*.

SISAGUA, Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano

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

SQ, Quadrupolo Simples.

V, Voltagem.

VMP, Valor Máximo Permitido.

RMRS, Rede Metrológica do Rio Grande do Sul

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

RESUMO

Título: Determinação de resíduos de agrotóxicos em água para consumo humano utilizando SPE e quantificação/confirmação por LC-MS quadrupolar simples

Autor: Giovani Zandoná

Orientador: Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins

Os agrotóxicos podem afetar a saúde humana pelo contato direto ou indiretamente através da contaminação do meio ambiente. Os riscos de contaminação dependem da forma como as pessoas se relacionam com os perigos existentes e, portanto, são relacionados a condições sociais, culturais e econômicas. Considerando que entre os meses de Janeiro e Maio de 2019, 169 agrotóxicos foram autorizados no Brasil, seu uso tende a se intensificar. Isto pode levar a um aumento na ocorrência de resíduos de agrotóxicos no meio ambiente e, em especial, na água para consumo humano. Este cenário torna importante o esforço científico para criar ferramentas que colaborem no monitoramento e na avaliação dos impactos causados ao meio ambiente. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método analítico para a determinação de resíduos de agrotóxicos listados na Portaria RS/SES 320 em água para consumo humano, utilizando para o preparo da amostra a técnica SPE e determinação por LC-MS. A formação de outros fragmentos iônicos ou adutos, além do íon molecular protonado, através do aumento da energia da fonte de ionização aumenta a seletividade do LC-MS quadrupolar simples, foi explorada no trabalho, tornando os resultados comparáveis com os obtidos com equipamentos mais sofisticados e caros. O método proposto apresentou LODs entre 0,03 e 1,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQs entre 0,10 e 5,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ e com linearidades (r^2) adequadas para as faixas lineares entre 0,025 e 75 $\mu\text{g L}^{-1}$, ajustadas para cada analito. As exatidões avaliadas por meio de amostras fortificadas e expressas em termos de recuperação relativa ficaram entre 70,7 e 119,7%, com precisões (RSD) entre 0,1 e 19,9%, resultados considerados adequados para análises multirresíduos de agrotóxicos. A aplicabilidade do método foi demonstrada através do preparo e determinação de amostras de água para consumo humano durante a rotina de laboratório de análises ambiental.

Palavras-chave: agrotóxicos, LC-MS, água potável.

ABSTRACT

Title: Determination of agrochemical residues in water for human consumption using SPE and quantification / confirmation by single quadrupolar LC-MS

Author: Giovani Zandoná

Advisor: Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins

Pesticides can affect human health through direct contact or indirectly through environmental contamination. Contamination risks depend on how people handle to existing hazards and, therefore, are related to social, cultural and economic conditions. Considering that, between the months of January and May 2019, 169 agrochemicals were authorized in Brazil, their use tends to intensify. This may lead to an increase in the occurrence of pesticide residues in the environment and, in particular, in drinking water. This scenario makes important the scientific efforts to create tools that can collaborate in the monitoring and the evaluation of the impacts caused to the environment. The aim of this work was to develop and validate an analytical method for the determination of residues of pesticides listed in Ordinance RS / SES 320 in water for human consumption, using the SPE to prepare the sample and determination by LC-MS. The formation of other ionic fragments or adducts, in addition to the protonated molecular ion, by alternating the energy of the ionization source (ESI) increases the selectivity of single quadrupole LC-MS, was explored in the work, making the results comparable to those obtained with more sophisticated and expensive equipment's. The proposed method presented LODs between 0.03 and 1.67 $\mu\text{g L}^{-1}$ and LOQs between 0.10 and 5.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ and with linearities (r^2) suitable for linear ranges between 0.025 and 75 $\mu\text{g L}^{-1}$, adjusted for each analyte. Accuracies assessed through fortified samples and expressed in terms of relative recoveries ranged between 70.7 and 119.7%, with precisions (RSD) between 0.1 and 19.9%, results considered adequate for multi-residue determination. The applicability of the method was demonstrated by the preparation and determination of water samples for human consumption during the laboratory routine of environmental analysis.

Keywords: pesticides, LC-MS, drinking water.

1 INTRODUÇÃO

A estimativa para safra de grãos em 2019 no Brasil é de 230,1 milhões de toneladas. Os dados são do Levantamento Sistemático de Produção Agrícola, SLPA, divulgados pelo Instituto Brasileiro de geografia e Estatística, IBGE. A previsão é de que esta seja a segunda maior da série histórica do levantamento (IBGE, 2019).

O crescimento da agricultura no Brasil está relacionado ao aumento da quantidade de agrotóxicos utilizados na produção. A utilização de mão de obra tem apresentado tendência decrescente ao longo dos anos, já a quantidade de capital e de terra tem aumentado. Os avanços tecnológicos dos meios de produção agrícola refletem em processos cada vez mais automatizados aumentando consideravelmente a produtividade nas lavouras brasileiras (GASQUES; BASTOS; BACCHI, 2008).

A saúde humana pode ser afetada pelos agrotóxicos diretamente através do contato com os mesmos ou através do contato com produtos e/ou ambientes por estes contaminados. A possibilidade de exposição aos agrotóxicos também pode ocorrer de forma indireta, através da contaminação da biota e da flora de áreas próximas a plantações agrícolas.

Os riscos de contaminação estão diretamente ligados a forma com que as pessoas se relacionam com os perigos existentes e estão relacionados a condições sociais, culturais e econômicas. A falta de acesso à informações sobre uso correto e seguro dos agrotóxicos causam danos a população, contribuindo para o aumento do número de casos de intoxicações (PERES *et al.*, 2005).

Entre os efeitos ambientais mais graves do uso de agrotóxicos, está à contaminação de água potável, recebendo cada vez mais atenção da opinião pública e da comunidade acadêmica, à medida que aparecem evidências sobre a ocorrência de contaminação das águas subterrâneas (VALE *et al.*, 2015).

A água, cujo consumo é diário e ocorre de forma constante durante toda a vida, é uma via importante a considerar, mesmo que contenha baixas concentrações de agrotóxicos.

O controle dos níveis de contaminação de agrotóxicos nas matrizes ambientais é importante para saúde pública. Através de métodos analíticos multirresíduos de agrotóxicos é possível detectar e quantificar a presença no meio ambiente, possibilitando tomar medidas que eliminem ou controlem a contaminação (LIMA BOHNER; ARAÚJO; NISHIJIMA, 2013).

Na química analítica, o controle e a qualidade do processo de preparo de amostra são fundamentais para a certificação e validação de um método. Por este motivo, métodos de preparo de amostra tem sido o foco de inúmeros trabalhos que buscam aperfeiçoar metodologias de extração de amostras ambientais (GARCIA; FILHO, 2015).

Neste sentido, a utilização da extração em fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) diminui o tempo de análise e a utilização de solventes, não forma emulsões, promove o enriquecimento de traços e apresenta alto potencial para automatização (DOS SANTOS NETO; DE SIQUEIRA, 2005). Assim como a cromatografia Líquida, (LC, do inglês *Liquid Chromatography*), técnica utilizada para as separações em química ambiental de constituintes de matrizes complexas garantindo alta seletividade, eficiência de separação e detectabilidade (DA SILVA; COLLINS, 2011).

A combinação da cromatografia líquida com o sistema de detecção por espectrometria de massas (LC-MS, do inglês *LiquidChromatography-Mass Spectrometry*) soma às vantagens da cromatografia obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade (DA SILVA; COLLINS, 2011).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água para consumo humano, utilizando para o preparo da amostra a técnica SPE e determinação por LC-MS do tipo quadrupolo simples e demonstrar a possibilidade de confirmação dos compostos por fragmentos iônicos gerados através do aumento da energia da fonte de ionização. A aplicabilidade do método foi demonstrada através do preparo e determinação de amostras de rotina de laboratório ambiental.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Desenvolver um método multirresíduo de agrotóxico em água potável.

2.2 Específicos

- Implementar um procedimento de preparo da amostra por SPE;
- Desenvolver um método analítico por LC-MS capaz determinar resíduos de agrotóxicos nos extratos obtidos;
- Demonstrar a capacidade do espectrômetro de massas tipo quadrupolo simples de gerar íons de confirmação para os compostos de interesse;
- Validar o procedimento de determinação por SPE e LC-MS proposto;
- Aplicar o método validado em amostras reais de água para consumo humano em laboratório ambiental.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Definição de agrotóxicos

A Lei dos Agrotóxicos, Nº 7802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto Nº 4074/2002 define termo 'agrotóxicos' como sendo:

Os produtos e os 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 também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989a).

Para (MOREIRA *et al.*, 2003), agrotóxico é um nome genérico para uma variedade de agentes que podem ser classificados com base de uso, no organismo alvo na estrutura química, no mecanismo de ação e na toxicidade, sendo esta última recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Agrotóxico é o termo legal, no entanto, termos como pesticida, praguicida e defensivo agrícola também são utilizados. A palavra está associada ao setor que a emprega: empresas de agrotóxicos preferem utilizar o termo defensivo agrícola uma vez que seus produtos são utilizados com o objetivo de proteger a produção agrícola. A ANVISA utiliza o termo "agrotóxico", pois traduz bem os riscos potenciais do produto e alerta a população. O termo praguicida é derivado de *plaguicidas*, de origem espanhola, que tem como equivalente o termo *pesticide* utilizado em países de língua inglesa (ANVISA, 2018a).

A utilização do termo "defensivos agrícolas" é criticada por muitos autores no meio acadêmico e instituições ligadas à química e ao meio ambiente. O Conselho Regional de Química da terceira Região (CRQ III), emitiu o seguinte informativo a respeito desta denominação.

O termo defensivo agrícola carrega uma conotação errônea de que as plantas são completamente vulneráveis a pragas e doenças, e esconde os efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente. O termo agrotóxico é mais ético, honesto e esclarecedor, tanto para os agricultores como para os consumidores (Informativo CRQ III, 1997).

Ainda, segundo o mesmo informativo, este tipo de denominação favorece aos interesses do capital estrangeiro das grandes multinacionais produtoras de agrotóxicos que criam desta forma mecanismos que corroboram com a necessidade de utilização de seus produtos.

No dossiê da Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), os autores alertam para o conflito de interesses do agronegócio na educação e saúde públicas.

Várias são as iniciativas do agronegócio de interferência no processo educacional dos brasileiros para fomentar suas ideias de acordo com seu projeto de sociedade. Trata-se de uma estratégia de classe. O tema dos agrotóxicos, apresentado propositalmente como “defensivos agrícolas”, está entre os mais tratados nessas experiências, cuja estratégia central é difundir que o uso seguro de agrotóxicos é possível e depende do usuário. As iniciativas em curso contam com conivência e incentivo do Estado brasileiro. A atuação de algumas organizações do agronegócio, a exemplo da Associação Nacional de Defesa Vegetal (Andef) e da Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), tem impacto massivo e nacional, mas há também organizações cuja atuação tem impacto regional ou local (CARNEIRO *et al.*, 2015).

Com objetivo facilitar o ambiente de negócios com o poder público, afirma o Senador Álvaro Dias criador do projeto de Lei 6299/2002 (AGRONEGÓCIO, 2018). Uma das alterações refere-se a substituição o termo científico utilizado “agrotóxico” que é bastante claro para outros termos como moléculas, produtos químicos ou produtos fitossanitário. Relativizar o termo científico utilizado “agrotóxico” que é bastante claro para outros termos pode interferir na interpretação da população quanto aos danos causados á saúde e ao meio ambiente.

3.2 Histórico do uso de agrotóxicos

A prática da agricultura começou há aproximadamente 10.000 anos na Mesopotâmia, onde sementes comestíveis foram recolhidas por coletores. Após a domesticação do cultivo, não demorou muito para aparecerem as pragas e doenças causando grande perda na produção. O primeiro registro do uso de agrotóxicos remete há 4500 anos por Sumérios que usavam compostos de enxofre para controlar insetos e ácaros. Os Chineses, 3200 anos atrás, usaram compostos a base de arsênio e mercúrio para eliminar piolhos do corpo (OLIVEIRA, 2010).

Com a obra: “A Primavera Silenciosa”, Rachel Carson deu início ao debate a cerca dos efeitos adversos da utilização dos agrotóxicos. Na obra, publicada em 1962, a autora alertava sobre o uso inconsciente de produtos sem estudos que comprovassem seus efeitos na natureza. A autora fazia referência ao DDT (primeiro agrotóxico moderno, sendo largamente utilizado durante e após a Segunda Guerra Mundial para o combate de doenças como a dengue e a malária) (CARSON, 1962). A partir de então, o debate sobre agrotóxicos se intensificou no meio político e nas universidades, resultando em diversas pesquisas e estudos e tornado público o debate sobre agrotóxicos.

No Brasil, o período entre 1945 e 1985, com a modernização da agricultura nacional e a instalação de indústrias de agrotóxicos no país, foi o período no qual o mercado se desenvolveu. Com o interesse dos fabricantes e o apoio do governo em relação ao fomento da agricultura, o Brasil sempre se manteve no topo dos países que mais consomem agrotóxicos no mundo (OLIVEIRA, 2010).

Para os autores (BAESSO *et al.*, 2014) avaliar as pulverizações agrícolas é fundamental, para obter resultados satisfatórios e o aperfeiçoamento de novas tecnologias. Com isso aumenta-se a eficácia do controle e há menor contaminação ao meio ambiente, pessoas e animais. No entanto, na prática, o que fica claro é a desinformação sobre a aplicabilidade do produto e seus riscos.

Devido ao desconforto térmico provocado pelo equipamento de proteção individual (EPI), é comum observar trabalhadores rurais não os utilizando durante a pulverização dos agrotóxicos. Os pesquisadores alertam sobre a

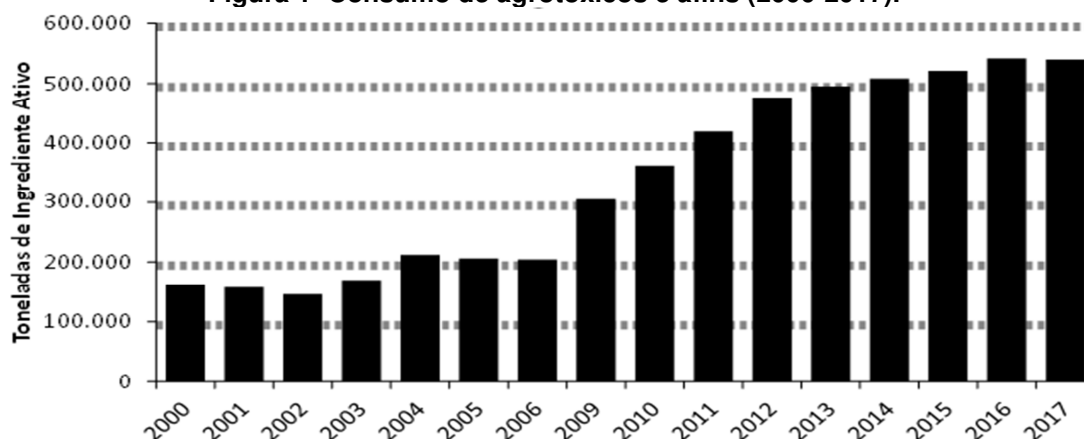
necessidade de novas tecnologias, nas quais sejam desenvolvidos materiais específicos para cada etapa do processo de trabalho, garantindo mais segurança ao agricultor (MOTTA VEIGA; ALMEIDA; DUARTE, 2016).

Cada agrotóxico deve ser utilizado conforme monografias autorizadas e divulgadas pela Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA). São resultados da avaliação e reavaliação toxicológicas dos ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, em ambientes aquáticos e como preservante de madeira. Fornecem os nomes comuns e químicos dos produtos além de classificações de uso e toxicológicas, e as culturas para quais os ingredientes ativos encontram-se autorizadas e seus respectivos limites máximos de resíduo (ANVISA, 2018a).

Cabe ao Ministério do Meio Ambiente (MMA), de acordo com o Decreto nº 4074/2002 (BRASIL, 2002), realizar a avaliação ambiental dos agrotóxicos, seus componentes e afins, estabelecendo suas classificações quanto ao potencial de periculosidade ambiental. Por meio do inciso IX, Artigo 1º do Decreto nº 6.099/07, foi delegada ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) – autarquia federal vinculada ao MMA a competência para realizar a análise, registro e controle de agrotóxicos, seus componentes e afins.

O boletim anual sobre produção, importação, exportação e vendas de produtos agrotóxicos no Brasil, elaborado IBAMA, tem como base os dados contidos nos relatórios semestrais apresentados pelas empresas detentoras de registro de produtos agrotóxicos e afins, exigidos pelo art. 41 do Decreto nº 4.074 de 2002.

A Figura 1 apresenta o crescimento do consumo de agrotóxicos e afins no Brasil entre os anos 2000 e 2017. A média de consumo foi de aproximadamente 200.000 toneladas/ano no período entre 2000 e 2006.

Figura 1- Consumo de agrotóxicos e afins (2000-2017).

Fonte: IBAMA: Consolidação de dados fornecidos pelas empresas detentoras de registro de produtos técnicos, agrotóxicos e afins, conforme art. 41 do Decreto 4.074/2002.

A partir de 2009 comparando ao ano de 2016, o consumo teve um aumento de 83%, passando de 300.000 toneladas em 2009 para 550.000 toneladas em 2016.

Considerando o ano de 2016, a Tabela 1 apresenta Glifosato e seus sais como o agrotóxico mais consumido, em um total de 185.602,22 toneladas. Em 2º e 3º lugares ficaram 2,4-D com 53.374,41 toneladas e Mancozebe, com 33.232,94 toneladas, respectivamente.

Tabela 1 - Os 10 Agrotóxicos mais vendidos em 2016.

Ranking	Agrotóxico	Vendas (toneladas/Ano)
1º	Glifosato e seus sais	185.602,22
2º	2,4-D	53.374,41
3º	Mancozebe	33.232,94
4º	Atrazina	28.615,70
5º	Óleo mineral	27.801,09
6º	Acefato	24.858,68
7º	Óleo vegetal	17.259,26
8º	Carbendazim	13.364,67
9º	Dicloreto de paraquate	11.638,19
10º	Imidacloprido	9.165,97

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

3.3 Classificação dos agrotóxicos

Há muitas formas de classificar os agrotóxicos, entre elas: finalidade, modo de ação, persistência, duração do efeito de tratamento, toxicidade, origem e grupo químico (BRASIL, 2018).

Tabela 2 - Classificação dos agrotóxicos quanto a finalidade, modo de ação, persistência e duração do efeito de tratamento

Quanto à finalidade	
Inseticida	Inseticida: Combate aos insetos
Fungicidas	Fungicidas: Combate aos fungos
Herbicidas	Herbicidas: Combate às plantas daninhas
Acaricidas	Acaricidas: Combate aos ácaros
Bactericidas	Bactericidas: Combate as bactérias
Quanto ao modo de ação	
Contato	Resultante da absorção pelo tegumento através de borrifações diretas do agrotóxico ao organismo alvo.
Ingestão	Penetração através de via oral do agrotóxico no organismo alvo.
Fumegante	Através do vapor, o agrotóxico atinge as vias respiratórias do organismo alvo.
Quanto à persistência	
Curta	Até 90 dias
Média	De 91 a 190 dias
Longa	Maior que 180 dias
Quanto à duração do efeito de tratamento	
Efeito residual	O agrotóxico permanece em dosagens letais para o organismo alvo no ambiente (semanas/meses).
Efeito instantâneo	Efeito imediato sobre o organismo alvo logo após a aplicação do agrotóxico.

Fonte: (ANVISA, 2005).

Conforme Decreto Nº 4074/02 (BRASIL, 1989b), a classificação dos agrotóxicos, considera prioritariamente os parâmetros toxicidade, persistência no ambiente, bioacumulação, forma de apresentação e método de aplicação.

A classificação quanto à toxicidade aguda dos agrotóxicos é definida pela ANVISA, órgão de controle do ministério da Saúde, de acordo com a Tabela 3.

Tabela 3 - Classificação quanto à toxicidade dos agrotóxicos.

Classe Toxicológica	Toxicidade	DL50 (mg kg ⁻¹)	Faixa colorida	Dosagem capaz de matar um adulto
I	extremamente tóxico	0-5	Vermelha	Algumas gotas
II	altamente tóxico	5-50	Amarela	Algumas gotas/1 colher de chá
III	mediamente tóxico	50-500	Azul	1 colher de chá/2 colheres de sopa
IV	pouco tóxico	> 500	Verde	2 colheres de sopa/1 copo

Fonte: (BRASIL, 2018).

A Dose Letal 50% (DL50), que é definida como a quantidade (dose única) da substância necessária para matar 50% dos animais testados nas condições experimentais utilizadas. Esta medida varia muito com o tipo de composto (MARTEL, 2013).

Dentre as classificações quanto a natureza química dos agrotóxicos, de forma geral, eles podem ser classificados como:

- Inorgânicos: devido à presença de metais, são estáveis e de longas persistências no meio ambiente. Possuem toxicidade alta e não possuem antídotos.
- Orgânicos: denominados devido à presença do átomo de carbono em suas fórmulas, representam a maioria dos agrotóxicos em uso.

Os agrotóxicos orgânicos, ainda podem ser subclassificados de acordo com a natureza dos compostos químicos presentes em sua composição, como organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretróides.

3.4 Intoxicações por agrotóxicos no Brasil

A partir da revolução verde na década de 1950, a produção agrícola sofreu mudanças significativas, desenvolvendo novas tecnologias a fim de aumentar a produção. Paralelo á essas tecnologias, o uso de agrotóxicos tem crescido com a finalidade de controlar doenças e pragas aumentando a produtividade (MMA, 2018).

Desde 2008, o Brasil ocupa o lugar de maior consumidor de agrotóxicos no mundo. Os impactos na saúde pública são amplos e atingem vastos territórios e envolvem diferentes grupos populacionais, como trabalhadores em diversos ramos de atividades, moradores do entorno de fabricas e fazendas, além dos consumidores de alimentos potencialmente contaminados (CARNEIRO *et al.*, 2015).

Segundo dados do Dossiê da Associação Brasileira da Saúde coletiva (ABRASCO) o Brasil consome, em média, cerca de 7 litros per capita a cada ano, resultando em mais de 70 mil intoxicações agudas e crônicas em igual período. Consumidor de 20% da produção mundial de agrotóxicos, o país carece de leis e fiscalizações ativas para de controlar de maneira efetiva a utilização dos agrotóxicos.

Dos inúmeros riscos causados para a saúde humana pelos agrotóxicos, o mais evidente é a intoxicação aguda. Estas intoxicações estão relacionadas a tentativas de suicídio e/ou acidentes pessoais/coletivos, pois resulta na alteração do estado geral da pessoa, com um quadro clínico para cada tipo específico de produto. As exposições em longo prazo, com doses relativamente pequenas, por exposição crônica ou pela ingestão de alimentos podem provocar anomalias da gravidez, infertilidade, câncer entre outros (ABRASCO, 2008).

Os resultados de um estudo sobre a contaminação de crianças por carbamatos na cidade de Fortaleza, no estado do Ceará, revelaram que de um total de 65 crianças, na faixa etária de 1-3 anos 52,3% estavam contaminadas. Já para a faixa etária de 4-5 anos o índice foi de 18,47% (BRASIL, 2018).

Ainda, dados da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e do Ministério da Saúde revelam o crescimento do número de mortes por intoxicações

envolvendo agrotóxicos no Brasil. Em 2017 foram registrados 4.003 casos de intoxicação por exposição de agrotóxicos em todo país (FIOCRUZ, 2018).

3.5 Contaminação das águas por agrotóxicos

Frente ao crescimento populacional e disseminação da agricultura moderna, a busca por recursos hídricos se intensifica. Por outro lado, a poluição e o uso não sustentável e consciente provocam a diminuição da qualidade desse recurso fornecido pela natureza. Mas nem toda água existente no Planeta é própria para o consumo, portanto há a necessidade de controle quanto sua qualidade e utilização (BARROS; AMIN, 2008).

A maioria dos contaminantes químicos presentes em águas subterrâneas e superficiais está relacionada às fontes industriais e agrícolas. A variedade é enorme, com destaque para os agrotóxicos, compostos orgânicos voláteis e metais (HU; KIM, 1994).

Para garantir ampla proteção ambiental é necessário manter, no mínimo, os parâmetros de qualidade da água dentro de limites preestabelecidos por órgãos brasileiros e internacionais de proteção ambiental (COUNCIL; THE; UNION, 1998).

O impacto da atividade humana sobre um território pode ser facilmente avaliado através do diagnóstico da qualidade das águas superficiais. Neste sentido, a avaliação de parâmetros como carga de sedimentos e de organismos, metais pesados, fósforo e de agrotóxicos em águas auxilia na determinação do nível de poluição, subsidiando a sua identificação e origem, permitindo a elaboração de estratégias adequadas de manejo (BORTOLUZZI; ZANELLA, 2006).

Os agrotóxicos podem contaminar o solo, o ar, as águas superficiais e subterrâneas e causam problemas à saúde do homem, seja através da exposição direta (manuseio dos produtos) ou indireta (resíduos em alimentos e água) (LIMA; SOUZA; FIGUEIREDO, 2016).

A maioria dos contaminantes químicos presentes em águas subterrâneas e superficiais está relacionada às fontes industriais e agrícolas. Alguns exemplos disso são os despejos ilegais de efluentes contaminados por

indústrias químicas diretamente nos leitos de rios e pulverizações aéreas de lavouras. Em 2015, um avião foi flagrado realizando aplicação de agrotóxicos em uma lavoura próxima a Área de Proteção Ambiental do Banhado Grande, entre Glorinha e Viamão, na Região Metropolitana de Porto Alegre, no estado do Rio Grande do Sul, provocando dano ambiental gravíssimo em uma área de preservação permanente (ABRASCO, 2015).

Os agrotóxicos assumem caráter destacado enquanto contaminantes pela intensidade e, não raro, indiscriminação que caracterizam seu consumo no país. Sua presença nos mananciais pode trazer dificuldades para o tratamento da água em virtude da eventual necessidade de tecnologias mais complexas do que aquelas normalmente usadas para a potabilização (NETO; SARCINELLI, 2004).

Estudo realizado no noroeste da Eslovênia, onde existe intensa atividade agrícola, detectou a presença dos agrotóxicos atrazina, dextil atrazina e 2,6-diclorobenzamida acima dos limites especificados pela UE de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de água potável (GRMEK-KOŠNIK *et al.*, 2006).

Moreira *et al.*, (2012) após estudo em água potável na cidade de Campo Verde no estado de Mato Grosso, confirmaram a presença dos agrotóxicos atrazina, clorpirifós, endosulfan, flutriafol, malation e metolaclo em 50% das amostras analisadas com concentrações que variaram entre $0,18 \mu\text{g L}^{-1}$ e $19,96 \mu\text{g L}^{-1}$ (GRMEK-KOŠNIK *et al.*, 2006).

Grutzmacher *et al.*, (2008) realizaram um monitoramento de agrotóxicos em mananciais hídricos do Sul do Brasil, identificando com mais frequência resíduos de carbofurano e quinclorac, seguidos de clomazone e fipronil. As concentrações encontradas variaram entre $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $14,99 \mu\text{g L}^{-1}$ (GRÜTZMACHER *et al.*, 2008).

A avaliação da presença de agrotóxicos na água da região de Pará de Minas no estado de Minas Gerais detectou a presença de carbofuran na concentração de $0,07 \mu\text{g L}^{-1}$ e de metomil, $1,38 \mu\text{g L}^{-1}$. As amostras foram coletadas nas bacias dos Rios Paciência e Rio Bom sucesso do município (PARREIRA *et al.*, 2001).

Sultana *et al.*, (2018), após estudo em água potável no Sul de Ontário no Canadá, detectaram a presença acima do limite estabelecido pela União europeia, $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para o compostos tiametoxan (SULTANA *et al.*, 2018).

Em um estudo de 14 herbicidas e 6 acaricidas em água potável realizado na China, os autores detectaram em 100% das amostras analisadas os agrotóxicos dicofol, cipermetrina e lambda cialotrina. Para a soma dos agrotóxicos detectados a variação obtida foi entre $37,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2.948,9 \mu\text{g L}^{-1}$ (FENG *et al.*, 2016).

Lehmann *et al.*, (2017), avaliaram a presença de 13 agrotóxicos em água potável em áreas de jardinagem em Burkina Faso, localizada na África Ocidental. Carbofuran e cipermetrina foram detectados em concentrações que variaram entre $0,0018 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,8939 \mu\text{g L}^{-1}$ (LEHMANN *et al.*, 2017).

No entanto, o problema de contaminação da água por resíduos de agrotóxicos não é uma realidade apenas do Brasil. Países desenvolvidos da Europa e Estados Unidos tem combatido fortemente o uso indiscriminado de agrotóxicos. Através de legislações rigorosas, fiscalizações e políticas públicas a população é informada e conscientizada sobre os riscos da utilização dos agrotóxicos. As indústrias produtoras desses agrotóxicos devem garantir a segurança na comercialização, uso e destinação final das embalagens de seus produtos.

3.6 Definições em relação aos tipos de água

Existem diversas matrizes de águas a depender de suas características físicas químicas, da forma de obtenção e dos usos pretendidos:

Águas superficiais: não penetram no solo, acumulam-se na superfície, escoam e dão origem a rios, lagos, riachos, lagoas e córregos. São consideradas umas das principais fontes de água potável para o planeta.

Água tratada é originária de uma estação de tratamento, onde são realizados processos para eliminação de possíveis agentes contaminantes, como poluentes, microorganismos e impurezas.

Água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido pela Portaria de Consolidação N^o5/2017 do Ministério da saúde e que não ofereça riscos à saúde humana é classificada como **água potável**.

Já para quando o uso pretendido da água é a ingestão, preparação e produção de alimentos e a higiene pessoal, independentemente da sua origem, esta é classificada como **água para consumo humano** (BRASIL, 2018).

3.7 Legislações

3.7.1 Legislações no Mundo

Na União Européia, os monitoramentos dos agrotóxicos utilizados interna e externamente são realizados por laboratórios capacitados, que atendem a um programa específico para inspecionar o Limite Máximo de Resíduo (LMR) para cada agrotóxico. Nos Estados Unidos, o órgão responsável pela definição desses limites é a *Environmental Protection Agency*, (EPA) (UNISINOS, 2017).

À medida que ocorrem avanços no controle da poluição da água de uso doméstico e industrial, a atenção se volta para a redução da quantidade de água utilizada na agricultura, e isto só é possível por meio de uma integração maior entre das políticas agrícola e ambiental (REBOUÇAS, 2001).

A Comunidade Econômica Européia estabeleceu, por meio da COUNCIL DIRECTIVE (1980) em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração máxima admissível de qualquer agrotóxico em águas destinadas para consumo humano e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para o total de resíduos, sem deixar claro se deve, ou não, considerar também produtos de transformação. Por outro lado, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) e a Organização Mundial da Saúde estabelecem níveis máximos para agrotóxicos individuais em água destinada ao consumo humano, baseados em estudos toxicológicos e epidemiológicos (DORES; DELAMONICA-FREIRE, 2001).

3.7.2 Legislações no Brasil

O Ministério da Saúde MS, por meio da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA), promoveu ao longo do ano 2000 atualizações de Normas de Controles e Vigilância da qualidade da água para consumo humano,

publicando a Portaria nº 1469. Nesta portaria, foram determinados procedimentos e definidas responsabilidades em relação á qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Em 2003, institui-se a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, (SVS/MS) e, em virtude do novo ordenamento do Ministério da Saúde, a Portaria MS 1469/2000 foi revogada passando a vigorar a Portaria nº 518/2004. Apenas definições relacionadas a competências da Funasa para a SVS e prorrogação de prazos para que órgãos e instituições de controle ambiental se adequassem e cumprissem aos novos quesitos da portaria sofreram alteração (BRASIL, 2004).

Em outubro de 2017 foi publicado a Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, que através do Art. 864, inciso CXXXIII, revogou a Portaria nº 2914/2011 a qual dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, estabelecendo os parâmetros que devem ser avaliados. Essa revogação foi feita através de uma consolidação conforme determinou a Lei Complementar nº95/1998, no entanto, nenhum parâmetro ou limite máximo permitido foi alterado, conforme pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4 - Agrotóxicos e VMP listados nas portarias ao longo dos anos.

Agrotóxicos	Portaria / Ano			
	1469 /2000	518 /2004	2914 /2011	05 /2017
2,4-D	30	30	30	30
Alacloro	20	20,0	20	20
Aldicarbe + Aldicarbe sulfóxido + Adicarbessulfona	-	-	10	10
Aldrin + Dieldrin	0,03	0,03	0,03	0,03
Atrazina	2	2	2	2
Bentazona	300	300	-	-
Carbendazim + Benomil	-	-	120	120
Carbofurano	-	-	7	7
Clordano (cis+trans)	0,2	0,2	0,2	0,2
Clorpirifós + Clorpirifósoxon	-	-	30	30
DDT (isômeros)	2	2	1	1
Diuron	-	-	90	90
Endosulfan	20	20	20	20
Endrin	0,6	0,6	0,6	0,6
Glifosato	500	500	500	500
Heptacloro + heptacloroepóxido	0,03	0,03	-	-
Hexaclorobenzeno	1	1	-	-
Lindano (g-BHC)	2	2	2	2
Mancozebe	-	-	180	180
Metamidofós	-	-	12	12

Agrotóxicos	Portaria / Ano			
	1469 /2000	518 /2004	2914 /2011	05 /2017
Metolacoloro	10	10	10	10
Metoxicloro	20	20	-	-
Molinato	6	6	6	6
Parationa metílica	-	-	9	9
Pendimetalina	20	20	20	20
Pentaclorofenol	9	9	-	-
Permetrina	20	20	20	20
Profenofós	-	-	60	60
Propanil	20	20	-	-
Simazina	2	2	2	2
Tebuconazol	-	-	180	180
Terbufós	-	-	1,2	1,2
Trifluralina	20	20	20	20

Fonte:(BRASIL, 2000) (BRASIL, 2017).

3.7.3 Portaria RS/SES Nº 320

A Portaria RS/SES Nº 320 de 24/04/2014, foi estabelecida no Rio Grande do Sul pela Secretaria de Estado da Saúde. O Órgão entende que o estado possui características climáticas e de solo específicas e também possui grande importância econômica relacionada a agricultura, portanto surge a necessidade de estabelecer parâmetros adicionais e específicos de agrotóxicos a fim de aumentar a rigidez no controle e vigilância para da água de consumo humano no RS (BRASIL, 2014).

A norma, inédita no Brasil, determina que os serviços de abastecimento de água passem a analisar a presença de resíduos de outros agrotóxicos, além dos estabelecidos no anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5/2017, do Ministério da Saúde. Dessa forma, novos parâmetros são adicionados ao padrão de potabilidade para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no Estado do Rio grande do Sul (SUL, 2014).

Considerando como variáveis as principais características físico-químicas e o volume total utilizado, Garibotti e colaboradores (2011) avaliaram os agrotóxicos utilizados nas culturas do Rio Grande do Sul, identificando o risco à saúde humana. A partir da avaliação dos dados obtidos, foi calculado um valor que representa este risco, definido como “criticidade”. Entre os 10

agrotóxicos mais críticos, apresentado na Tabela 5, foi observado pelos pesquisadores que alguns não faziam parte da listagem da Portaria nº 2914/2011 e, portanto, não eram analisados pelas companhias de abastecimento de água (GARIBOTTI *et al.*, 2011). De maneira semelhante, foram definidos os demais parâmetros incluídos na RS/SES Nº 320.

Tabela 5 - Agrotóxicos mais críticos para o Estado do Rio Grande do Sul

Agrotóxico	Criticidade (R)
Glifosato	560
Acefato	323
Difenoconazole	228
Metamidofós	236
Metalaxil-m	182
Cipermetrina	162
Diflubenzuron	162
Folpet	124
Tiofanatometilico	124
Carbofurano	139

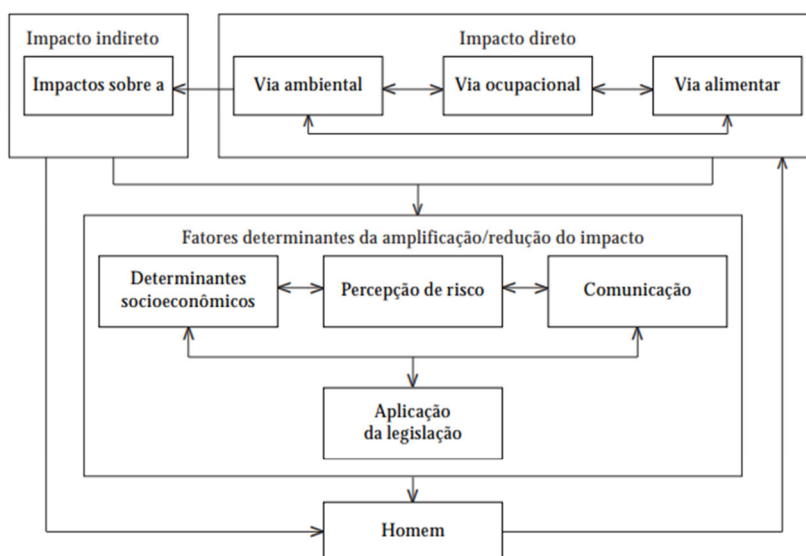
Fonte: (GARIBOTTI *et al.*, 2011).

3.7.4 Formas de contaminação humana por agrotóxicos

Para (MOREIRA *et al.*, 2002), conforme representado na Figura 2, as principais vias responsáveis pelo impacto direto da contaminação humana por agrotóxicos são:

A via ocupacional, caracterizada pela contaminação dos trabalhadores que manipulam essas substâncias. Esta contaminação é observada tanto no processo de formulação quanto no processo de utilização e na colheita. Embora atinja uma parcela mais reduzida da população, esta via é responsável por mais de 80% dos casos de intoxicação por agrotóxicos, dada à intensidade e à frequência com que o contato entre este grupo populacional e o produto é observado.

Figura 2 - Representação esquemática das principais vias responsáveis pelo impacto da contaminação humana por agrotóxicos



Fonte: (MOREIRA *et al.*, 2003).

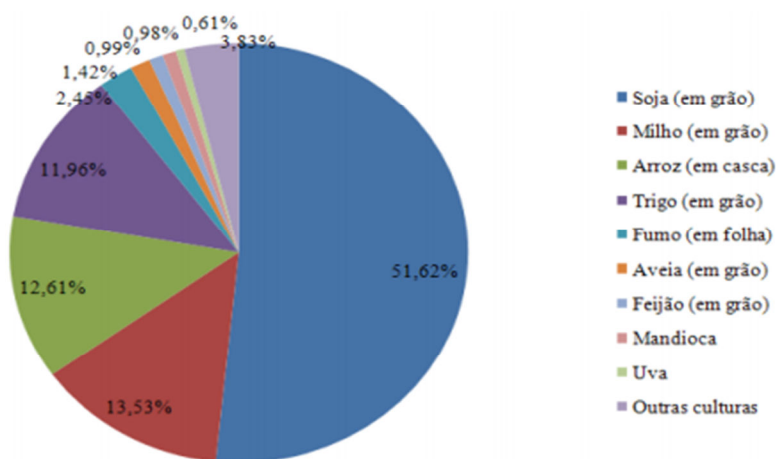
A via ambiental, por sua vez, caracteriza-se pela dispersão dos agrotóxicos ao longo dos diversos componentes do meio ambiente: a contaminação das águas ocorre pelo processo de lixiviação, onde a água da chuva carrega resíduos de agrotóxicos para lençóis freáticos. A contaminação atmosférica é resultante da dispersão de partículas durante o processo de pulverização das lavouras. Por fim, a contaminação do solo pode ocorrer devido a má estocagem dos produtos, aplicação direta de agrotóxicos e também pela utilização de águas contaminadas (MOREIRA *et al.*, 2003).

A contribuição da via ambiental é de fundamental importância para o entendimento da contaminação humana por agrotóxicos. Acredita-se que a contaminação ambiental supera a contaminação de via ocupacional, no entanto, os impactos causados pela contaminação direta (via ocupacional) causam impacto maior na saúde da população.

A via alimentar caracteriza-se pela contaminação relacionada à ingestão de produtos contaminados por agrotóxicos. O impacto sobre a saúde provocado por esta via é, comparativamente, menor, devido a diversas razões, tais como: a concentração dos resíduos que permanece nos produtos; a possibilidade de eliminação dos agrotóxicos por processos de beneficiamento do produto (cozimento, fritura, etc.); o respeito ao período de carência entre outros. Esta via atinge uma parcela ampla da população urbana, os

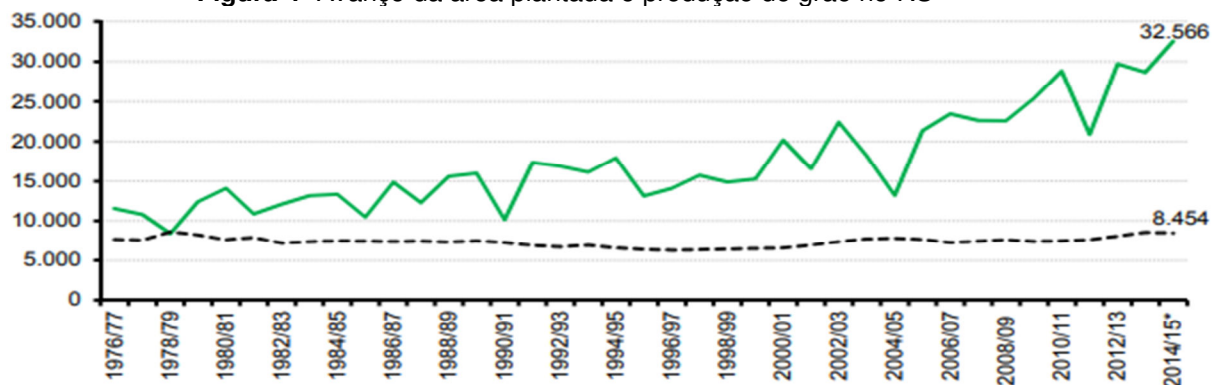
consumidores (MOREIRA *et al.*, 2003). A principal cultura associada ao uso de agrotóxicos no Rio Grande do Sul é a soja. A soja, o arroz, o milho e o trigo constituem as principais culturas agrícolas praticadas no RS, em termos de área plantada e quantidade produzida, conforme Figura 3. Em se tratando de valor da produção, a esse conjunto de produtos somam-se, em importância, o fumo, a uva e a maçã. A Figura 4 representa o crescimento em milhares de toneladas e hectares em um período de aproximadamente 40 anos (RODRIGO; FEIX, 2015).

Figura 3 - Estrutura agronegócio no RS



FONTE: (RODRIGO; FEIX, 2015).

Figura 4- Avanço da área plantada e produção de grão no RS



Fonte:(RODRIGO; FEIX, 2015), linha contínua: toneladas, linha tracejada: hectares

3.7.5 Limites máximos permitidos

O objetivo de definir um limite máximo permitido (LMR) de um agrotóxicos é defender a saúde da população. O limite do resíduo reflete a prática registrada e aprovada de agrotóxicos de acordo com as boas práticas de agricultura. Essas práticas podem variar consideravelmente de região para região, devido às diferenças de controle requerido no local da praga ou doença por uma série de razões (estação do ano ou clima da região) além do interesse público e governamental em relação aos agrotóxicos.

Dos agrotóxicos presentes na Tabela 6, são considerados extremamente perigosos: ditianona, 2,4-D, aldicarbe, abamectinae cianamida, pois pertencem à classe I conforme Tabela toxicológica 3 da classificação dos agrotóxicos. São utilizados principalmente em culturas como uva, maçã, tomate, batata, café, cana-de-açúcar, soja, milho, trigo, entre outros conforme monografias disponíveis no endereço eletrônico do Portal da ANVISA (ANVISA, 2018b).

Tabela 6 - Agrotóxicos e VMP listados na Portaria RS/SES 320

Agrotóxicos	Valor Máximo Permitido (VMP), $\mu\text{g L}^{-1}$
Abamectina	12
Acefato+metamidofós	4,8
Bifentrina	120
Carbaril	18
Cianamida	12
Cipermetrina	300
Ciproconazol	60
Cletodim	60
Clorimurom-etílico	120
Clorotalonil	180
Cresoxim-metil	2400
Diazinona	12
Difenoconazole	60
Diflubenzuron	120
Dimetoato	12
Ditianona	60
Epoconazol	18
Etoxisulfuron	240
Fenitrotiona	30
Fenoxaprop-p-etílico	15
Fentiona	42
Fipronil	1,2
Flutriafol	60
Folpet	600
Fomesafem	18
Gama-cialotrina	6
Hidrazina-maleica	1800
Imazetapir	1500
Imidacloprido	300
Indoxacarbe	60

Agrotóxicos	Valor Máximo Permitido (VMP), $\mu\text{g L}^{-1}$
Iodosulfurom-metílico	180
Ioxiniloctanoato	30
Lambda-cialotrina	30
Mesotriona	30
Metalaxi-m(Mefenoxan)	480
Metamitrona	150
Metidationa	6
Metiran+Mancozebe	180
Metsulfuron-metil	60
Picoxistrobina	258
Tembotriona	2,4
Tetraconazol	30
Tiametoxam	120
Tiodicarbe	180
Tiofanato-metílico+Carbendazim+Benomil	120
Triciclazol	180

Fonte: (BRASIL, 2014), VMP: Valor máximo Permitido

3.8 Preparo de amostras

Além da escolha conveniente do método analítico e amostragem adequada, erros significativos poderão ainda ser inseridos na etapa de preparo da amostra. Atualmente não existe uma técnica de preparo universal para qualquer amostra e por isso existe a necessidade de adequar ou desenvolver novas técnicas de preparo de amostras. Esta etapa é crucial dentro do processo analítico, uma vez que reduz as interferências e o efeito matriz, além de diminuir a necessidade de manutenção dos equipamentos utilizados para os ensaios (SILVA, 2010).

A preparação de amostras antes da determinação por técnicas analíticas, em particular técnicas cromatográficas, deve ser realizada a fim de extrair o analito de interesse e eliminar os efeitos de interferência dos componentes associados. A remoção de interferentes de uma amostra pode auxiliar no desempenho do sistema cromatográfico, evitando deterioração dos componentes metálicos bem como evitar problemas de co-eluição de compostos indesejáveis que prejudicam a separação e a detecção (ANDRADE *et al.*, 2015).

A extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) tem sido uma das principais técnicas de extração de espécies químicas presentes nos mais diversos tipos de amostras líquidas. A alta capacidade de concentrar os solutos nos extratos, a facilidade de automação e a redução do consumo de

solventes orgânicos são algumas das vantagens conhecidas da SPE frente a outras técnicas de extração (NOVAIS *et al.*, 2015).

A SPE, além de extrair, concentrar e pré-purificar os analitos, também utiliza pequenos volumes de solventes e pouca manipulação da amostra, o que contribui para a redução no tempo da análise (CAVALCANTE *et al.*, 2007).

A determinação de traços de agrotóxicos requer o isolamento e subsequente concentração do analito a partir da matriz, a fim de atingir limites de detecção mais baixos. A extração em fase sólida (SPE) é uma técnica bastante atual, é adequada para muitas amostras com contaminantes em nível de traços. Requer aparelhagem simples e proporciona um “*clean up*” superior à extração líquido-líquido (LLE do inglês *Liquid Liquid Extraction*) além de reduzir substancialmente o consumo de solvente e o tempo requerido para o preparo da amostra para análise. O custo do material em SPE, por amostra, é igual e, em muitos casos, mais baixo que a correspondente extração líquido-líquido (FILHO *et al.*, 2003).

A SPE é uma técnica amplamente empregada na extração e concentração de analitos, mesmo quando estão presentes em baixos níveis de concentração, na remoção de compostos interferentes em matrizes complexas e na mudança do meio de solubilização de um analito antes de sua análise cromatográfica. Sendo assim, a SPE é considerada uma técnica muito importante para o preparo de amostras (ALVES *et al.*, 2015).

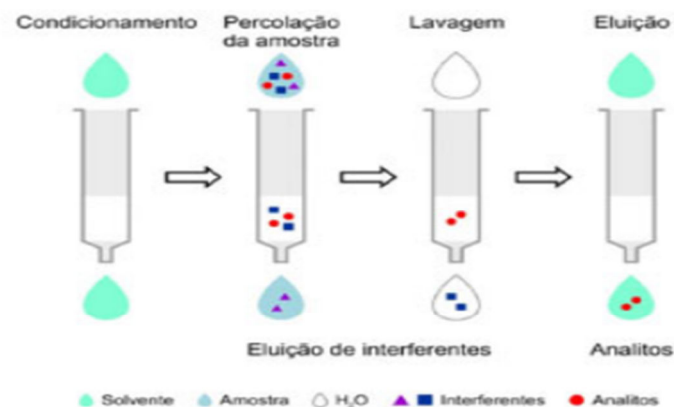
A escolha da técnica deve considerar a praticidade, a reprodutibilidade e a relação custo/eficiência de cada tratamento e ainda apresentar reconstituição e utilização viáveis, tais condições.

3.8.1 SPE

Nesta técnica, os analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos juntamente com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo sorvente. Um solvente orgânico seletivo é geralmente utilizado para remover os interferentes e então, outro solvente é usado para remover os analitos de interesse. A técnica ainda garante baixo uso de solvente,

produtividade e rapidez na extração, além de garantir uma boa recuperação dos analitos

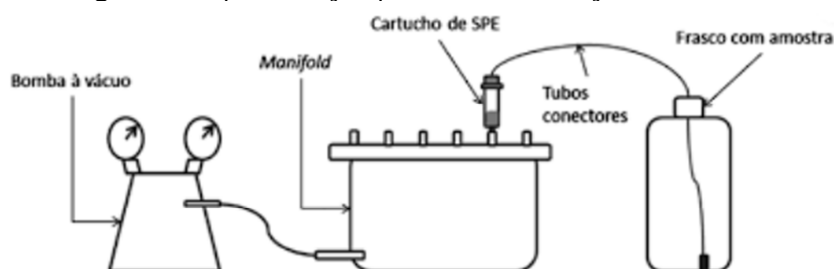
Figura 5- Representação das etapas envolvidas na SPE



Fonte: CALDAS *et al.* (2011)

A execução da técnica de SPE, representada na Figura 5 consiste em quatro etapas, sendo elas (I) o condicionamento do cartucho, (II) a permeação da amostra, (III) a limpeza do cartucho para eliminar os interferentes menos retidos que os analitos (etapa opcional) e (IV) a eluição dos compostos de interesse. A segunda etapa, permeação da amostra, baseia-se na passagem da amostra através da fase estacionária e pode ser considerada uma etapa crítica, pois a velocidade com que a amostra permeia a fase estacionária do cartucho influencia diretamente na interação com os analitos, e, conseqüentemente, altera a eficiência da retenção dos compostos de interesse. Os equipamentos usados na SPE são, no mínimo, um *manifold* e uma bomba a vácuo. Comumente, é utilizado o esquema apresentado na Figura 6 para a realização dessa extração em laboratórios de análises(SANSON *et al.*, 2014).

Figura 6- Representação processo de extração da amostra



Fonte:(SANSON *et al.*, 2014)

Na Tabela 7 são apresentadas aplicações da extração em fase sólida utilizadas para a extensão de resíduos de agrotóxicos e outras substâncias químicas em amostras de água.

Tabela 7- Aplicações da SPE para a extensão de resíduos de agrotóxicos e outras substâncias químicas em amostras de água

Agrotóxicos e/ou outras substâncias	Adsorvente	Preparo da amostra/ condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Agrotóxicos organoclorados	Nanopartículas de Fe ₃ O ₄	400 mL de amostra Condicionamento: 3 mL (2 x 1,5 mL) acetonitrila 3 mL (2 x 1,5 mL) acetona	0,5 mL isooctane evaporado < 0,5 mL e avolumado 0,5 mL com isooctano	GC-MS/MS	Wang <i>et al.</i> , (2017)
Glifosato e AMPA	C ₁₈	100 mL de amostra Condicionamento: 5 mL de ácido clorídrico 3 mol L ⁻¹ / 10 mL de água ultra pura	1 mL de ácido clorídrico 50 mmol L ⁻¹	HPLC-DAD	Delmonico <i>et al.</i> , (2014)
Alacloro Atrazina Simazina Metil paration	C ₁₈	1 L de amostra Condicionamento: 10 mL de metanol/ 10 mL de água ultra pura	2 mL de acetonitrila	HPLC-DAD	Sousa <i>et al.</i> , (2015)
Oxitetraciclina Tetraciclina Clortetraciclina Doxiciclina	Metacrilato de 2- hidroxuetila	300 mL de amostra Condicionamento: 20 mL de (acetonitrila:ácido oxálico) 0,01 mol L ⁻¹ (20:80, v/v) / 20 mL de água destilada	5 mL de acetona evaporado com N ₂ para 0,5 mL	HPLC-DAD	Abrão, Maia e Figueiredo (2014)
Estrone 17-β-estradiol 17-α-etinilestradiol Ibuprofen Diclofenazol Paracetamol	Strata SAX®	200 mL de amostra Condicionamento: 10 mL de metanol/10 mL de água ultra pura/ 6 ml de água + ácido clorídrico pH 2,0	10 mL de etil acetato/ evaporação N ₂ até 1 mL	GC-MS	Castro <i>et al.</i> , (2018)
Carbendazin	Oasis HLB®	80 mL de amostra Condicionamento: 4 mL de metanol/ 4 ml de água ultra pura	4 ml de metanol	HPLC-MS	Costa <i>et al.</i> , (2018)
Ometoado Dimetoato Disulfuron sulfóxido Metidationa Formet Malation Diazinona Clorpirifod Pirimifos metil	Strata X®	250 mL de amostra Condicionamento: 3 mL de metanol/ 3 mL de acetonitrila/ 3 mL de metanol/ 9 ml de água ultra pura	2 ml de acetonitrila	HPLC-MS	Icardo <i>et al.</i> , (2014)

Agrotóxicos e/ou outras substâncias	Adsorvente	Preparo da amostra/ condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Carbamatos	Grafeno 30 mg	50 mL de amostra Condicionamento: 3 ml de metanol/ 3 ml de acetona/ 3 mL de acetonitrila/ 9 mL de água ultra pura	5 mL de acetona/ epaporação com N ₂ até 1 mL	HPLC-MS/MS	Shi <i>et al.</i> , (2014)
15 Agrotóxicos	C ₁₈ Polarity Enhanced Polymer)	200 mL de amostra Condicionamento: 5 mL de metanol/ 5 ml de água ultra pura/ secagem a vácuo por 25 minutos	20 mL de hexano e acetona (9:1, v/v), evaporação em rotaevaporador e redissolvido em 2 mL de hexano	GC-MS	Sheng <i>et al.</i> , (2016)
20 Compostos farmacêuticos, Microtoxinas e Fenóis	Oasis HLB®	200 mL de amostra Condicionamento: 5 mL diclorometano + metanol (1:1, v/v)/ 10 mL de água deionizada	10 mL de diclorometano + metanol (1:1, v/v)/ evaporação até 1 mL	UHPLC-QqTOF-MS	Campo, Blasco e Picó (2014)
Imidacloprido	C ₁₈	10 mL de amostra Condicionamento: 3 mL de metanol/ 3mL de água ultra pura	3 ml de metanol/ evaporação/redissolvido em 200 µL de acetonitrila	HPLC-DAD	Fuentes, Cid e Báez (2014)
400 Agrotóxicos	Oasis HLB®	200 mL de amostra Condicionamento: 4mL de metanol/ 8 mL de água ultra pura	4 mL de metanol/ evaporado N ₂ e redissolvido 1 mL (metanol:água ultra pura, 20:80)	LC-TOF/MS	Molina <i>et al.</i> , (2014)
252 Agrotóxicos	Oasis HLB®	200 mL de amostra Condicionamento: 10 mL de metanol/ 10 mL de água ultra pura, pH3,0	10 ml metanol/ evaporado N ₂ e redissolvido em 1 mL de metanol	LC-HR/MS	Casado, Santillo e Johnnston (2014)
Agrotóxicos organoclorados	C ₁₈	400 mL de amostra Condicionamento: 5 mL de acetato de etila/ 5 mL de metanol/ 10 mL de água deionizada	5 mL de acetato de etila		Cheng <i>et al.</i> , (2016)
Agrotóxicos	Oasis HLB®	400 mL de amostra Condicionamento: 10 mL de acetato de etila/ 10 mL de água deionizada	5 mL de ametanol/ 5 mL (metanol + etil acetato, 1:1)/ 5 mL de etil acetato + hexano, 1:4)	UPLC-MS/MS GC-MS	Lehmannet <i>al.</i> , (2017)

4 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A cromatografia líquida de alta eficiência CLAE (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*), tem como princípio a separação de misturas, na qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: um móvel e outra estacionária. O fluido de arraste é um solvente e a fase estacionária é constituída de partículas sólidas empacotadas em uma coluna a qual é atravessada pela fase móvel.

HPLC é muito útil para separação de substâncias com alto peso molecular, que possuem volatilidade muito baixa e não podem ser separados por cromatografia gasosa. Utilizando uma fase móvel líquida para separar os componentes da amostra, os componentes são dissolvidos em um solvente e forçados a passar por uma coluna de alta pressão. Esses componentes, ao interagirem com a fase estacionária, saem em diferentes momentos, ou seja, em tempos de retenção diferentes (PRODUCTS, 2018).

As técnicas analíticas instrumentais têm-se destacado nos últimos anos pelos avanços tecnológicos, tanto na montagem de sistemas analíticos mais robustos e de menor tamanho, quanto no desenvolvimento de softwares de operação e tratamento de dados que aperfeiçoam o tempo de análise e de interpretação dos resultados obtidos (JÚNIOR, 2010).

A escolha da técnica de separação depende das características dos agrotóxicos de interesse. A cromatografia gasosa (CG) se aplica para compostos voláteis, semi-voláteis e compostos termicamente estáveis. Enquanto que não voláteis e termicamente instáveis são mais indicados para Cromatografia Líquida (LC) que pode separar um grande número de compostos similares. Os agrotóxicos empregados atualmente são mais polares, termicamente instáveis ou não voláteis, o que prioriza o uso de LC (TETTE *et al.*, 2016).

A espectrometria de massas, EM, é uma das mais importantes ferramentas analíticas disponíveis aos cientistas, uma vez que é capaz de fornecer informações sobre a composição elementar da amostra, a estrutura molecular, composição qualitativa e quantitativa de misturas complexas,

estrutura e composição de superfícies sólidas e as proporções isotópicas de átomos nas amostras (ASTON, 1922).

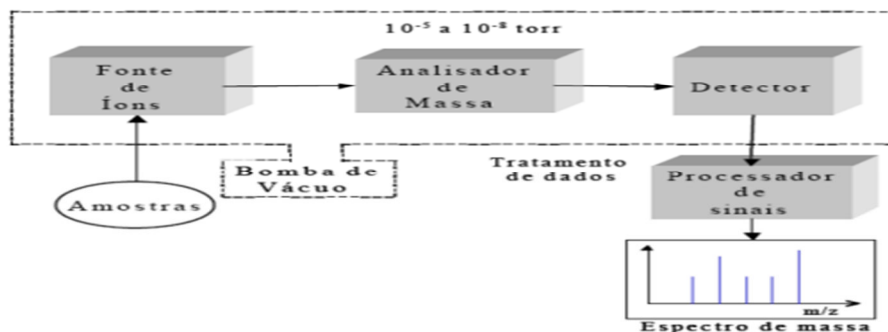
A espectrometria de massas é uma técnica analítica utilizada para identificar compostos desconhecidos, quantificar materiais conhecidos e elucidar as propriedades químicas e estruturais de moléculas. Ainda, pode ser realizada em quantidades bem pequenas (ao nível de picogramas) e em concentrações baixas de misturas quimicamente complexas (CHIARADIA *et al.*, 2008).

Um espectrômetro de massas pode ser entendido, via de regra, como um instrumento contendo uma fonte de íons, um separador ou filtro de massas, que separa íons em função da razão massa sobre carga (m/z) e um detector. Embora, existam várias estratégias para separação e detecção, a etapa de ionização é aquela com o maior número de diferentes estratégias. Isso se deve à grande variedade de tipos de amostras e espécies de interesse.

Amostras sólidas, líquidas ou gasosas contendo espécies voláteis ou não e com interesses voltados desde a análise elementar até a composição de proteínas requerem diferentes processos de ionização. Uma vez gerados os íons, os processos de separação e detecção podem ser escolhidos de acordo com características mais ou menos comuns como sensibilidade, resolução e precisão na medida da m/z e custo. Neste contexto, surgiu a ionização por “*electrospray*” como uma alternativa para geração de íons a partir de espécies pouco voláteis presentes em fase líquida (MORAES *et al.*, 2003).

A fonte de íons não necessariamente estará submetida a baixas pressões, podendo ficar em pressão atmosférica (GROSS, 2004). Na Figura 7 está representado os componentes básicos de um espectrômetro de massas.

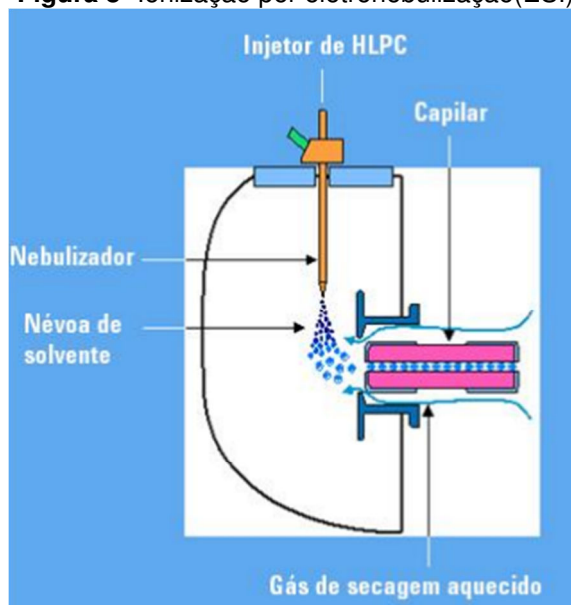
A amostra (sólida, líquida ou gasosa) é ionizada e suas moléculas se quebram em fragmentos carregados durante a ionização. Esses íons são separados em função da razão massa/carga (m/z). Após, os íons são detectados por uma eletromultiplicadora, mecanismo capaz de detectar partículas carregadas, assim como amplificar o sinal recebido na forma de cargas dos íons. Os resultados são apresentados como espectros da abundância relativa como uma função da razão m/z . A identificação é feita ao correlacionar as massas conhecidas com as massas identificadas ou por meio de um padrão de fragmentação característico.

Figura 7- Componentes do espectrômetro de massas

Fonte: (Cabrera, 2012).

4.1 Fonte de ionização por eletronebulização (ESI)

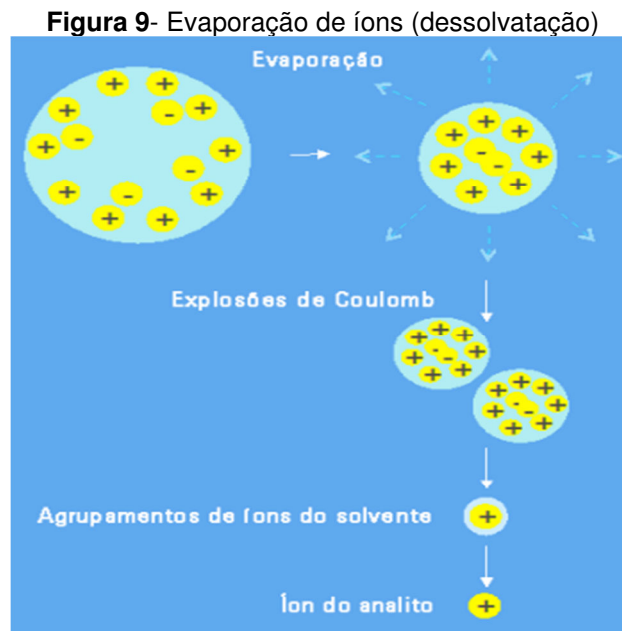
A ionização por eletronebulização, em inglês *Eleto Spray Ionization* (ESI) é uma técnica de ionização suave. O eluente da LC é pulverizado (nebulizado) em uma câmara de nebulização mantida à pressão atmosférica na presença de um campo eletrostático e um gás de secagem aquecido. O campo eletrostático ocorre entre o nebulizador e o capilar, que está em alta tensão, conforme demonstra Figura 8.

Figura 8- Ionização por eletronebulização(ESI)

Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2016)

O nebulizador produz um tamanho de gotícula uniforme. As gotículas carregadas são atraídas em direção ao capilar dielétrico. O fluxo de nitrogênio

aquecido ao redor do capilar diminui as gotículas. Esse processo demonstrado na Figura 9 é chamado de dessolvatação. As gotículas continuam diminuindo de tamanho até que as forças eletrostáticas repulsivas (Lei de Coulomb) excedam as forças de coesão da gotícula, fazendo com que explodam. Este processo se repete até que os íons do analito são finalmente dessorvidos na fase gasosa, sendo chamado de evaporação de íons.



Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2016)

4.2 Analisadores de massa

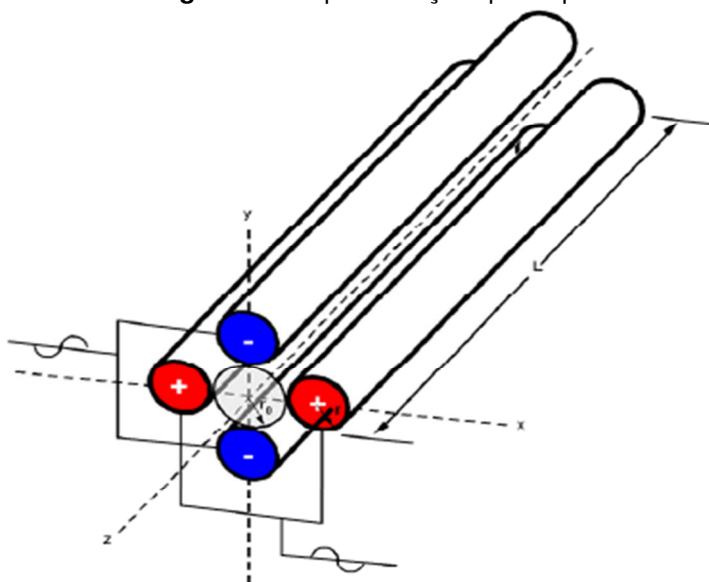
Após a ionização e o transporte de íons, os analitos entram no analisador de massa. O espectrômetro de massas mede os sinais de íon resultantes em um espectro de massas, que pode fornecer informações importantes sobre o peso molecular, estrutura, identidade e quantidade de um composto.

4.3 Quadropolo simples

O quadropolo é constituído de quatro hastes, dispostas em pares opostos conectados eletricamente. Este arranjo é submetido a um campo de radiofrequência e a uma diferença de potencial (voltagem) aplicada entre as hastes. Em um valor específico de voltagem, íons de uma determinada razão m/z atravessam o quadropolo descrevendo uma trajetória estável.

Íons carregados gerados na fonte de íons entram no analisador de massa. O analisador de massa quadropolo faz uma varredura sequencial, de modo que apenas uma única m/z de íon possa passar de uma vez. Todos os outros íons são perdidos. Um íon alvo com m/z específica é monitorado, este modo de operação é chamado SIM (do inglês, *Selected Ion Monitoring*) e permite alta sensibilidade para quantificação, no entanto não oferece especificidade. No modo de varredura, em inglês *SCAN*, o analisador de massa quadropolo faz a varredura sequencial de uma faixa de m/z , obtendo assim um espectro de massas completo com todos os fragmentos formados para a substância analisada. O esquema de um analisador quadropolar encontra-se representado na figura 10.

Figura 10- Representação quadropolo



Fonte: (AGILENT TECHNOLOGIES, 2016).

4.4 Técnicas de confirmação para resíduos e contaminantes orgânicos

Os métodos de confirmação para resíduos e contaminantes orgânicos devem fornecer informações relativamente à estrutura química da substância a analisar. Consequentemente, os métodos que utilizam apenas a análise cromatográfica, sem recurso a um sistema de detecção baseado na espectrometria, não são adequados para utilização isolada enquanto métodos de confirmação. Contudo, se uma determinada técnica não possuir especificidade suficiente, esta pode ser obtida através de processos analíticos constituídos por combinações adequadas de processos de purificação, separação cromatográfica e detecção espectrométrica (BYRNE, 2002).

4.4.1 Método SCAN

Quando a determinação por espectrometria de massa for efetuada através do registro de espectros de varredura, é obrigatória a presença, no espectro de referência do padrão de calibração, de todos os íons de diagnóstico medidos (íon molecular, adutos característicos do íon molecular, íons fragmentados característicos e íons isótopos) com intensidades relativas superiores a 10% (BYRNE, 2002).

4.4.2 Método SIM

Quando a determinação por espectrometria de massa for efetuada por fragmentografia, o íon molecular deve, de preferência, ser um dos íons de diagnóstico selecionados (íon molecular, adutos característicos do íon molecular, íons fragmentados característicos bem como todos os seus íons isótopos). Os íons de diagnóstico selecionados não devem ter exclusivamente origem na mesma zona da molécula. A razão sinal/ruído para cada íon de diagnóstico deve ser $\geq 3:1$ respectivamente.

No caso do LC-MS quadrupolar simples o método é otimizado para obter o íon molecular protonado, ou outro aduto da molécula inteira, para obter o máximo de sinal possível o que por consequência permitirá estender a faixa

linear até menores concentrações, no entanto esta estratégia não permite a obtenção de íons para confirmação dos resultados.

A alternativa para aumento da seletividade proposta neste trabalho é fragmentar a molecular na fonte de íons, aumentando as energias envolvidas e produzindo fragmentos ou adutos característicos que permitam confirmar a estrutura do analito.

5 VALIDAÇÃO

De acordo com o DOC-CGCRE 008 revisão 4: “Orientação sobre Validação de métodos Analíticos”, sempre que uma metodologia existente for modificada para atender os requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido, o laboratório deve se assegurar que as características de desempenho do método atendem aos requisitos para as operações analíticas pretendidas. Para isso deve desenvolver estudos considerando os seguintes parâmetros a depender do tipo de ensaio. Para o estudo em questão, foram selecionados os seguintes parâmetros de validação (INMETRO, 2011).

Tabela 8 - Parâmetros de validação

Parâmetros	Descrição
Seletividade	Capacidade do método em determinar o analito com exatidão.
Linearidade	Faixa de concentração ao qual o método pode ser aplicado.
Limite de detecção	Menor valor de concentração do analito detectado pelo método.
Limite de quantificação	Menor valor de concentração do analito que pode ser quantificado com precisão.
Exatidão	Grau de concordância entre resultado do ensaio e o valor de referência.
Precisão	Grau de concordância entre testes independentes obtidos sob condições estabelecidas.
Efeito matriz	Influências das propriedades e interferências da matriz da amostra.
Robustez	Capacidade do método em resistir a variações dos parâmetros analíticos.
Incerteza de medição	Qualidade de uma medida de forma quantitativa.
Ensaio de proficiência	Avaliar desempenho de laboratórios, estabelecer eficácia e comparabilidade de métodos de ensaio de medição.
Ensaio Bilateral	Demonstrar/avaliar competência entre métodos reconhecidos e métodos em desenvolvimento/modificados.

Fonte: (IMETRO, 2011).

5.1 Testes de Proficiência

A fim de avaliar o desempenho dos laboratórios, estabelecer a eficácia e comparabilidade de novos métodos de ensaio de medição, acompanhar métodos estabelecidos e determinar as características de desempenho de um método, a ANBT ISO/IEC Guia 43 estabelece testes de proficiência, conhecidos como estudos colaborativos. Caso o laboratório não alcance as condições satisfatórias nos processos de comparação interlaboratorial, deve ser efetuado um plano de ações corretivas para verificar as causas e reavaliar o método (INMETRO, 2011).

5.2 Ensaio bilateral

Caso o laboratório não tenha acesso às comparações interlaboratoriais, pode demonstrar sua competência por meio de participação satisfatória em comparação interlaboratorial que tenha por objetivo comparar os resultados de dois ou mais laboratórios (Bilaterais) e devem ser isentas e imparciais.

A participação em uma comparação bilateral é uma alternativa eficaz para que um laboratório possa avaliar as características de desempenho de um método e pode ser utilizado para avaliar a garantia da qualidade dos resultados (RMRS, 2014).

6 MATERIAIS E MÉTODO

O desenvolvimento experimental baseou-se no estudo e aplicação de um método para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de água para consumo humano. O método de extração utilizado foi SPE e para determinação dos compostos empregou-se análises por LC-MS. Para coleta das amostras foi utilizado água da rede de abastecimento. A validação e os ensaios foram realizados na sede do laboratório Econsulting, especializado em Gestão Ambiental, localizado na cidade de Viamão - RS.

6.1 Seleção dos analitos para estudo

Os analitos de estudo deste trabalho foram definidos a partir da Portaria RS/SES 320/2014., e estão listados na Tabela 9, abaixo.

6.2 Instrumentação

- Os equipamentos utilizados para o desenvolvimento deste trabalho estão descritos a seguir:
- Sistema LC-MS Agilent 1260 *Infinity* modelo 6120, com amostrador automático, ZORBAX ECLIPSE XDB-C18 Narrow-Bore 4,6 x 150 mm 5-micron, EUA)
- Geladeira (*Eletrolux*, Brasil)
- Balança analítica (*Shimadzu*, Brasil)
- Microseringas de 5-10-25-50-100-500 µL Hamylton

6.3 Materiais, solventes, reagentes e sorventes

- Metanol grau HPLC (Merck, Brasil)
- Cartucho SPES tracta 500mg/3mL (Cromabond EUA)
- Detergente *Extran* (Merck, Brasil)
- Ácido fosfórico (Vetec, Brasil)
- Vial de 2mL (Uniglas, Brasil)

- Micro filtro GF-3 Diâmetro 125 mm
- Formiato de Amônio (Vetec, Brasil)
- Hidróxido de Amônio Marca (Dinâmica, Brasil)
- Vidrarias de Laboratório (balão volumétrico, bastão de vidro, béquer, proveta)

Tabela 9 - Agrotóxicos utilizados neste estudo

Agrotóxico	Lote	Marca	Validade
Metamidofos	26686	Accustandard	17/06/2025
Acefato	25442	Accustandard	29/12/2024
Fipronil	080311KS-01	Accustandard	01/03/2019
Tembotriona	27446	Accustandard	13/07/2020
Gama cialotrina	40108	Dr. Ehrenstorfer	29/04/2018
Metidationa	26714	Accustandard	21/07/2025
Carbaril	0926123KC	Accustandard	28/09/2022
Cianamida	0256412	Accustandard	25/05/2020
Dimetoato	112014KC	Accustandard	21/11/2024
Epoxiconazol	28023	Accustandard	01/06/2027
Diazinona	111308KS-2-01	Accustandard	13/12/2026
Abamectina	25990	Accustandard	19/02/2026
Fenoxaprop-p-etílico	24457/01	Accustandard	15/01/2019
Fomesafem	28432	Accustandard	02/10/2027
Mesotriona	216041083-01	Accustandard	25/05/2019
Fenitrotiona	23808	Accustandard	13/06/2023
Tetraconazol	28225	Accustandard	12/07/2020
Ioxinil octanoato	1562352-kC	Accustandard	09/03/2021
Fentiona	061009DT	Accustandard	23/06/2019
Lambda cialotrina	25836	Accustandard	15/07/2025
Ciproconazol	2170021253-01	Accustandard	27/05/2019
Flutriafol	25530	Accustandard	04/02/2025
Ditianona	25975	Accustandard	11/02/2019
Metsulfuron metil	27750	Accustandard	24/01/2027
Imazetapir	216021234-02	Accustandard	22/06/2018
Cletodim	217091153-01	Accustandard	14/06/2019
Clorimuron etílico	217041147-01	Accustandard	16/12/2019
Difenoconazol	24280	Accustandard	25/10/2023
Indoxacarbe	25222	Accustandard	01/10/2024
Benomil	090808KS-AC	Accustandard	03/09/2025
Bifentrina	24255	Accustandard	21/10/2023
Carbendazim	23341	Accustandard	13/12/2022
Cipermetrina	24299	Accustandard	04/11/2023
Clorotalonil	100200AG-AC	Accustandard	10/06/2024
Cresoxin metil	24911-01	Accustandard	16/08/2019
Diflubenzuron	25584	Accustandard	19/02/2025
Etoxisulfuron	22459	Accustandard	25/01/2022
Folpet	103000AG-AC	Accustandard	13/05/2024
Hidrazina meleica	11630CF-A	Accustandard	19/09/2024
Imidacloprido	25412-02	Accustandard	19/05/2020
Iodosulfuron metílico	27344	Accustandard	01/06/2026
Mancozeb	26798	Accustandard	03/09/2025
Metalaxil-m	27880	Accustandard	24/02/2021
Metamitrona	27845	Accustandard	15/02/2027
Metiram	27094	Accustandard	17/02/2019
Picoxistrobina	28190	Accustandard	10/07/2027
Tiametoxan	25778	Accustandard	06/05/2025

Agrotóxico	Lote	Marca	Validade
Tiodicarb	27166	Accustandard	23/03/2026
Tiofanato metílico	27086	Accustandard	15/02/2026
Triciclazol	25816	Accustandard	01/06/2025
Trifenilfosfato	215061307	Accustandard	17/06/2019

Fonte: O autor.

6.4 Preparo das soluções analíticas

As soluções analíticas estoque foram adquiridas na concentração disponível comercialmente ou preparadas a partir da dissolução da substância sólida ou líquida em solvente acetona, na concentração de 1000 mgL⁻¹. As soluções foram acondicionadas em frascos de vidro, identificadas e estocadas em temperatura adequada. Os padrões de trabalho foram obtidos a partir da diluição destas soluções em uma concentração conhecida. Todas as soluções foram preparadas ou obtidas através de compostos com materiais de referência (MR) certificados ISO Guide-34.

ISO Guide 34 é a norma que especifica os requisitos gerais de acordo com os quais um produtor tem que demonstrar para ser reconhecido como competente para produzir materiais de referência. É aplicável no desenvolvimento e na implementação de seu sistema de gestão para operações da qualidade, administrativas e técnicas. Clientes, autoridades reguladoras e organismos de acreditação também podem utilizar esta norma para confirmação e reconhecimento da competência de produtores de material de referência (BRASIL, 2017).

6.4.1 Preparo das soluções analíticas com a mistura dos analitos

Para o preparo da solução intermediária foi realizada uma diluição dos agrotóxicos individuais em concentrações de acordo com a definição dos limites de quantificação a serem atendidos.

Os analitos foram separados de acordo com os seguintes níveis de concentração: 0,1;0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0 mg L⁻¹, conforme tabela 10.

Tabela 10 - Concentrações para cada um dos níveis.

Concentrações	Níveis
0,1 mg L ⁻¹	a
0,5 mg L ⁻¹	b
1,0mg L ⁻¹	c
2,0 mg L ⁻¹	d
5,0 mg L ⁻¹	e
10,0 mg L ⁻¹	f

Fonte: O autor.

Foi calculada a alíquota a ser diluída em 10 mL, para obter a concentração desejada na curva analítica. As alíquotas e concentrações finais de cada analito na solução são apresentadas nas tabelas abaixo. O resumo das diluições realizadas para o preparo da solução é apresentado na Tabela 11.

Tabela 11 - Volumes de cada nível de concentração para o preparo da mistura de agrotóxicos

Nível	Volume de Padrão	Volume final
a	1 µL	10 mL
b	5 µL	
c	10 µL	
d	20 µL	
e	50 µL	
f	100 µL	

Fonte: O autor.

A Tabela 12 apresenta a concentração do padrão e o volume de alíquota para cada analito utilizados no preparo da solução mistura.

Tabela 12 - Preparo para a mistura de agrotóxicos

Agrotóxico	Concentração (mg/L)	Volume (µL)	Nível
Metamidofos	1000	1	A
Acefato	1000	1	A
Fipronil	1000	1	A
Tembotriona	1000	1	A
Gama cialotrina	1000	5	B
Metidationa	1000	5	B
Carbaril	1000	10	C
Cianamida	1000	10	C
Dimetoato	1000	10	C
Epoxiconazol	1000	10	C
Diazinona	1000	10	C

Agrotóxico	Concentração (mg/L)	Volume (µL)	Nível
Abamectina	1000	10	C
Fenoxaprop-p-etílico	1000	10	C
Fomesafem	1000	10	C
Mesotriona	100	200	D
Fenitrotiona	500	40	D
Tetraconazol	1000	20	D
Ioxinil octanoato	100	200	D
Fentiona	1000	20	D
Lambda cialotrina	1000	20	D
Ciproconazol	100	500	E
Flutriafol	1000	50	E
Ditianona	1000	50	E
Metsulfuron metil	1000	50	E
Imazetapir	1000	50	E
Cletodim	100	500	E
Clorimuron etílico	100	500	E
Difenoconazol	1000	50	E
Indoxacarbe	1000	50	E
Benomil	1000	100	F
Bifentrina	1000	100	F
Carbendazim	1000	100	F
Cipermetrina	1000	100	F
Clorotalonil	1000	100	F
Cresoxin metil	1000	100	F
Diflubenzuron	1000	100	F
Etoxisulfuron	1000	100	F
Folpet	1000	100	F
Hidrazina meleica	1000	100	F
Imidacloprido	1000	100	F
Iodosulfuron metílico	1000	100	F
Mancozeb	1000	100	F
Metalaxil-m	1000	100	F
Metamitrona	1000	100	F
Metiram	1000	100	F
Picoxistrobina	1000	100	F
Tiametoxan	1000	100	F
Tiodicarb	1000	100	F
Tiofanato metílico	1000	100	F
Triciclazol	1000	100	F

Fonte: O autor.

6.4.2 Fase móvel

Para este estudo, foram utilizadas 2 fases móveis que entram em contato com a fase estacionária, através de uma coluna de separação, de acordo com o gradiente e vazão do método.

A: 980 mL de H₂O Tipo II, 20 mL de Metanol, 1mL de ácido fórmico 0,1% e 0,315 g de formiato de amônio 5 mM.

B: 1000 mL de Metanol, 1 mL de ácido fórmico 0,1% e 0,315 g de formiato de amônio 5mM.

6.4.3 Soluções da Curva de Calibração

A curva de calibração foi preparada de acordo com os dados apresentados na Tabela 13, na qual estão definidos o volume e a concentração para o preparo de cada nível da curva de calibração em um total de 7 níveis, com volume final de 1 mL para cada ponto.

Tabela 13 - Preparo da curva de calibração

Ponto da curva de calibração	P7	P6	P5	P4	P3	P2	P1
Solução com a Mistura (µL)	75	50	25	17,5	10	5	2,5
Fase móvel (µL)	500	500	500	500	500	500	500
Padrão Interno (µL)	5	5	5	5	5	5	5
Metanol (µL)	420	445	470	477,5	485	490	492,5
Conc a (µg/L)	7,5	5	2,5	1,75	1	0,5	0,25
Conc b (µg/L)	32,5	25	12,5	8,75	5	2,5	1,25
Conc c (µg/L)	75	50	25	17,5	10	5	2,5
Conc d (µg/L)	150	100	50	35	20	10	5
Conc e (µg/L)	325	250	125	87,5	50	25	12,5
Conc f (µg/L)	750	500	250	175	100	50	25

Fonte: O autor.

6.4.4 Preparo das fortificações das amostras

Antes de utilizar a matriz para o estudo da fortificação, a mesma foi analisada no modo SCAN para detectar possíveis sinais de traços dos analitos

de interesse. Uma vez que nenhum sinal foi detectado no mesmo tempo de retenção de cada analito, a amostra foi considerada adequada para o estudo. Após seguiu-se o procedimento de extração SPE conforme item 7.2. Os volumes adicionados em cada nível de fortificação e as concentrações obtidas são apresentados na Tabela 14.

Para a fortificação das amostras, em um volume de 100 mL de água para consumo humano foram adicionadas concentrações variadas da solução com a mistura dos analitos. Em seguida o pH ajustado para <3,5 com ácido fosfórico. Os 7 níveis de fortificações assim preparados estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14 - Preparo das fortificações

Nível de Fortificação	F7	F6	F5	F4	F3	F2	F1
Solução da mistura (μL)	75	50	25	17,5	10	5	2,5
pH	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5	<3,5
Água abastecimento (mL)	100	100	100	100	100	100	100
Volume final SPE (mL)	5	5	5	5	5	5	5

Fonte: O autor.

As amostras fortificadas foram extraídas de acordo com o procedimento descrito no item 7.2. O extrato obtido foi diluído em uma mistura das fases móveis A/B (1:1) e o padrão interno adicionado. As concentrações esperadas no extrato obtido a parti das amostras fortificadas são apresentadas na tabela 15.

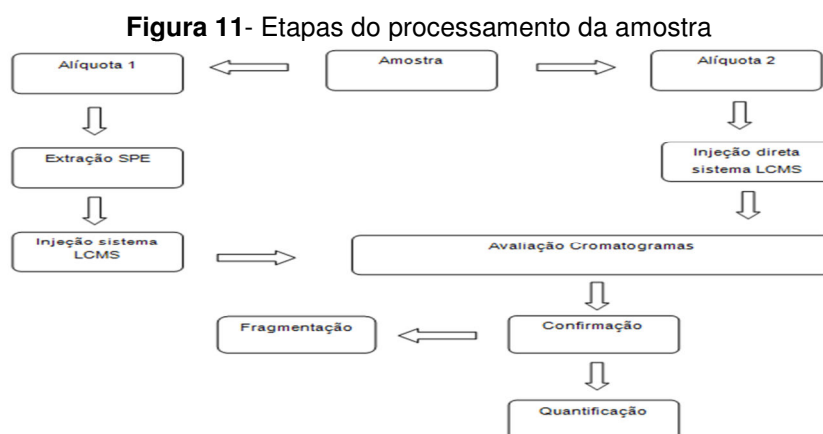
Tabela 15 - Fortificação das amostras

Nível de Fortificação	F7	F6	F5	F4	F3	F2	F1
Extrato	500	500	500	500	500	500	500
Fase móvel A/B (μL)	500	500	500	500	500	500	500
Padrão Interno (μL)	5	5	5	5	5	5	5
Conc a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,75	0,5	0,25	0,175	0,1	0,05	0,025
Conc b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3,25	2,5	1,25	0,875	0,5	0,25	0,125
Conc c ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7,5	5	2,5	1,75	1	0,5	0,25
Conc d ($\mu\text{g L}^{-1}$)	15	10	5	3,5	2	1	0,5
Conc e ($\mu\text{g L}^{-1}$)	32,5	25	12,5	8,75	5	2,5	1,25
Conc f ($\mu\text{g L}^{-1}$)	75	50	25	17,5	10	5	2,5

Fonte: O autor.

6.5 Processamento das amostras

As amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar e foram imediatamente encaminhadas para o laboratório. Para este estudo foi utilizado a alíquota 1 do processo de extração. A alíquota 2 pode ser utilizada para a determinação do agrotóxico glifosato (não abordado neste trabalho) seguindo metodologia específica.



Fonte: autor

6.6 Condições operacionais do Sistema LC-MS

Os parâmetros e condições do sistema LC-MS utilizados para a detecção e quantificação dos agrotóxicos deste estudo estão definidos na tabela 16.

Tabela 16 - Parâmetros e condições do sistema LC-MS

Parâmetro	Condição
Amostrador	10 µL de injeção
Temperatura da coluna	40 °C
Vazão	0,400 mL min ⁻¹ .
Fonte	API-ES (ESI)
Gás	N ₂
Vazão do gás de secagem	10 mL min ⁻¹ .
Pressão do nebulizador	50 psi
Temperatura do gás de secagem	300 °C
Voltagem do capilar	3000 V

Parâmetro	Condição
Modo de detecção	SIM
Gradiente	Conforme Tabela 17

Fonte: O autor.

Tabela 17 - Gradiente do método

Tempo (minutos)	A (%)	B (%)
0	30	70
1	30	70
8	5	95
10	5	95
10,5	70	30
15	70	30

Fonte: O autor.

6.7 Padrão Interno e Padrão de Substituição

Padrão Interno é um composto quimicamente similar ao grupo de interesse, mas não se espera que ocorra na amostra. É uma substância em concentração definida a ser adicionada em padrões analíticos e amostras, antes da injeção do extrato da amostra no equipamento para verificar possíveis erros na análise da amostra no equipamento (RIBANI *et al.*, 2004).

Neste trabalho utilizou-se o trifenilfosfato na concentração de 500 µg/L. Para tal, foram adicionados 5 µL do padrão de trifenilfosfato na concentração de 100 mg L⁻¹ ao extrato final.

6.8 Plano de Validação

A validação seguiu um procedimento onde todas as etapas foram identificadas assim como os critérios para cada item da validação. No quadro 1 é apresentado o roteiro analítico para a realização da validação para análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de água.

Quadro1: Plano de Validação Agrotóxicos.

Parâmetro de Validação	Determinações	Critérios
Especificidade /Seletividade	Injetar água ultra pura 1 vez	Verificar Picos/íons no mesmo TR.
	Injetar Água para consumo humano 1 vez	
	Injetar solução de trabalho P1, 2 vezes (substância de referência) Para verificar contaminação cruzada, após a solução de trabalho:	
Faixa linear de trabalho	Pontos da curva de calibração: P1 ao P7	$r^2 = 0,99$
	Injetar a curva de calibração em água ultra pura	
	Injetar a curva de calibração em água para consumo humano	
	Pontos da curva de calibração: P1 ao P7	
Sensibilidade	Calculada a partir da curva de calibração	Calcular
Limite de Detecção	Do equipamento: A partir da curva de calibração.	S/N > 3
	Do método: Preparar fortificação em água para consumo humano	
Limite de Quantificação	Do método: Preparar fortificação em água para o consumo humano	S/N > 10
Exatidão/ Recuperação	Preparar as fortificação em água para consumo humano injetar 2 vezes do F1 ao F7	70 a 120%
Precisão	Repetibilidade ¹ ; considerando os resultados obtidos no primeiro dia de extração. Calcular a partir das fortificações .	<20%
	Precisão intermediária. Preparar as fortificação em água para consumo humano injetar 2 vezes do F1 ao F7	<20%
	Reprodutibilidade Não aplicável, a precisão intermediária é considerada a reprodutibilidade.	<20%
Robustez	Não aplicável	<20%
Incerteza	Calcular em função das recuperações, repetibilidade e reprodutibilidade e robustez.	Calcular

Fonte: O autor.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Seleção da coluna cromatográfica.

ZOCOLO (2012) recomenda o uso da fase C_{18} para análise de compostos polares, moderadamente polares e apolares, ácidos e bases ionizadas e compostas que diferem em hidrofobicidade. Além disso, apresenta como vantagens: atingir o equilíbrio mais rapidamente, a presença de água não influenciar na reprodutibilidade, apresenta sítios de adsorção mais homogêneos e a eluição por meio de gradiente é facilitada (ZOCOLO, 2012).

MASIÁ e colaboradores (2014), empregaram coluna Poroshel C_{18} em equipamento *Agilent 1260 Infinity* idêntico ao utilizado na elaboração deste trabalho, e fase móvel A, água ultra pura, formiato de amônio e ácido fosfórico e, fase B, metanol, os autores obtiveram recuperações entre 67 e 107% e RSD entre 3 e 20% para 40 agrotóxicos (MASIÁ *et al.*, 2014).

Para determinação de mais de 400 agrotóxicos e utilizando LC-MS 1290 *Infinity* da *Agilent*, (ROBLES-MOLINA *et al.*, 2014) utilizaram uma coluna *Zorbax C₁₈* para a separação dos agrotóxicos. Para o método desenvolvido as faixas de recuperação ficaram entre 50 e 130% e limites de quantificação inferiores a $1\mu\text{g L}^{-1}$ para 44% dos compostos.

CASADO *et al.*, (2018), utilizando uma coluna de separação cromatográfica *Accucore C₁₈* e como fase móvel uma mistura de água, metanol e os aditivos ácido fosfórico e formiato de amônio, obtiveram limites de quantificação abaixo de $5\mu\text{g L}^{-1}$ para 204 agrotóxicos de um total de 250 compostos analisados e 86% dos agrotóxicos recuperaram na faixa de 70-130% (CASADO; SANTILLO; JOHNSTON, 2018).

A utilização de uma coluna de separação com fase C_{18} de 1,5 cm de diâmetro com 150 mm de comprimento e $0,4\mu\text{m}$ de fase estacionária, foi possível a separação para posterior detecção do agrotóxico tiametoxam em amostras de água potável na concentração de $0,28\text{ mg L}^{-1}$. O valor está acima das diretrizes estabelecidas na União Europeia, de $0,1\text{ mg L}^{-1}$ para água potável (SULTANA *et al.*, 2018).

Dada a natureza multirresíduo e multiclasse para o método proposto, foi selecionada a coluna Zorbax eclipse C₁₈, com 2,1 cm de diâmetro, 150 mm de comprimento e fase estacionária de 5 µm.

7.2 Seleção do sorvente.

Em análises ambientais, particularmente no isolamento e pré-concentração de agrotóxicos em águas, o uso de sorventes como C₁₈ e estireno divinilbenzeno são os mais empregados (CALDAS, 2011).

Utilizando para a extração em fase sólida o sorvente C₁₈ para extração SPE de herbicidas e inseticidas (DUAVI, 2016), obteve recuperações apropriadas dos analitos. Atrazina, paration metil e simazina recuperaram 72, 78 e 73% respectivamente.

Avaliando compostos organofosforados em água e utilizando C₁₈ no preparo da amostra por extração em fase sólida, os autores obtiveram recuperações próximas a 100% para a maioria dos compostos e os RSD's variaram entre 3,5 e 7,3%, demonstrando o método adequado para análises de rotina no laboratório (WANG *et al.*, 2018).

Fuentes *et al.*, (2014), obtiveram limite de detecção de 1,0 µg L⁻¹ e recuperação de 101 ±10 % para o agrotóxico imidacloprido utilizando como sorvente C₁₈ no procedimento de extração em fase sólida (FUENTES; CID; BÁEZ, 2015).

O sorvente C₁₈, amplamente utilizado nas publicações da área de analítica, foi selecionado para o processo de extração deste estudo após revisão de literatura, onde autores verificaram a eficácia em métodos para a determinação de multirresíduos de agrotóxicos, conforme dados apresentados na Tabela 7.

7.3 Procedimento de extração

As principais vantagens do procedimento por SPE são os pequenos volumes de solventes orgânicos utilizados, em comparação com métodos analíticos como extração líquido/líquido ou por extração por ultrassom, e a purificação dos extratos. Desta foram os interferentes tem sua concentração reduzida o suficiente para permitir a determinação por LC-MS em 15 minutos e a possibilidade de confirmação do resultado pela geração de fragmentos, além do pico do íon molecular protonado.

Tabela 18 - Etapas na extração SPE

Quantidade de amostra	100 mL/ pH <3,5/ filtração papel fibra de vidro
Condicionamento do cartucho de extração	2x 3mL metanol 2x 3 mL água ultra pura (pH <3,5)
Percolação da amostra	3-5 mL/min
Lavagem cartucho	3 mL água ultra pura (pH<3,5)
Secagem do cartucho	Aproximadamente 10 min à vácuo
Eluição da amostra	2x (2 mL metanol/1 min) 1x (1 mL metanol/1 min)
Diluição do extrato	1:1 fase móvel (A/B)
Adição de Padrão Interno	5 µL trifetilfosfato

Fonte: O autor.

O pH da amostra foi ajustado para <3,5 para facilitar o processo de recuperação. O pH da amostra pode ser crítico para obtenção de uma retenção adequada dos agrotóxicos no sorvente. Por isso, em alguns casos, o ajuste do pH da amostra é necessário para estabilizar os agrotóxicos e aumentar sua retenção na fase sólida (CALDAS, 2011).

7.4 Determinação por LC-MS

Os íons monitorados para cada analito são apresentados no Quadro 2. Constam também o tempo de retenção (do inglês *RT: Retention Time*), o ganho ou amplificação do sinal (do inglês *gain*) e a energia do *fragmentor* utilizados.

Quadro 2: Compostos analisados por LC-MS, íons monitorados, tempo de retenção (RT) e demais parâmetros.

Ion (m/z)	Análito	RT (min)	Fragmentor(V)	Gain	Dwell time (msec)	Time (min)	Grupo
141	Metamidofos	0,841	150	1			
142	Metamitrion	0,846	150	1			
113	Hidrazina maleica	0,9	150	1			
184	Acefato	0,909	90	1			
182	Flutriafol	0,948	150	1			
292	Ciproconazol	0,949	90	1			
294	Tiametoxan	0,951	90	1			
202	Carbaril	0,952	150	1			
213	Mancozeb	0,953	150	1			
296	Ditianona	0,971	90	1			
258	Cianamida	0,978	200	1	14	0	1
256	Imidacloprido	0,982	90	1			
192	Carbendazin	1,055	90	1			
190	Triciclazol	1,181	200	1			
382	Metsulfuron metil	1,193	150	1			
291	Benomil	1,199	90	1			
290	Imazetapir	1,202	200	1			
357	Mesotriona	1,307	90	1			
355	Tiodicarb	1,308	90	1			
230	Dimetoato	1,392	250	1			
276	Metiran	1,393	250	1			
360	Cletodim	1,634	250	1			
508	Iodosulfuron metílico	1,652	150	1			
280	Metalaxim	1,656	90	1			
303	Metidationa	1,656	200	1			
415	Clorimurum etílico	2,119	150	1			
343	Tiofanato metil	2,225	150	1			
399	Etoxisulfuron	2,309	150	1	26	1,5	2
278	Fenitrotona	2,528	90	1			
372	Tetraconazol	2,711	200	1			
330	Epoxiconazol	2,928	150	1			
311	Diflubenzuron	3,21	200	1			
327	Trifenilfosfato(PI)	3,23	200	1			
370	loxinil octanoato	3,25	90	1			
368	Picoxistrobina	3,251	150	1			
267	Clortalonil	3,765	90	1			
314	Cresoxim metil	3,768	90	1			
315	Folpet	3,769	90	1	55	3,5	3
279	Fentiona	4,072	90	1			
327	Trifenilfosfato (pi)	4,267	90	1			
305	Diazinona	4,347	90	1			
406	Difenoconazole	5,387	250	1	83	5	4

Ion (m/z)	Analito	RT (min)	Fragmentor(V)	Gain	Dwell time (msec)	Time (min)	Grupo
553	Abamectina	5,743	200	1			
528	Idoxacarbe	5,744	90	1			
362	Fenoxaprop-p-etilico	6,55	150	1			
467	Lambda-cialotrina	8,908	90	1			
433	Cipermetrina	9,112	90	1			
438	Fipronil	9,324	200	1			
456	Fomesafem	9,327	90	1	47	8	5
442	Tembotriona	10,25	90	1			
181	Gama-cialotrina	10,884	90	1			
440	Bifentrina	10,886	90	1			

Fonte: O autor.

Com o objetivo de aumentar a área dos picos cromatográficos, variou-se a energia de fragmentação a fim de verificar a mais adequada para cada analito. As energias utilizadas foram 90, 150, 200 e 250 V. O Quadro 2 apresenta o resultado da avaliação individual.

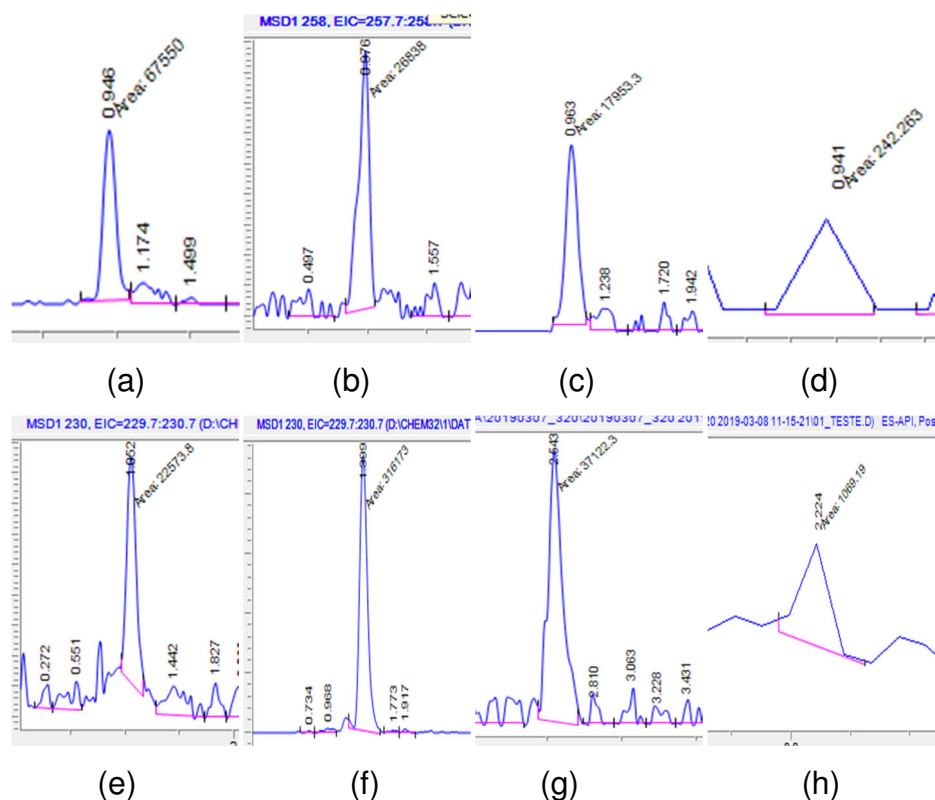
Para o composto flutriafol, a área do pico aumentou de 17.953 conforme Figura 12 a, com energia de fragmentação na fonte de íons 90 para 67.550 quando comparado à energia de 150 V do fragmentador de íon figura 12 b.

Já para a cianamida o melhor resultado foi para a energia de fragmentação 200 V, Figura 12 c, com área de 26.838, para o mesmo composto com energia de fragmentação em 250 V a área obtida foi de 242, figura 12 d.

Dimetoato teve um ganho de área em 1 casa decimal quando comparadas as energias de fragmentação de 150 V e 250 V, Figura 12 e e 12 f.

Por fim a fentiona passou de uma área 1.069, figura 12 g, para 37.122, figura 12 h, quando comparadas as energias de fragmentação 250 V e 90 V respectivamente. A figura 12 representa os cromatogramas individuais e as áreas obtidas para os compostos citados acima.

Figura 12 - Cromatogramas individuais e área do pico cromatográfico

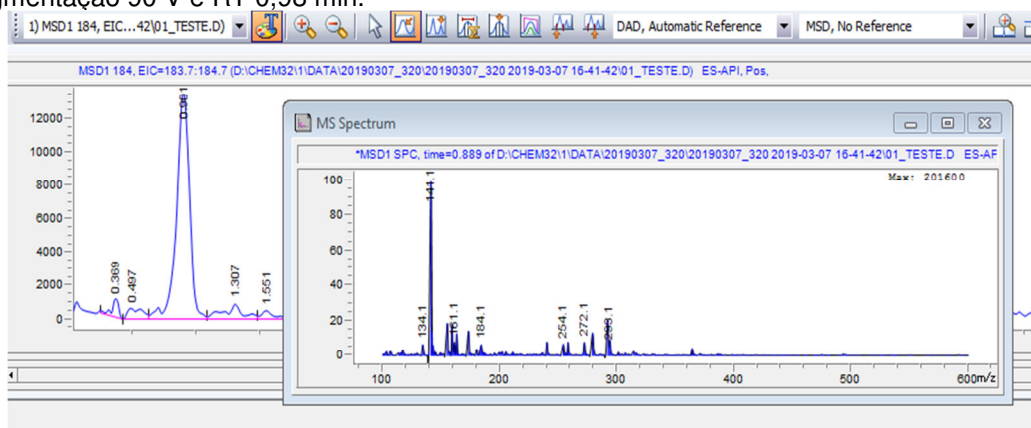


O método de aquisição SIM, utilizado para a análise, permite monitorar um íon para cada composto, que corresponde a molécula protonada ou aduto estável com o aditivo da fase móvel. (NH_4^+) para o modo positivo ou formiato para modo negativo.

Em casos de dúvida na quantificação dos compostos, é possível confirmar o analito através de uma nova injeção, utilizando para isso uma energia de fragmentação diferente.

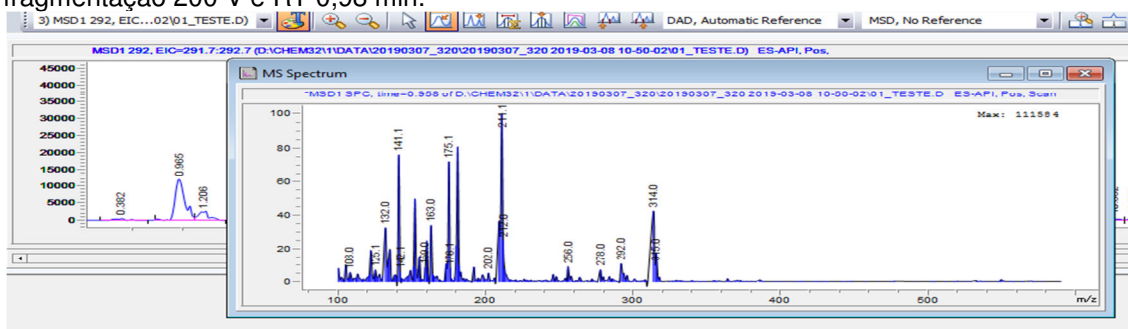
A figura 13 representa a injeção pelo método validado do agrotóxico acefato, no tempo de retenção de 0,98 min, íon monitorado 184 e energia de fragmentação 90 V.

Figura 13 - Cromatograma e espectro de massa do composto Acefato com energia de fragmentação 90 V e RT 0,98 min.



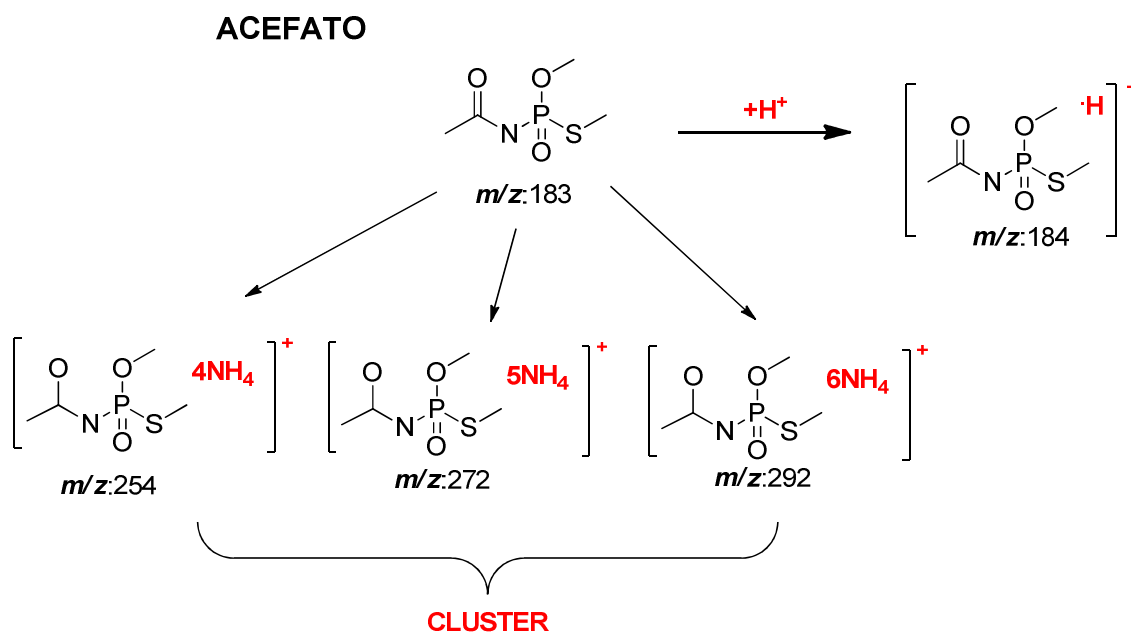
Uma nova injeção da mesma amostra, utilizando uma energia de fragmentação de 200 V, demonstra que os mesmos fragmentos de íon 292,254 e 272 aparecem no mesmo tempo de retenção, confirmando o analito, figura 14.

Figura 14 - Cromatograma e espectro de massa do analito Acefato com energia de fragmentação 200 V e RT 0,98 min.



Isto é justificado pela formação de adutos, no modo positivo de ionização com o íon amônio presente na fase móvel. O íon molecular do acefato, m/z 183 adquire um próton formando o fragmento de carga m/z 184 ($M + H$)⁺. Também se observa os fragmentos de carga m/z 292, 272 e 254, gerados a partir dos adutos NH_4^+ e $-H^+$, demonstrado na figura 15.

Figura 15 - Fragmentação acefato com fragmentos m/z 254, 292 e 272.



Fonte: O autor.

A verificação também foi realizada para os compostos epoxiconazol, imidacloprido e tiofanato metílico.

Figura 16 - Cromatograma e espectro de massa do epoxiconazol com energia de fragmentação 150 V e RT 2,7 min.

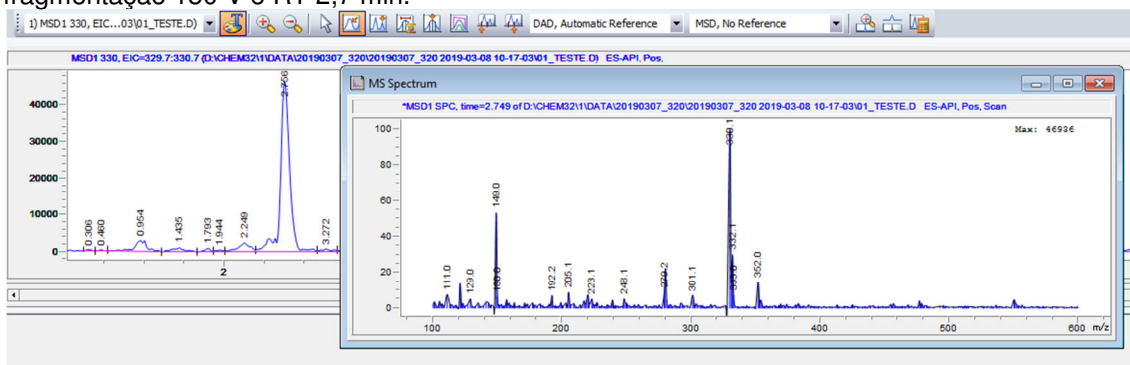
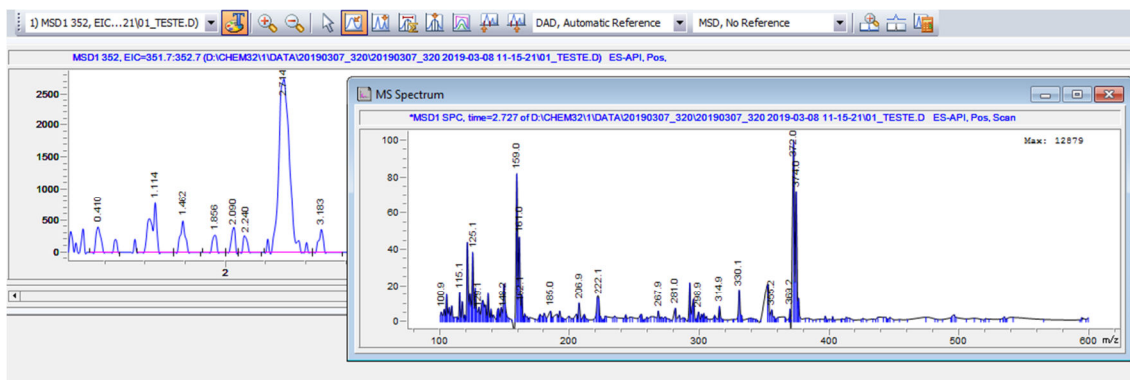
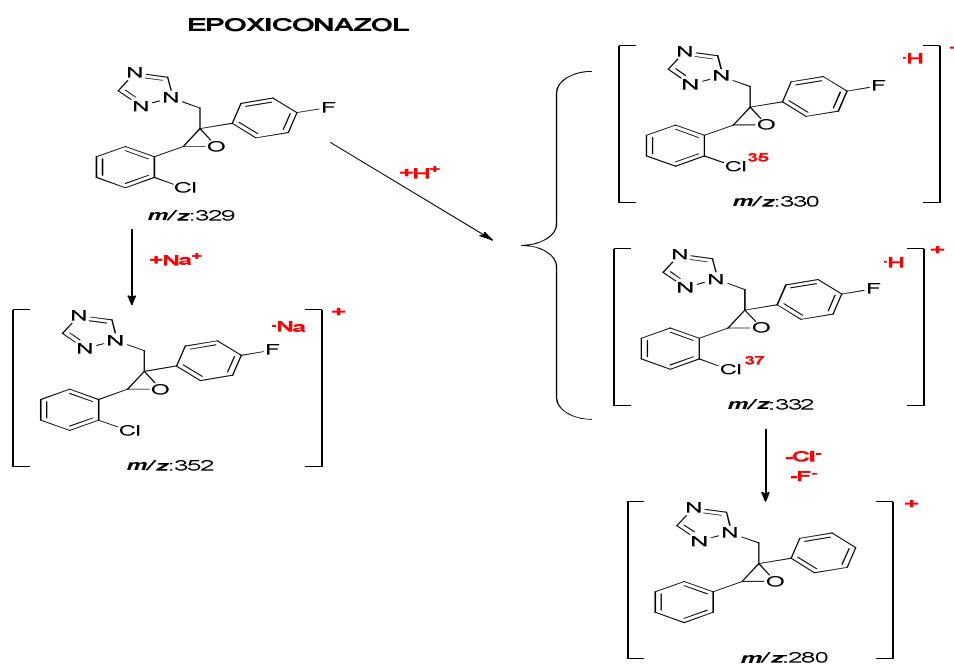


Figura 17 - Cromatograma e espectro de massa do analito Epoxiconazol com energia de fragmentação 250 V e RT 2,7 min.



O íon molecular do epoxiconazol m/z 329 ao adquirir um próton ($M+H$)⁺ forma o fragmento de massa com carga m/z 330. Verifica-se também a formação do fragmento de íon m/z 352 a partir do aduto ($M+Na$)⁺. Por fim, a formação dos íons de carga m/z 332 e m/z 280 demonstrados na figura 18, são obtidos a partir de ($M+3H$)⁺ e ($M+2H$)⁺ - Cl⁻ - F⁻ respectivamente.

Figura 18 - Fragmentação epoxiconazol



Fonte: O autor.

Figura 19 - Cromatograma e espectro de massa do analito Imidacloprido com energia de fragmentação 90 V e RT 0,97 min.

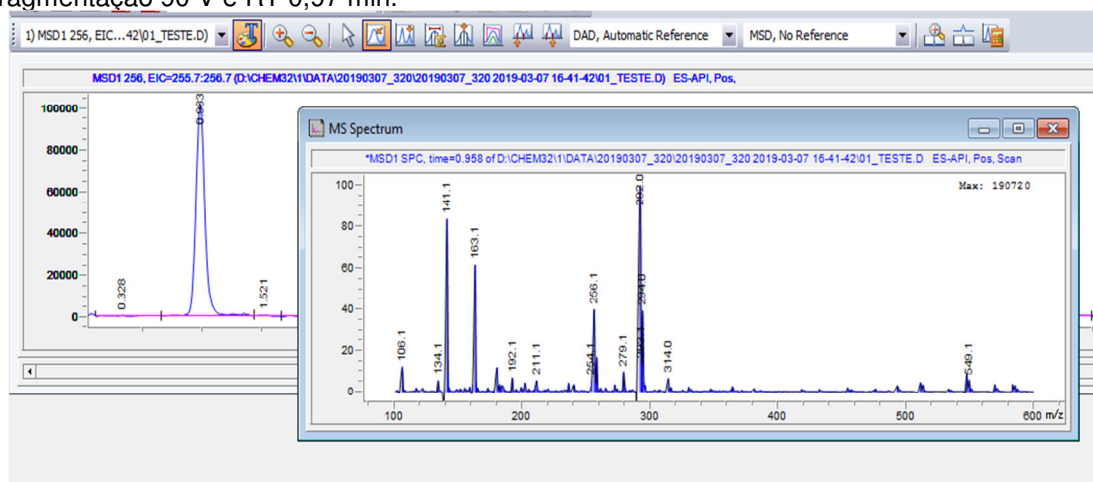
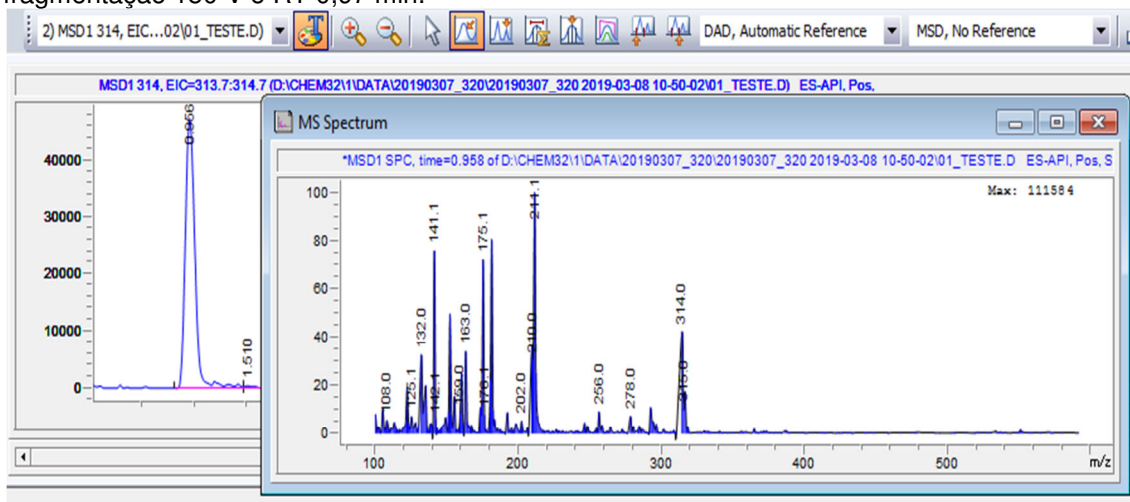
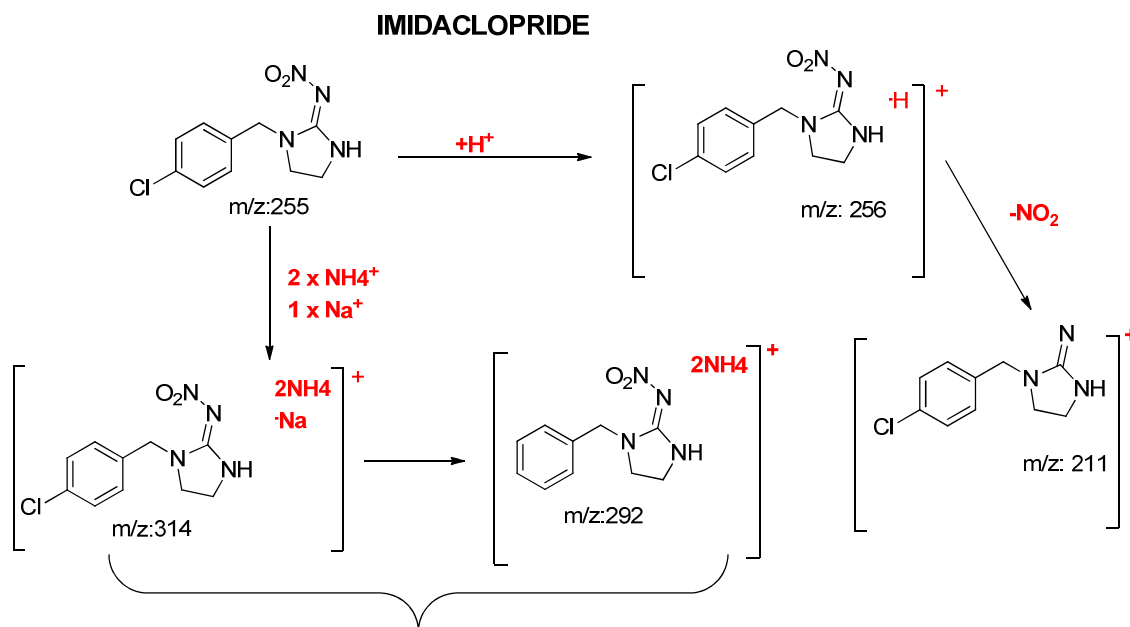


Figura 20 - Cromatograma e espectro de massa do analito Imidacloprido com energia de fragmentação 150 V e RT 0,97 min.



O composto imidacloprido apresenta a formação do fragmento m/z 256 a partir do próton $(M+H)^+$, e em seguida a partir do aduto $(M-NO_2)$ a carga m/z 211. Os fragmentos m/z 314 é formados a partir dos adutos $(M+2NH_4 + Na)^+$ seguindo com a carga m/z 292 a partir de $(M+2NH_4)$, figuras 19, 20 e 21.

Figura 21 - Fragmentação imidacloprido



Fonte: O autor.

Figura 22 - Cromatograma e espectro de massa do analito Tiofanato metílico com energia de fragmentação 150 V e RT 1,26 min

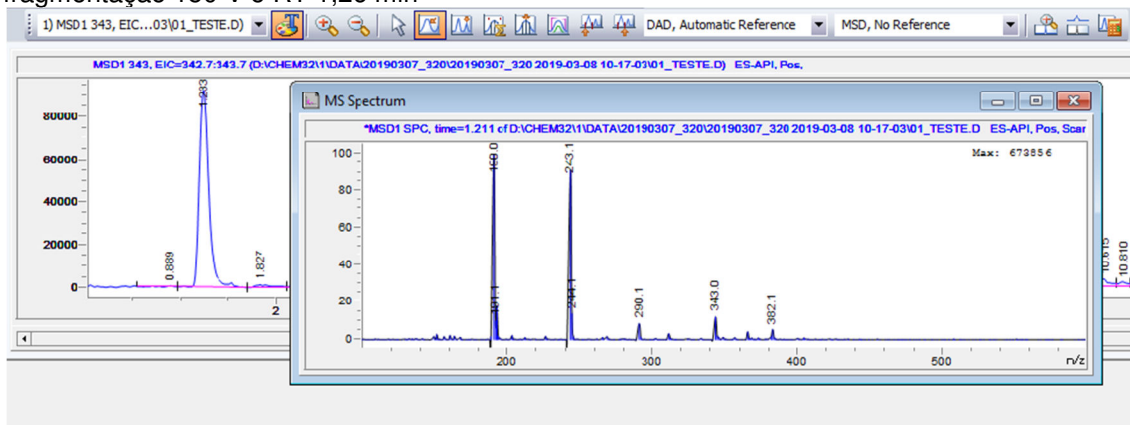
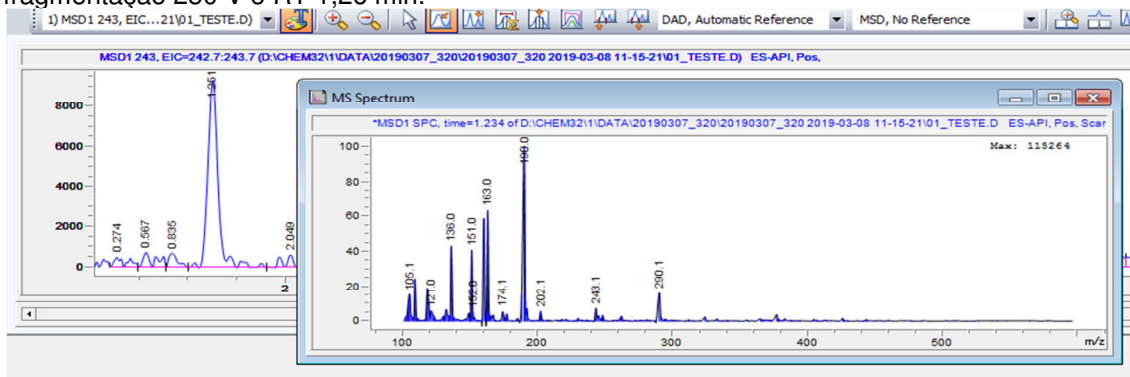
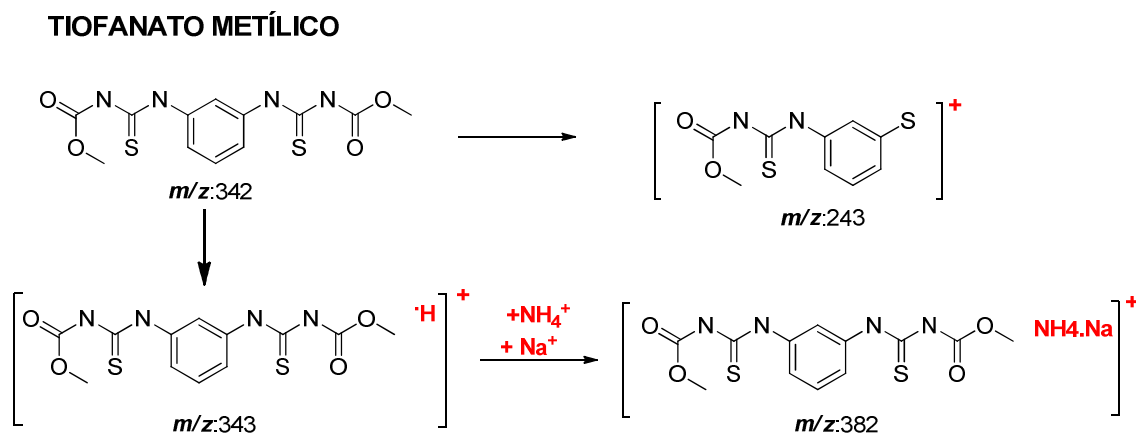


Figura 23 - Cromatograma e espectro de massa do analito Tiofanato metílico com energia de fragmentação 250 V e RT 1,26 min.



A carga m/z 243 para o composto tiofanato metílico ($M + H$)⁺ e m/z 243 é formada partir do íon molecular m/z 342. O fragmento m/z 382 ocorre a partir dos adutos (NH_4)⁺ e Na^+ conforme demonstrados nas figuras 22,23 e 24.

Figura 24 - Fragmentação tiofanato metílico



Fonte: O autor.

Um espectrômetro de massas do tipo quadrupolo simples monitora íons que são filtrados e direcionados ao detector. Um espectrômetro do tipo triplo quadrupolo, os íons selecionados a partir do primeiro quadrupolo são novamente fragmentados pelo segundo quadrupolo, pois este atua como célula de colisão. Estes fragmentos por sua vez são monitorados no terceiro quadrupolo e, só então, encaminhados ao detector. Isto gera uma vantagem em relação ao simples quadrupolo aumenta a seletividade do equipamento.

A possibilidade de variação do parâmetro fragmentação do quadrupolo simples utilizado neste trabalho possibilita que, ao variar a energia de fragmentação, uma nova "quebra" da molécula ocorra, gerando novos

fragmentos iônicos, possibilitando a confirmação do analito submetido a essas condições.

Ou seja, o analisador de massas tipo quadrupolar simples, de custo de aquisição e manutenção muito inferior quando comparado ao um triplo quadrupolo, utilizando variações na energia de fragmentação na fonte de íons, fornece informações com maior seletividade, se aproximando as fornecidas por equipamentos do tipo triplo-quadrupolo.

7.5 Curva analítica e Linearidade

A partir das áreas dos picos cromatográficos, obtidas pela injeção em duplicata das soluções analíticas da curva de calibração, foram calculadas as equações de reta, os coeficientes de determinação (r^2) e a faixa linear, mostrados na Tabela 19.

Tabela 19 - Equação da reta, coeficiente de determinação e faixa linear para cada analito.

Agrotóxico	Equação da reta	r^2	Faixa linear $\mu\text{g L}^{-1}$
Metamidofos	Y= 2212 - 25277	0,9916	0,25 - 7,5
Acefato	Y= 72 + 13594	0,9845	0,25 - 7,5
Fipronil	Y= 198 - 5122	0,9900	0,25 - 7,5
Tembotriona	Y= 313 + 11527	0,9988	0,25 - 7,5
Gama cialotrina	Y= 72 - 1650	0,9760	1,25 - 32,5
Metidationa	Y= 663 + 69345	0,9979	1,25 - 32,5
Carbaril	Y= 571 + 24281	0,9866	2,5 - 75
Cianamida	Y= 171 + 5855	0,9684	2,5 - 75
Dimetoato	Y= 1215 + 9762	0,9983	2,5 - 75
Epoxiconazol	Y= 1267 + 14193	0,9955	2,5 - 75
Diazinona	Y= 15102 + 24963	0,9950	2,5 - 75
Abamectina	Y= 308 + 13216	0,9915	2,5 - 75
Fenoxaprop-p-etilico	Y= 3599 + 8976	0,9971	2,5 - 75
Fomesafem	Y= 423 + 3025	0,9883	2,5 - 75
Mesotriona	Y= 3882 + 19405	0,9938	5- 150
Fenitrotiona	Y= 273 + 15561	0,9554	5- 150
Tetraconazol	Y= 2484 + 8592	0,9958	5- 150
loxinil octanoato	Y= 1260 + 8914	0,9956	5- 150
Fentiona	Y= 6431 + 817064	0,9648	5- 150
Lambda cialotrina	Y= 177 + 2750	0,9889	5- 150
Ciproconazol	Y= 44676 + 106837	0,9809	12,5 - 325
Flutriafol	Y= 592 + 1831	0,9923	12,5 - 325
Ditianona	Y= 691 + 20280	0,9820	12,5 - 325

Agrotóxico	Equação da reta	r ²	Faixa linear µg L ⁻¹
Metsulfuron metil	Y= 7410 + 8972	0,9890	12,5 - 325
Imazetapir	Y= 9447 + 18243	0,9944	12,5 - 325
Cletodim	Y= 206 + 111	0,9846	12,5 - 325
Clorimuron etílico	Y= 2507 + 16064	0,9522	12,5 - 325
Difenoconazole	Y= 8833 + 38	0,9897	12,5 - 325
Indoxacarbe	Y= 8086 + 4004	0,9982	12,5 - 325
Benomil	Y= 4605 + 10600	0,9947	25 - 750
Bifentrina	Y= 97591 + 16527	0,9985	25 - 750
Carbendazin	Y= 1278700 + 150957	0,9754	25 - 750
Cipermetrina	Y= 20616 - 2445	0,9896	25 - 750
Clorotalonil	Y= 30665 + 25554	0,9966	25 - 750
Cresoxin metil	Y= 353672 + 64100	0,9996	25 - 750
Diflubenzuron	Y= 4521 + 555	0,9825	25 - 750
Etoxisulfuron	Y= 68102 + 8548	0,9939	25 - 750
Folpet	Y= 59145 + 53233	0,9985	25 - 750
Hidrazina Maleica	Y= 4328 + 2514	0,9833	25 - 750
Imidacloprido	Y= 56483 + 127765	0,9867	25 - 750
Iodosulfuron metílico	Y= 17670 + 6605	0,9948	25 - 750
Mancozeb	Y= 7952 + 11464	0,9780	25 - 750
Metalaxil	Y= 3077284 + 316658	0,9894	25 - 750
Metamitron	Y= 20600 + 14308	0,9917	25 - 750
Metiran	Y= 21560 + 7943	0,9986	25 - 750
Picoxistrobina	Y= 68183 + 20294	0,9970	25 - 750
Tiametoxam	Y= 104668 + 34969	0,9759	25 - 750
Tiodicarb	Y= 270130 + 73120	0,9947	25 - 750
Tiofanato metil	Y= 200850 + 149182	0,9789	25 - 750
Triciclazol	Y= 947552 + 612844	0,9907	25 - 750

Fonte: O autor.

Para atender aos requisitos de controle do laboratório, o critério de aceitação para linearidade é r^2 é de 0,99 para ensaios de multirresíduos. Os agrotóxicos acefato, carbaril, carbendazin, cianamida, cipermetrina, ciproconazol, cletodim, clorimuron etílico, ditianona, difenoconazol, diflubenzuron, ditianona, fenitrotiona, fentiona, fomesafem, gama cialotrina, imidacloprido, hidrazina maleica, lambda cialotrina, mancozeb, metalaxil-m, metsulfuron metil, tiametoxan, e tiofanato metílico apresentaram r^2 inferior a 0,99, mas superiores a 0.9522.

No entanto, o laboratório utiliza cartas controle de fortificações e duplicatas como garantia da qualidade dos ensaios uma vez que somente a

curva de calibração, de acordo com os critérios do laboratório, não garante a qualidade do ensaio. Esta ferramenta permite avaliar tendências do método através de gráficos e tabelas e também justificar possíveis variações nos ensaios causados por diferentes de analistas, atualizações de curvas de calibração, etc.

7.6 Efeito matriz

O efeito matriz é recomendado na validação de métodos analíticos a fim de avaliar se a precisão, exatidão e sensibilidade serão afetadas (RIZZATO PASCHOAL *et al.*, 2008).

O efeito matriz, também conhecido como aumento ou redução da resposta cromatográfica, pode influenciar nas taxas de recuperações dos agrotóxicos além de mascarar o analito de interesse, gerando um resultado incorreto. Para este estudo, o efeito matriz foi avaliado através da comparação dos coeficientes angulares das equações da reta da curva de calibração preparada em solvente e no extrato da matriz. O critério de aceitação estabelecido para a interferência do efeito matriz foi de 10% (PINHO *et al.*, 2009).

A tabela demonstra para todos os agrotóxicos analisados efeito menor que 10%, evidenciando que a matriz água para consumo humano não afetou significativamente a resposta analítica. Isto significa não haver necessidade do preparo de curva de calibração em extrato da matriz (PINHO *et al.*, 2009).

Tabela 20 - Efeito matriz para os agrotóxicos deste estudo.

Agrotóxico	Efeito matriz (%)
Metamidofós	6
Acefato	-7
Fipronil	3
Tembotriona	-4
Gama cialotrina	5
Metidationa	1
Carbaril	-7
Cianamida	2
Dimetoato	4
Epoxiconazol	7
Diazinona	8

Agrotóxico	Efeito matriz (%)
Abamectina	-4
Fenoxaprop-p-etílico	-5
Fomesafem	-6
Mesotriona	2
Fenitrotona	-8
Tetraconazol	2
loxinil octanoato	2
Fentiona	-8
Lambda cialotrina	9
Ciproconazol	2
Flutriafol	-7
Ditianona	9
Metsulfuron metil	-4
Imazetapir	-3
Cletodim	-8
Clorimuron etílico	-2
Difenoconazol	6
Indoxacarbe	-5
Benomil	-3
Bifentrina	2
Carbendazim	-5
Cipermetrina	-3
Clorotalonil	-2
Cresoxin metil	-8
Diflubenzuron	9
Etoxisulfuron	9
Folpet	-6
Hidrazina meleica	4
Imidacloprido	6
Iodosulfuron metílico	3
Mancozeb	-3
Metalaxil-m	-5
Metamitrona	1
Metiram	-1
Picoxistrobina	-3
Tiametoxan	8
Tiodicarb	7
Tiofanato metílico	5
Triciclazol	-9

Fonte: O autor.

7.7 Exatidão e precisão

Os dados de exatidão e precisão estão apresentados em tabelas de acordo com o nível de concentração dos grupos de analitos. As tabelas 21, 22, 23, 24, 25 e 26 apresentam os dados obtidos para as recuperações médias percentual e o RSD% para os 50 agrotóxicos. Foram avaliados sete níveis de fortificações onde as concentrações variaram entre 0,025 e 75 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Neste estudo a faixa aceitável para o percentual de recuperação para métodos multirresíduo de agrotóxicos foi de 70 e 120% e o RSD menor do que 20% (INMETRO, 2016; ANVISA, 2017; SANTE, 2017). As recuperações foram calculadas utilizando-se as curvas de calibração obtidas e as amostras fortificadas foram extraídas de acordo com o método proposto. Foram utilizadas as áreas obtidas nos ensaios em sete níveis de fortificação (F1 a F7).

As tabelas 21 a 26 mostram que 85% dos agrotóxicos analisados apresentam resultados de recuperação entre 70 e 120%. Para esses compostos, os resultados de precisão ficaram abaixo de 20%, sendo considerados satisfatórios entre os níveis avaliados.

Para os agrotóxicos do grupo A metamidofós, fipronil e tembotrina, Tabela 21, as recuperações e RSD ficaram satisfatórias a partir da concentração de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o agrotóxico acefato a partir de 0,175 $\mu\text{g L}^{-1}$. Compostos organofosforados como acefato e metamidofós quando preparados em solvente puro se adsorvem ou degradam no sistema de injeção, devido ao estresse térmico da análise cromatográfica, isto pode justificar os maus resultados obtidos para os níveis F1 e F2. Pesquisadores dos estados Unidos também obtiveram índices baixos de recuperação para o agrotóxico Tembotriona ao avaliar a qualidade da água do Rio Mississippi em 2013. Segundo autores, devido sua baixa solubilidade em água, as recuperações variaram entre 44,5 e 68,7% para concentrações de 12,5 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente (TAGERT; MASSEY; SHAW, 2014).

Na Tabela 22, gama cialotrina e metidationa tiveram recuperações e RSD satisfatórios entre os níveis de concentrações 0,5 e 3,25 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os níveis F1 e F2 para os agrotóxicos do grupo B, não apresentaram sinal cromatográfico para estes agrotóxicos.

A Tabela 23, agrotóxicos do grupo C, mostra que carbaril, cianamida, dimetoato, epoxiconazol, diazinona, fexoprop-p-etílico recuperaram adequadamente a partir do nível de concentração F2, que corresponde a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Para abamectina e fomesafem as respostas das fortificações satisfatórias ficaram entre $1,0$ e $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Ditianona e dimetoato também foram avaliados em estudo sobre determinação de organofosforados por cromatografia líquida. Percebe-se que para as fortificações F1 e F2, onde as concentrações variam entre $0,25$ e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ os sinais cromatográficos não responderam adequadamente. Para a concentração de $0,3$ e $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ as recuperações ficaram em torno de 40%. Em outro trabalho também se observa que somente em concentrações acima de $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ foram obtidos resultados satisfatórios para recuperação e RSD (CATALÁ-ICARDO; LAHUERTA-ZAMORA; TORRES-CARTAS, 2014).

Todos os 7 níveis de fortificações e RSD ficaram satisfatórios para os agrotóxicos tetraconazol e ioxinil octanoato, mesotriona, fenitrotriona, fentiona e lambda cialotrina, conforme demonstrado na tabela 24, os agrotóxicos do grupo D obtiveram recuperações entre 70,7 e 116,8% e RSD variando entre 0,5 e 19,9% para os níveis fortificados entre $1,0$ e $15 \mu\text{g L}^{-1}$. Em um estudo realizado na Espanha em 2013, os autores utilizaram analisador de massas triplo quadrupolo para avaliar agrotóxicos em água. Mesmo com a alta detectabilidade do equipamento, diazinona e fentiona recuperaram para a faixa de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ abaixo de 70%. Isto explica a dificuldade de recuperação neste estudo para os níveis baixos de fortificação, uma vez que o analisador de massas utilizado foi um quadrupolo simples (MASIÁ *et al.*, 2014).

Para os agrotóxicos do grupo E, tabela 25, indoxacarbe apresentou recuperação e RSD adequados em todos os níveis fortificados. A partir do segundo nível fortificado, de concentração $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$, ficaram dentro dos critérios estabelecidos os agrotóxicos ciproconazol, flutriafol, metsulfurom metil, imazetapir, cletodim, clorimuron etílico e difenoconazol. Ditianona recuperou adequadamente entre as concentrações 5 e $32,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Para os agrotóxicos do grupo F, apresentados na tabela 26, etoxisulfuron, folpet e picoxistrobina entre as concentrações $2,5$ e $75 \mu\text{g L}^{-1}$, todos os níveis ficaram satisfatórios para recuperação e RSD. Benomil, bifentrina, carbendazin, cipermetrina, clorotalonil, cresoxin metil, diflubenzuron,

hidrazina maleica, iodosulfuron metílico, mancozeb, metalaxil, matamitrion, metiran, tiametoxan, tiodicarb, tiofanato metílico, triciclazol somente atenderam aos critérios de recuperação e RSD a partir de do segundo nível fortificado de $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Bifentrina e cipermetrina não recuperaram para o nível de concentração de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Em um estudo avaliando as técnicas de extração SPE e SPME para determinação de piretróides em água, os autores também não obtiveram recuperações adequadas para estes dois agrotóxicos na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$. As faixas de recuperações ficaram abaixo de 70% utilizando como sorventes sílica e C18 e hexano e acetonitrila como solventes (BARRIONUEVO REGINA; LANÇAS MAURO, 2001).

. Após avaliação sobre a degradação do agrotóxico carbendazin, os autores perceberam que está tinha diminuída a sua intensidade quando em meio ácido. O fato de as fortificações terem sido acidificadas justificam as boas recuperações para o carbendazin, que variaram entre 77,1 e 117,5% para concentrações de 5 a $75 \mu\text{g L}^{-1}$ (STARLING et al., 2018).

Percebe que outros autores também apresentam dificuldades de recuperação em níveis muito baixos de concentração, mesmo variando alguns parâmetros da técnica como coluna, solvente e fase móveis utilizadas. Neste trabalho, alguns agrotóxicos não apresentaram sinal cromatográfico para os de concentração F1, F2 e F3, ou foram obtidos resultados insatisfatórios para recuperação e RSD conforme os critérios estabelecidos. Isto pode ter ocorrido devido à perda do analito durante a extração SPE. Nas etapas de percolação e eluição, podem ocorrer perdas. Também podem ocorrer perdas na etapa da secagem do cartucho. Porém, quando testados em concentrações maiores, os resultados ficaram satisfatórios atendendo os critérios de aceitação para a validação.

Embora alguns agrotóxicos tenham resultados insatisfatórios para recuperação e RSD, nenhum foi considerado não validado. Os limites máximos permitidos para a Portaria 320 foram todos atendidos considerando o primeiro nível de fortificação com critérios adequados para cada agrotóxico. Por exemplo, o agrotóxico metamidofós não recuperou adequadamente para a concentração de 0,025. No entanto o limite de quantificação atingido pelo método foi de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, abaixo do VMP ($4,8 \mu\text{g L}^{-1}$) estabelecido pela Portaria

320. O mesmo se evidencia para o agrotóxico abamectina. Obteve seu primeiro nível de fortificação adequado na concentração de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. O limite para este agrotóxico na portaria 320 é de $12 \mu\text{g L}^{-1}$. Logo, mesmo com resultados insatisfatórios em alguns níveis, todos os agrotóxicos estudados neste trabalho foram considerados validados pelo método proposto.

Tabela 21- Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo A.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,025 µg L ⁻¹		0,050 µg L ⁻¹		0,1 µg L ⁻¹		0,175 µg L ⁻¹		0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		0,75 µg L ⁻¹	
Metamidofos	238,4	8,7	116,6	2,8	104,5	3,8	77,7	2	102,1	2,8	92,1	1,1	97,1	0,5
Acefato	-	-	-	-	-	-	109,6	8,3	79,5	6,8	95,3	4,9	103,1	4
Fipronil	-	-	-	-	116	0,9	111,2	4	88,5	7,5	103	2,7	100,1	1,1
Tembotriona	148,3	11	-	-	118,9	3	116,7	7,6	93,6	4,7	105,7	3	100,3	1,3

Tabela 22- Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo B.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,125 µg L ⁻¹		0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		0,875 µg L ⁻¹		1,25 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		3,25 µg L ⁻¹	
Gama cialotrina	-	-	-	-	113,8	3,7	100,3	4,7	109,1	4,9	90,7	9	88,6	1,3
Metidationa	-	-	-	-	78,8	7,9	92,4	5	95,8	3,6	88,2	1,4	95,4	0,8

Tabela 23 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo C.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		1,75 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		7,5 µg L ⁻¹	
Carbaril	-	-	91,4	2,5	100,5	15,1	102,5	6,6	88,9	2,7	101,7	4,2	101,6	3,7
Cianamida	-	-	90,8	1,8	108,7	7	96,3	15,4	97,4	15,7	110,4	7,5	99,7	6,9
Dimetoato	33,7	29	79,1	6	92,9	8	106,3	3,4	95	2,3	93,6	1,3	92,8	1,1
Epoconazol	49,1	29,1	104,9	6,6	77,9	1,7	95	3,8	92,3	2,8	93,7	2,4	93,6	1

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		1,75 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		7,5 µg L ⁻¹	
Diazinona	143,6	6,3	102,9	12,3	110	7,4	96,9	5	94,1	3,3	84,5	1,8	94,2	2,7
Abamectina	197,7	7,3	-	-	83	15,6	104,4	5,9	106,1	3,9	104,3	2,6	112,8	3,7
Fenoxaprop-p-etilico	55,2	8,9	73,5	4,1	97,1	5,3	105,7	3,1	95,8	3,1	79,8	2,7	80	2,3
Fomesafem	-	-	-	-	105,2	3,9	102,3	7,1	97,1	4,2	93,6	6,6	101,7	15,9

Tabela 24 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo D.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		2,0 µg L ⁻¹		3,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		15,0 µg L ⁻¹	
Mesotriona	8,3	100	82,6	5,7	100	2,8	107,7	3,2	99,5	4,3	86	2,1	110,2	1,5
Fenitrotiona	-	-	94,4	2,3	97,5	1,9	83,1	3,2	115,3	2,9	98,9	11,7	91,5	2
Tetraconazol	105,5	19,6	90,4	16,6	113,7	4	103,8	4,1	107,8	4,6	102,9	2,2	94,1	3,2
loxinil octanoato	96,8	51,1	93,5	17	99,8	9,1	103,1	4,9	102,2	2,8	93	3,6	95,1	3,3
fentiona	-	-	90,7	3,2	111,1	4,1	84,5	3,2	112,8	3,5	101,7	8,7	93	3,1
Lambda cialotrina	33,7	27,8	102,2	2,5	102,6	6	85,9	5,2	77,5	2,5	106,3	3,5	80,4	1,8

Tabela 25 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo E.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	1,25 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		8,75 µg L ⁻¹		12,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		32,5 µg L ⁻¹	
Ciproconazol	-	-	96,3	4,4	84,6	1,6	119,8	2,7	110,5	1,2	97,2	1,3	85,5	1,3
Flutriafol	-	-	90,4	9,5	103,5	2,3	103,5	1,9	118,6	2,5	97,2	4,4	88,9	1,6
Ditianona	-	-	-	-	96,4	2,2	77,6	8,4	103	2	88,2	1,8	96,1	1,5
Metsulfuron metil	-	-	93,3	6,3	97,9	4,1	104,8	3,4	91,2	2,2	82,7	0,8	90,5	1
Imazetapir	36,3	32,5	94,3	6	116,3	3	109,3	3,9	97,4	2,8	100,6	1,2	102,9	6,6
Cletodim	-	-	102,6	4,5	111,1	7,1	108,3	2,7	80,2	5,4	104	3,5	104,2	0,8
Clorimuron etílico	56,3	39,6	79,4	19,3	84,2	7,8	93,5	1,9	74,1	10,1	79,5	6,4	89,6	11,5
Difenoconazole	153,6	7	109,3	3,9	101,1	1,7	97,4	1,7	91,4	0,4	85,2	1,9	104,5	6,2
Indoxacarbe	96,2	2,4	114,6	2,5	103	2,8	99,8	2,9	93,6	1,5	89,1	0,5	103,9	0,9

Tabela 26 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para cada nível de fortificação para os analitos do grupo F.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		17,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		50,0 µg L ⁻¹		75,0 µg L ⁻¹	
Benomil	-	-	87	18,8	86,3	15,1	95,7	4,2	117	6,9	112,3	2,9	105	3,7
Bifentrina	50,2	8,5	115,2	10,9	102,3	3,6	108	5,1	95,9	4,7	97	2	95,4	1,9
Carbendazin	-	-	97,4	2,8	94,9	7,8	74,5	2,3	80	1,1	108,7	0,9	97,7	0,5
Cipermetrina	-	-	114,3	3,2	103,6	3,5	102,2	4,7	99,1	2,6	75,2	4,8	110,3	4,5
Clorotalonil	138,9	14	118,4	10,8	96	7,3	114,1	3,4	89,6	2,5	84,1	3,2	102,4	6,4
Cresoxin metil	64,3	11,6	91	3,9	100,2	1,3	107	1,2	70,8	1,8	93,4	2,1	99,8	0,7
Diflubenzuron	-	-	119,6	2,4	76,7	16,1	107,9	2	75,4	3,9	78,2	4,8	87,3	0,9

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		17,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		50,0 µg L ⁻¹		75,0 µg L ⁻¹	
Etoxisulfuron	119,3	15,1	86,1	6,2	89,2	4,8	100,6	3	79,7	2	87,9	2,7	104,6	3,9
Folpet	86,8	19	96	3,6	87,2	9,2	114,5	1,5	99,6	6,9	111,6	2,4	109,2	5,2
Hidrazina Maleica	31	30,1	70,8	2,1	114,7	3,3	104	11,3	107,9	2	108	2,8	89,4	9,3
Imidacloprido	-	-	91,7	3,5	109,2	2,4	116,9	4,7	110,1	7	96,5	1,4	107,6	2,3
Iodosulfuron metilico	-	-	73,7	6,5	87,7	3,1	95,6	3,3	83,2	2,8	78,7	2,6	74,9	3
Mancozeb	-	-	105,9	16,4	88,4	5,2	96,8	2,5	96,3	6,4	77,8	2,3	96,2	3,1
Metalaxil	-	-	110,8	14,3	105	1,9	83,3	0,6	119,4	2,1	103,6	1,9	91,4	0,4
Metamitron	-	-	73,9	2,7	77,1	4	91,4	7,9	140,3	2,9	96,5	3,1	84,9	1,2
Metiran	31,8	31,9	75,6	6,3	96,9	5,2	102	2,6	99,5	1,8	103,3	3,8	98,3	2
Picoxistrobina	96,7	10,4	88,1	10,4	106,5	6	105,3	2,9	97,4	6,3	93,9	2,8	95,4	0,8
Tiametoxam	-	-	102,4	1,5	120	8,1	103,3	5	104	2,1	97	2,2	105,3	1,6
Tiodicarb	23,7	11,3	87,5	5,1	96,4	2,1	104,5	1	93,2	1,9	84,1	1,7	97,2	2,1
Tiofanato metil	-	-	71,5	6,7	114,4	3,9	116,9	2,7	108,9	2,8	106,5	3	86,2	4,3
Triciclazol	-	-	83,6	3,2	119,4	1,2	107,1	1,8	110,2	3,1	98,2	2,7	95,2	2

7.8 Precisão Intermediária

A precisão intermediária foi avaliada pela análise das amostras branco fortificadas para sete níveis de concentração, conforme demonstrados na tabela 27, 28, 29, 30, 31 e 32. As tabelas apresentam os resultados de recuperação e RSD da precisão intermediária de acordo com o nível de concentração descrito na tabela 12. As extrações foram realizadas pelo mesmo analista em dias diferentes. A avaliação foi considerada satisfatória para os compostos que com RSD abaixo de 20%.

As tabelas 27 a 32 mostram que 87% dos agrotóxicos os resultados das médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária ficaram satisfatórios. Para os resultados considerados insatisfatórios, os resultados estão concentrados entre os níveis mais baixos de fortificação, com concentrações entre 0,05 e 5 μgL^{-1} . Embora o equipamento utilizado tenha boa sensibilidade, muitas vezes, devido à baixa concentração é difícil recuperar o analito, por isso a importância da determinação do LQ experimental e não somente pela curva de calibração.

Os compostos insatisfatórios na avaliação da exatidão repetiram o comportamento para a precisão intermediária, confirmando os dados obtidos naquela etapa da validação.

Tabela 27 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo A.

	Rec (%)		RSD (%)		Rec (%)		RSD (%)		Rec (%)		RSD (%)		Rec (%)		RSD (%)	
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7			
	0,025 µg L ⁻¹		0,050 µg L ⁻¹		0,1 µg L ⁻¹		0,175 µg L ⁻¹		0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		0,75 µg L ⁻¹			
Metamidofos	251,2	5,2	124,5	5,5	108,3	8,6	78,7	2,2	100,8	2,8	91,7	1	83	0,1		
Acefato	-	-	-	-	-	-	96,8	14,4	92,5	5,2	98,1	2,2	99,3	3,4		
Fipronil	-	-	-	-	119,7	0,4	108,9	1,5	87,5	3,1	103,1	1,7	100,1	1,1		
Tembotriona	176,7	9,9	-	-	118,2	2,3	119,6	1,8	94,4	1,2	103,8	0,7	100,6	0,7		

Tabela 28 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo B.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,125 µg L ⁻¹		0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		0,875 µg L ⁻¹		1,25 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		3,25 µg L ⁻¹	
Gama cialotrina	-	-	-	-	115	3,1	95,6	2,4	113,8	1,3	88,7	5,1	88,2	2,3
Metidationa	-	-	-	-	86,5	7,8	95,1	3,6	100,7	5,2	76,5	3,4	94,2	7,1

Tabela 29 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo C.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		1,75 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		7,5 µg L ⁻¹	
Carbaril	-	-	99,9	6,7	99,5	6	114,4	4,1	96,7	2,7	78,9	0,7	101,2	2,6
Cianamida	-	-	79,9	6,8	88,9	6,6	112,5	5,4	106,2	3,3	91,1	5,3	104,5	3,4
Dimetoato	22,8	35,2	71,1	8,1	100,5	3,5	86,3	2,7	95	2,3	93,5	1	86,3	2
Epoxiconazol	46,4	12,6	109,8	4	98,5	2,1	89,1	4,7	92,3	1,4	92,1	0,9	91,7	2,1

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,25 µg L ⁻¹		0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		1,75 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		7,5 µg L ⁻¹	
Diazinona	131,5	4,4	104,9	4,5	118,9	6,8	98,3	4,2	88	3	84,5	2,6	87,8	3,3
Abamectina	162,8	39,3	-	-	102,7	12,6	99,5	1,3	112,6	5,1	98,4	3,3	81,1	1,1
Fenoxaprop-p-etilico	55,6	8,9	84,5	1,5	91	1	94	8,4	88,9	0,9	92,3	6,6	81,1	0,7
Fomesafem	-	-	-	-	85,2	9,9	100,4	4,4	88,9	5,2	91,6	2,6	90,4	6,8

Tabela 30 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo D.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	0,5 µg L ⁻¹		1,0 µg L ⁻¹		2,0 µg L ⁻¹		3,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		15,0 µg L ⁻¹	
Mesotriona	9,9	112,2	70,7	13,6	91,9	3,8	108,6	2,2	110,7	3,8	84,8	3,4	87,7	1,5
Fenitrotiona	-	-	80,4	2,1	104,5	1	116,8	11,7	101,2	1,8	101,1	7,3	1,5,3	0,7
Tetraconazol	99,5	8,4	85	5,4	114,5	6,9	109,8	3,4	85,2	2,2	100,1	2,3	98,5	1
loxinil octanoato	76,9	19,9	76	8,6	107,8	4,6	107,4	3	104,9	3,3	94,8	0,6	93,7	1,8
fentiona	-	-	103,6	7,2	91,4	0,5	99,5	3,3	77,7	4,4	116,4	2,3	89,3	2,5
Lambda cialotrina	-	-	112,2	3,3	89,3	4,1	76,3	6,9	91	2,9	97,6	2,7	90,2	2

Tabela 31 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo E.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	1,25 µg L ⁻¹		2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		8,75 µg L ⁻¹		12,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		32,5 µg L ⁻¹	
Ciproconazol	16,4	124,9	95,2	0,6	76,8	0,5	106,3	9,1	111,2	0,5	79,9	2,1	127,9	2,9
Flutriafol	-	-	76,8	10,1	119,7	4,5	82	8,7	102,3	1,5	74,5	3,4	85,3	5,5
Ditianona	-	-	-	-	81	8,6	74	7,7	86	0,5	94,8	4,1	95,8	1,4
Metsulfuron metil	66,6	7,2	92,5	4,8	99,7	5	102,6	1,7	85,9	1,4	85,3	2	103,2	2,1
Imazetapir	39,7	15	96,4	1,8	115,2	0,7	109,8	0,9	105,3	4,4	105,3	1,3	110	0,8
Cletodim	-	-	113	3,5	103,4	7	111,5	2,3	85,9	1,3	104,2	1,9	103,6	1,4
Clorimuron etílico	214,4	15,9	106,1	1,8	116,8	2,7	89,9	1,5	77,6	15,1	115,3	112,8	73,1	2,6
Difenoconazole	160,4	7,6	103	4,7	103,2	2,6	96,5	2,8	94,3	0,9	82,1	2,9	80,8	1,6
Indoxacarbe	109,3	14,4	106,6	2,3	106,8	4,8	101,2	1,7	74	5	85,4	2,8	111,1	2,7

Tabela 32 - Médias para os percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária para os analitos do grupo F.

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		17,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		50,0 µg L ⁻¹		75,0 µg L ⁻¹	
Benomil	22	226,4	87	10,4	82,6	9,4	87,4	2,0	114,5	7	114,7	2,4	102	3,1
Bifentrina	40,9	11	105,8	3	107,2	4,7	104,1	3,1	96,9	0,5	96	3,9	87,3	11,4
Carbendazin	-	-	90,7	2,6	77,1	9	117,5	2,3	87,6	2	108,5	0,8	94,1	3,1
Cipermetrina	-	-	113,3	1	114,3	6,6	99,9	2,7	96,8	3,5	75,6	2,9	114,4	7,4
Clorotalonil	137,1	23,1	116,5	5	94,7	1,8	115	1,3	92,8	0,9	102,5	0,5	104	6,1
Cresoxin metil	68,9	10,2	93,1	0,6	101,1	0,3	90,1	1,5	101,8	2,6	76,7	0,8	80	1,1
Diflubenzuron	-	-	112,4	3,6	72,7	3	96,5	1,9	80	3,1	79,5	2,5	114,7	2
Etoxisulfuron	118,3	5,2	74,9	2,3	87,5	2,3	105,4	2,2	80,7	0,5	79,2	1,2	73,8	0,5

	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
	F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7	
	2,5 µg L ⁻¹		5,0 µg L ⁻¹		10,0 µg L ⁻¹		17,5 µg L ⁻¹		25,0 µg L ⁻¹		50,0 µg L ⁻¹		75,0 µg L ⁻¹	
Folpet	94,8	8,3	74,9	8	92,6	11,3	115,4	2,1	99,7	1,3	98,3	2	71,8	6,2
Hidrazina Maleica	51,5	23,2	91,6	3,8	86,3	2,2	94	8,3	91,2	5,4	111,4	2,5	98,9	2,7
Imidacloprido	-	-	79,5	4,2	95	1,1	112,6	1,1	100,3	1,5	110,2	1,2	97,4	2,2
Iodosulfuron metílico	-	-	76,4	3,4	85,2	6	93,3	1,7	84,9	3,7	75,1	5,5	75,8	0,8
Mancozeb	-	-	71,1	23,2	79	3,2	85	2,5	105,8	2,6	96,3	2,9	96,7	1,8
Metalaxil	-	-	80,5	29,9	109,9	2,9	116	4,4	107,2	3,3	92,6	1,9	93,1	6,2
Metamitron	-	-	88,9	6,1	117,9	7,4	90	1,2	102,4	1,6	130	1,9	101,9	1,7
Metiran	-	-	78,3	5	101,2	5	104,2	1	110,4	2,2	93,3	3,5	113,8	1
Picoxistrobina	85,5	14,7	85,7	1,7	102,3	1,4	102,1	3,4	88,9	1,1	94,9	1,8	91,4	2,7
Tiametoxam	-	-	70,3	2,5	117,1	0,7	86,1	2,6	104,2	0,6	102,9	1	101,5	1,2
Tiodicarb	20	9,3	75,6	1,1	95,1	0,5	100	0,2	96,3	0,3	88,7	6,2	97,5	4,4
Tiofanato metil	15,7	64,7	84,5	2,1	111,6	1,8	118,9	1,2	110,2	2,1	90,6	2,2	80,6	2,6
Triciclazol	-	-	91,3	3,7	117,7	0,9	113,8	2,5	109,2	1,6	97	0,4	96,2	1,5

7.9 Limite de detecção e Limite de Quantificação

Os limites de detecção e quantificação de cada agrotóxico estão relacionados na tabela 33. O método apresentou LOD's entre de 0,03 e 1,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ's entre 0,10 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 33 - Limites de detecção e limites de quantificação do método

Agrotóxico	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Metamidofós	0,030	0,100
Acefato	0,030	0,100
Fipronil	0,060	0,175
Tembotriona	0,030	0,100
Gama cialotrina	0,030	0,100
Metidationa	0,160	0,500
Carbaril	0,160	0,500
Cianamida	0,160	0,500
Dimetoato	0,160	0,500
Epoxiconazol	0,160	0,500
Diazinona	0,160	0,500
Abamectina	0,330	1,000
Fenoxaprop-p-etílico	0,330	1,000
Fomesafem	0,330	1,000
Mesotriona	0,330	1,000
Fenitrotiona	0,330	1,000
Tetraconazol	0,160	0,500
loxinil octanoato	0,160	0,500
Fentiona	0,330	1,000
Lambda cialotrina	0,330	1,000
Ciproconazol	0,830	2,500
Flutriafol	0,830	2,500
Ditianona	1,670	5,000
Metsulfuron metil	0,830	2,500
Imazetapir	0,830	2,500
Cletodim	0,830	2,500
Clorimuron etílico	0,830	2,500
Difenoconazol	0,830	2,500
Indoxacarbe	0,420	1,250
Benomil	1,670	5,000
Bifentrina	1,670	5,000
Carbendazim	1,670	5,000
Cipermetrina	1,670	5,000
Clorotalonil	1,670	5,000
Cresoxin metil	1,670	5,000
Diflubenzuron	1,670	5,000

Agrotóxico	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Etoxisulfuron	0,830	2,500
Folpet	0,830	2,500
Hidrazina meleica	1,670	5,000
Imidacloprido	1,670	5,000
Iodosulfuron metílico	1,670	5,000
Mancozeb	1,670	5,000
Metalaxil-m	1,670	5,000
Metamitrona	1,670	5,000
Metiram	1,670	5,000
Picoxistrobina	1,670	5,000
Tiametoxan	1,670	5,000
Tiodicarb	1,670	5,000
Tiofanato metílico	1,670	5,000
Triciclazol	1,670	5,000

Fonte: autor

Os limites de detecção especificados na tabela 33 foram estabelecidos após avaliação dos sinais cromatográficos encontrados no menor nível de concentração para cada analito do estudo. Para a determinação do limite de quantificação dos analitos, considerou o nível mais baixo de concentração com recuperação e RSD adequados. Ainda, considerou-se o fator de concentração do preparo de amostra como 10, pois a amostras foi concentrada 20 vezes e depois diluída 2 vezes.

Os valores encontrados para LOQ de cada analito estão abaixo do VMP estabelecido pela Portaria RS/SES 320, atendendo assim o propósito de monitorar águas para consumo humano de acordo com esta legislação.

7.10 Aplicação no Método

A aplicabilidade do método foi verificada na determinação de resíduos de agrotóxicos em amostra de água para consumo humano (água de abastecimento). As coletas foram realizadas mensalmente entre os meses de janeiro e abril de 2019, com cinco amostras por mês, totalizando 20 amostras, cujos resultados são apresentados no Quadro 3. Os pontos de coleta se repetiram ao longo dos meses de janeiro, fevereiro, março e abril do ano

2019. Os agrotóxicos foram analisados pela mesma técnica analítica (LC-MS) pelos dois Laboratórios.

Quadro 3 - Concentração dos analitos detectados nas amostras analisadas

Analito	Ponto de coleta									
	Janeiro					Fevereiro				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Benomil	n.d	n.d	n.d	20	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Bifentrina	n.d	n.d	n.d	n.d	9	n.d	n.d	n.d	16	n.d
Carbendazim	n.d	<LQ	n.d	n.d	<LQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Folpet	n.d	11	n.d	n.d	n.d	n.d	9,9	n.d	11	n.d
Analito	Ponto de coleta									
	Março					Abril				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Bifentrina	n.d	n.d	n.d	13	n.d	n.d	n.d	9	n.d	n.d
Carbendazim	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	21	n.d	n.d	n.d
Folpet	n.d	n.d	n.d	15	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d

Fonte: O autor.

O agrotóxico encontrado com mais frequência nas amostras realizadas neste trabalho foi o folpet, aparecendo nas amostras coletadas em Janeiro no ponto 2 (11,1 $\mu\text{g L}^{-1}$), em fevereiro nos pontos 2 (9,9 $\mu\text{g L}^{-1}$) e 4 (10,5 $\mu\text{g L}^{-1}$) e em março novamente no ponto 4 (15,0 $\mu\text{g L}^{-1}$). O valor máximo permitido pelo Anexo 320 para o folpet é de 600 $\mu\text{g L}^{-1}$, bem abaixo da média de valores encontrados nas amostras (11,5 $\mu\text{g L}^{-1}$). Fungicida de classe IV é utilizado principalmente em culturas de cebola, maçã, pepino, pêssego e uva e considerado pouco tóxico.

Folpet também foi detectado em amostras de morango na concentração de 0,13 mg Kg^{-1} , no entanto o valor encontrado está abaixo do VMR estabelecido para este agrotóxico que é de 0,4 mg Kg^{-1} (Gebara, 2018).

Carbendazim foi encontrado nos pontos 2 (9,5 $\mu\text{g L}^{-1}$) e 5 (10,5 $\mu\text{g L}^{-1}$) no mês de janeiro e novamente no ponto 2 (21,2 $\mu\text{g L}^{-1}$) em abril. O VMP para o carbendazim, acompanhado de tiofanato metílico e benomil é de 120 $\mu\text{g L}^{-1}$. Sua modalidade de emprego é principalmente em aplicações de sementes de algodão, milho, soja e feijão. É um fungicida de classe III e toxicidade moderada.

Carbendazim foi detectado em amostras de laranja na concentração de $0,025 \text{ mg Kg}^{-1}$ na comunidade de Valenciana na Espanha (CALDAS, 2011). Os autores utilizaram para a análise o analisador por tempo de voo UPLC/QqTOF-MS, equipamento de alta performance para análise de resíduos de agrotóxicos.

Na análise dos dados do SISAGUA-RS, Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da água para Consumo Humano, do ano de 2018, carbendazim foi detectado em concentrações que variaram entre $1,0$ e $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Todos os valores encontrados para o carbendazim no ano de 2018 estão abaixo de $120 \mu\text{g L}^{-1}$, e, portanto aceitáveis para a Portaria 320. Para a avaliação dos dados, o LD e LQ do agrotóxico em questão variaram entre $0,02$ e $20 \mu\text{g L}^{-1}$. A presença do carbendazim foi confirmada nos meses de maio e Junho de 2018 nas concentrações de $1,0$ e $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (MS, 2018).

Do grupo químico piretróide e classe toxicológica II e considerado altamente tóxico, a bifentrina foi detectada em 3 amostras. Em janeiro no ponto 5 ($9,0 \mu\text{g L}^{-1}$), em fevereiro e março no ponto 4 ($16,4 \mu\text{g L}^{-1}$) e ($12,7 \mu\text{g L}^{-1}$) respectivamente. Possui $120 \mu\text{g L}^{-1}$ como valor máximo permitido e é comumente aplicada em cultivos de arroz, feijão, milho além de frutas como banana, tomate, mamão, melancia e melão.

A presença de bifentrina também foi detectada por pesquisadores na concentração de $33,7 \mu\text{g L}^{-1}$. O agrotóxico foi detectado após análises de águas superficiais do Rio Litani, no Líbano. O LQ definido no método utilizado foi de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, agrotóxicos como lindano, endossulfan sulfato, clorpirifos, diazinon, metoxiclor, tetradifon, DDE e DDD, alacloro e pendimetalina também foram detectados durante período de monitoramento de 12 meses uma concentração individual de até 10 ng L^{-1} (KOUZAYHA, *et al*, 2013).

O benomil foi encontrado apenas uma vez na amostra 4 de janeiro na concentração de $20,4 \mu\text{g L}^{-1}$. Atualmente em reavaliação pela ANVISA, sua principal aplicação está nas culturas de frutas, verduras e sementes. O VMP de $120 \mu\text{g L}^{-1}$ especificado na Portaria RS/SES 320 considera este valor para o somatório do resultado dos três compostos.

O Benomil é instável tanto no meio aquático quanto em solventes orgânicos, apresentando tempo de meia-vida na água de apenas 2 h, tendo como principal subproduto o Carbendazim (SINGH & CHIBA, 1993; KAMRIN,

1997 *apud* MARQUES *et al.*, 2003; MALLAT *et al.*, 1997; ZAMORA *et al.*, 2009). Sendo assim, a quantificação destas duas substâncias é feita simultaneamente, considerando que o Benomil se degrada em Carbendazim.

Os demais compostos não foram encontrados em nenhuma das amostras analisadas. Da mesma maneira, na amostra 1 não detectado nenhum dos compostos analisados

7.11 Teste bilateral

O teste bilateral foi realizado com laboratório acreditado pelo INMETRO e reconhecido pela Rede Metrológica do RS para estes ensaios. Foi coletada uma amostra da rede de abastecimento do próprio laboratório e realizada uma fortificação de maneira a abranger todas as faixas de concentração incluídas no estudo. Os agrotóxicos fortificados foram carbaril, ditianona, fentiona, flutriafol, folpet, metidationa, tembotriona e triciclazol. A concentração teórica e os resultados estão descritos na tabela 34. O critério de aceitação adotado foi de 20% de variação entre os resultados dos dois laboratórios.

O teste bilateral não é considerado ensaio de proficiência, mas um mecanismo de controle de qualidade aplicado pelo laboratório.

Tabela 34 - Tabela de resultados teste bilateral

Agrotóxico	Lab 01 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Lab 02 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Acefato	n.d	n.d	n.d
Fipronil	n.d	n.d	n.d
Tembotriona	7,6	8,8	10
Gama cialotrina	n.d	n.d	n.d
Metidationa	18,3	17,9	20
Carbaril	43,2	47,2	50
Cianamida	n.d	n.d	n.d
Dimetoato	n.d	n.d	n.d
Epoxiconazol	n.d	n.d	n.d
Diazinona	n.d	n.d	n.d
Abamectina	n.d	n.d	n.d
Fenoxaprop-p-etílico	n.d	n.d	n.d
Fomesafem	n.d	n.d	n.d
Mesotriona	n.d	n.d	n.d

Agrotóxico	Lab 01 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Lab 02 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conc teórica ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Fenitrotiona	n.d	n.d	n.d
Tetraconazol	n.d	n.d	n.d
Ioxinil octanoato	n.d	n.d	n.d
Fentiona	44,7	40,3	50
Lambda cialotrina	n.d	n.d	n.d
Ciproconazol	n.d	n.d	n.d
Flutriafol	79,2	85,5	100
Ditianona	85,4	91,9	100
Metsulfuron metil	n.d	n.d	n.d
Imazetapir	n.d	n.d	n.d
Cletodim	n.d	n.d	n.d
Clorimuron etílico	n.d	n.d	n.d
Difenoconazol	n.d	n.d	n.d
Indoxacarbe	n.d	n.d	n.d
Benomil	n.d	n.d	n.d
Bifentrina	n.d	n.d	n.d
Carbendazim	n.d	n.d	n.d
Cipermetrina	n.d	n.d	n.d
Clorotalonil	n.d	n.d	n.d
Cresoxin metil	n.d	n.d	n.d
Diflubenzuron	n.d	n.d	n.d
Etoxisulfuron	n.d	n.d	n.d
Folpet	455,4	427,5	500
Hidrazina meleica	n.d	n.d	n.d
Imidacloprido	n.d	n.d	n.d
Iodosulfuron metílico	n.d	n.d	n.d
Mancozeb	n.d	n.d	n.d
Metalaxil-m	n.d	n.d	n.d
Metamitrona	n.d	n.d	n.d
Metiram	n.d	n.d	n.d
Picoxistrobina	n.d	n.d	n.d
Tiametoxan	n.d	n.d	n.d
Tiodicarb	n.d	n.d	n.d
Tiofanato metílico	n.d	n.d	n.d
Triciclazol	477,9	468,6	500

Fonte: O autor

Analisando os resultados, todos os ensaios ficaram dentro do critério esperado, abaixo de 20%. No entanto, cabe evidenciar que compostos de baixa concentração como metidationa ($20 \mu\text{g L}^{-1}$) e tembotriona ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) tiveram menores variações, 2,23 e 4,54 % respectivamente, quando comparados os resultados entre os dois laboratórios. Já para os compostos de

concentração entre 100 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, as variações foram de 7 a 10%. Isto pode ocorrer, pois compostos em altas concentrações podem gerar deformidades de picos devido a saturação com a coluna analítica, ou devido a saturação da fonte de íons ou o detector. Se isso ocorrer, o resultado não poder ser considerado. Além disso, pode ocorrer diluição das amostras, podendo aumentar as fontes de erro do processo analítico.

Os parâmetros reportados como não detectados pelos dois laboratórios no ensaio bilateral indicam não haver contaminação cruzada nas amostras, indicando conformidade na interpretação dos resultados e, portanto, baixa probabilidade de ocorrência de falsos positivos ao relatar os resultados analíticos.

8 CONCLUSÕES

O método proposto para determinação de multirresíduos dos agrotóxicos presentes na Portaria RS/SES 320 por extração SPE e determinação LC-MS foi aplicado e validado ao longo deste trabalho, mostrando-se adequado para detectar e quantificar multirresíduos de agrotóxicos de diferentes classes em amostras fortificadas de água e em amostras de rotina do laboratório.

O método desenvolvido permite em uma única extração avaliar os compostos da Portaria RS/SES 320 atendendo todos os limites estabelecidos pela mesma. Através das curvas analíticas e testes de fortificação comprovou-se que o método é eficiente e atende aos VMP's da Portaria RS/SES 320. Sua aplicabilidade em amostras de água para consumo humano também se confirma ao avaliar as amostras de água para consumo humano e também por teste bilateral realizado com laboratório acreditado pela CGCRE e reconhecido pela rede metrológica do RS.

A utilização do analisador simples quadrupolo, através da possibilidade de gerar novos íons mediante variação da energia de fragmentação da fonte de íons, se mostrou adequado para confirmar o analitos detectados ou quantificados, reduzindo assim a possibilidade de obtenção de resultados falsos positivos.

Tais fatos indicam que o uso de agrotóxicos deve se intensificar podendo a levar mais ocorrências de resíduos de agrotóxicos em água, neste sentido, este trabalho pode contribuir para o monitoramento ambiental de contaminantes e na ampliação de estudos que determinem estes compostos em água potável, podendo servir também como referência para estudo em outras matrizes ambientais e também para novos agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

ABRASCO. Dossiê ABRASCO Parte 2- Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **Dossiê ABRASCO**, 2008. Disponível em: <http://abrasco.org.br/dossieagrototoxicos/> Acesso em: 15. Fev.2019.

AGILENT TECHNOLOGIES (Brasil). **Espectrometria de massas Princípios básicos – Teoria**. 2016. Número da publicação: 5991-5857PTBR. Disponível em: https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/5991-5857_Agilent_MS_Theory_PTBR.pdf. Acesso em: 25 jul. 2018.

AGRONEGÓCIO, A. B. DO. **Associação Brasileira de Agronegócio**. Disponível em: http://www.abag.com.br/sala_imprensa/interna/abag-parlamentares-brasileiros-aprovam-retirada-do-termo-agrotoxico. Acesso em: 21, jan.2018.

CHIARADIA, Mariza C.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F.. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p.623-626, 26 fev. 2008. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol31No3_623_29-RV06472.pdf. Acesso em: 5 nov. 2018.

ALVES, Sergio Rabello; SILVA, Jefferson José Oliveira. Avaliação de ambientes contaminados por agrotóxicos. In: PERES, Frederico; MOREIRA, Josino Costa. **É veneno ou é remédio? agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 137-156. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/sg3mt/pdf/peres-9788575413173-09.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2019.

ANDRADE, Adriana Garabini de Freitas et al. Otimização de Diferentes Procedimentos de Preparo de Amostras: Aplicação na Extração de Antioxidantes Presentes em Biodiesel. **Orbital - The Electronic Journal Of Chemistry**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.87-98, 30 jun. 2015. Instituto de Química - Univ. Federal do Mato Grosso do Sul. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v7i2.672>. Disponível em: <http://orbital.ufms.br/index.php/Chemistry/article/viewFile/672/pdf>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ANVISA, Resolução RDC Nº 283 de 26 de setembro de 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0283_26_09_2005.html Acesso em: 15. Jan. 2019.

ANVISA. Agrotóxicos - Glifosato prossegue sob análise na Anvisa. 2018a. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/glifosato-prossegue-sob-analise-na-anvisa/219201/pop_up?inheritRedirect=false Acesso em: 15 Abril de 2019.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO AGRONEGÓCIO (Brasil). **Parlamentares brasileiros aprovam retirada do termo "agrotóxico" de lei**. Disponível em: <http://www.abag.com.br/sala_imprensa/interna/abag-parlamentares-brasileiros-aprovam-retirada-do-termo-agrotoxico>. Acesso em: 03 nov. 2018.

ASTON, F. W. Breve Revisão de Espectrometria de Massa e da Técnica PDMS. 1922.

AZEVEDO, Débora de Almeida. **Espectrometria de Massas**. 2004. Disponível em: <<http://cebime.propesq.ufsc.br/files/2012/07/Apostila-Espectrometria-de-Massas-D%C3%A9bora-Azevedo.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2019.

BAESSO, Murilo Mesquita et al. Tecnologias de aplicação de agrotóxicos. **Revista Ceres**, [s.l.], v. 61, n. , p.780-785, dez. 2014.

BARRIONUEVO, REGINA, W.; LANÇAS, MAURO, F. 172 Barrionuevo & Lanças Quim. Nova. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 172–175, 2001.

BARROS, F. G. N.; AMIN, M. M. Água: Um bem econômico de valor para o Brasil e o mundo. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 4, n. 1, p. 75–108, 2008.

BARROS, Fernanda Gene Nunes; Mário M. Amin. Água: um bem econômico de valor para o Brasil e o mundo. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, São Paulo, v. 1, n. 4, p.75-108, 2008. Disponível em: <<http://www.rbgdr.net/012008/artigo4.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2018.

BYRNE, D. DECISÃO DA COMISSÃO de 12 de Agosto de 2002 que dá execução ao disposto na Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias II**, n. 3, p. 8–36, 2002.

BOHNER, Tanny Oliveira Lima; ARAÚJO, Luiz Ernani Bonesso; NISHIJIMA, Toshio. O impacto ambiental do uso de agrotóxicos no meio ambiente e na saúde dos trabalhadores rurais. **Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM**, [s.l.], v. 8, p.329-341, 4 abr. 2013. Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/revistadireito/article/view/8280/4993>>. Acesso em: 8 dez. 2018.

BORTOLUZZI, E. C.; ZANELLA, R. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo , RS Contamination of surface water by pesticides as a function of soil use in the Agudo watershed , RS. p. 881–887, 2006.

BORTOLUZZI, Edson C. et al. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 10, n. 4, p.881-887, dez. 2006. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v10n4/v10n4a15.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. . **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2017: relatório pleno**. 2017. Disponível em: <<http://conjuntura.ana.gov.br/static/media/Introducao.dfbbe42a.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2018.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. **ANA lança Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil 2018**. 2018. Disponível em: <<http://www3.ana.gov.br/portal/ANA/noticias/ana-lanca-conjuntura-dos-recursos-hidricos-no-brasil-2018>>. Acesso em: 08 jan. 2019.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para elaboração de rótulo e bula de agrotóxicos, afins e preservativos de madeira**. Brasil, 2018. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/4016300/GUIA++Elabora%C3%A7%C3%A3o+de+R%C3%B3tulo+e+Bula+-+vers%C3%A3o+28-9-2017+DIARE.pdf/85a0fb5f-a18b-478c-b6ea-e6ae58d9202a?version=1.0>>. Acesso em: 22 nov. 2018.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. . **Regularização de Produtos - Agrotóxicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em: 17 maio 2018.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. . **AGROTÓXICO, HERBICIDA E PESTICIDA**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2861541&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=agrotoxico-erbicida-e-pesticida&inheritRedirect=true>. Acesso em: 12 mar. 2019.

BRASIL. Decreto nº 4074, de 4 de janeiro de 2002. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/legislacao/arquivos-de-legislacao/decreto-4074-2002-decreto-dos-agrotoxicos>>. Acesso em: 21 out. 2018.

BRASIL. Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989. 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm>. Acesso em: 21 out. 2018.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0001_03_10_2017.html>. Acesso em: 21 nov. 2018.

BRASIL. Portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000. Disponível em: <<http://www.agenciapcj.org.br/docs/portarias/portaria-ms-1469-00.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Disponível em: <http://www.aeap.org.br/doc/portaria_518_de_25_de_marco_2004.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2018.

CABRERA, Liziara da Costa. **Estudo do efeito matriz na determinação de agrotóxicos em diferentes tipos de arroz pelo método QuECjERS modificado e LC-MS/MS**. 2013. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4222/CABRERA%2c%20LIZIARA%20DA%20COSTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 6 mar. 2019.

CALDAS, Sergiane Souza et al. PRINCIPAIS TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA COM DETECÇÃO POR ARRANJO DE DIODOS E POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS. Sergiane. **Química Nova**, Santa Maria - Rs, v. 34, n. 9, p.1604-1617, 9 ago. 2011.

CARNEIRO, Fernando Ferreira et al (Org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. 2015. Disponível em: <Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio>. Acesso em: 12 abr. 2019.

CARSON, Rachel. **Primavera Silenciosa**. 3. ed. São Paulo: Gaia, 2013. 328 p. Disponível em: <https://biowit.files.wordpress.com/2010/11/primavera_silenciosa_-_rachel_carson_-_pt.pdf>. Acesso em: 20 out. 2018.

CASADO, J.; SANTILLO, D.; JOHNSTON, P. Analytica Chimica Acta Multi-residue analysis of pesticides in surface water by liquid chromatography quadrupole-Orbitrap high resolution tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1024, p. 1–17, 2018.

CATALÁ-ICARDO, M.; LAHUERTA-ZAMORA, L.; TORRES-CARTAS, S. Determination of organothiophosphorus pesticides in water by liquid chromatography and post-column chemiluminescence with cerium (IV). **Journal of Chromatography A**, v. 1341, p. 31–40, 2014.

CAVALCANTE, Rivelino M. et al. Utilização da extração em fase sólida (spe) na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas ambientais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p.560-564, 19 jan. 2007. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No3_560_09-AR06060.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2018.

DA SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Applications of High Performance Liquid Chromatography For The Study of Emerging Organic Pollutants. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665–676, 2011.

DOS SANTOS NETO, A. J. DOS; DE SIQUEIRA, M. E. P. B. análise de praguicidas organofosforados em água por extração em fase sólida (spe) utilizando discos c18 e cromatografia em fase gasosa: avaliação da contaminação do reservatório de furnas (MG-BRASIL). **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 747–750, 2005.

DORES, E. F. G. DE C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. contaminação do ambiente aquático por pesticidas. estudo de caso: águas usadas para consumo humano em primavera do leste, mato grosso – análise preliminar. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p. 27–36, 2001.

DORES, Eliana Freire Gaspar de Carvalho; DE-LAMONICA-FREIRE, Ermelinda Maria. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso - análise preliminar. **Química Nova**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.27-36, fev. 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v24n1/4446.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

DUAVI, C. Estimated Levels of Environmental Contamination and Health Risk Assessment for Herbicides and Insecticides in Surface Water of Ceara. p. 90–95, 2016.

FENG, L. et al. Distribution and Risk Assessment of Endocrine-Disrupting Pesticides in Drinking Water Sources from Agricultural Watershed. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 1, 2016.

FILHO, P. J. S. et al. pré-concentração de nitrosaminas a partir de amostras aquosas por extração em fase sólida e cromatografia capilar eletrocínica micelar. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 193–196, 2003.

FIOCRUZ (Rio de Janeiro). **A controvérsia sobre o uso seguro de agrotóxicos**. 2016. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/controversia-sobre-o-uso-seguro-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

FUENTES, E.; CID, C.; BÁEZ, M. E. Talanta Determination of imidacloprid in water samples via photochemically induced fluorescence and second-order multivariate calibration. **Talanta**, v. 134, p. 8–15, 2015.

GARCIA, J. A.; FILHO, E. R. P. Desenvolvimento de um método de preparo de amostras para avaliação de matérias-primas de materiais escolares. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 807–812, 2015.

GARIBOTTI, Vanda *et al.* Levantamento por bacia hidrográfica do uso e da criticidade dos agrotóxicos usados no estado do rio grande do sul. In: XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS E XVIII

ENCONTRO NACIONAL DE PERFURADORES DE POÇOS, 17, 2012, Mato Grosso. **Congresso**. 2012. p. 1-4. Disponível em: <<https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/viewFile/27741/17988>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

GASQUES, José Garcia; BASTOS, Eliana Teles; BACCHI, Mirian R. Piedade. Produtividade e fontes de crescimento da agricultura brasileira. In: NEGRI, João Alberto de; KUBOTA, Luis Claudio (Ed.). **Políticas de Incentivo à Inovação Tecnológica**. Brasília. 2008. p. 435-459. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/livros/capitulo11_27.pdf>. Acesso em: 4 mar. 2019.

SÃO PAULO. Amir Gebara. Instituto Biológico (Org.). **Resíduos Químicos em Frutas**. 2011. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/files/rifib/IIIrifib/12-15.pdf>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

GRÜTZMACHER, D. D. et al. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 6, p. 632–637, 2008.

GRMEK-KOŠNIK, I. et al. Pesticidi v pitni vodi. **ZDRAV VESTN**, v. 75, n. 537, p. 537–548, 2006.

GROSS, Jürgen H. **Mass Spectrometry: A Textbook**. [s.l.]: Springer, 2006. 518 p.

GRÜTZMACHER, D. D. et al. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 6, p. 632–637, 2008.

IBGE. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/24195-estimativa-para-safra-de-graos-de-2019-cresce-e-atinge-230-1-milhoes-de-toneladas>>. Acesso em: 4 marco. 2019.

INFORMATIVO CRQ III. O dilema do uso de defensivos agrícolas. Rio de Janeiro: Conselho Regional de Química, III Região, 1997.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOQ-CGCRE-008**: orientação sobre validação de métodos analíticos. 4 ed. [s.l.]: Bv, 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2019.

JÚNIOR, S. V. Análise Química Instrumental e sua Aplicação em Controle de Qualidade de Biocombustíveis. p. 7, 2010.

JOURNAL OFICIAL DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. **L221/8**: Ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. 2002.

Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:PT:PDF>>. Acesso em: 12 abr. 2018.

JOURNAL OFICIAL DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. **L229**: Relating to the quality of water intended for human consumption. 1982. Disponível em: <faolex.fao.org/docs/texts/eur37618.doc>. Acesso em: 6 fev. 2019.

JOURNAL OFICIAL DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. **L2431**: organização dos controlos veterinários dos produtos provenientes de países terceiros introduzidos na Comunidade. 1998. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:31997L0079&from=PT>>. Acesso em: 5 mar. 2019.

KOUZAYHA, Abir et al. Occurrence of Pesticide Residues in Lebanon's Water Resources. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [s.l.], v. 91, n. 5, p.503-509, 6 set. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-013-1071-y>.

LEHMANN, E. et al. Dietary risk assessment of pesticides from vegetables and drinking water in gardening areas in Burkina Faso. **Science of the Total Environment**, v. 601–602, p. 1208–1216, 2017.

LIMA BOHNER, T. O.; ARAÚJO, L. E. B.; NISHIJIMA, T. O impacto ambiental do uso de agrotóxicos no meio ambiente e na saúde dos trabalhadores rurais. **Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM**, v. 8, n. 0, p. 329, 2013.

LIMA, L. M.; SOUZA, E. L. DE; FIGUEIREDO, R. D. O. agrotóxicos na microbacia hidrográfica do igarapé cumaru -município de igarapé-açu (PA). p. 1–12, [2013.].2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1854556/estudo-sobre-contaminacao-por-agrotoxicos-no-brasil-esta-disponivel-para-download>. Acesso em: 15. marco. 2019.

MASIÁ, A. *et al.* Ultra-high performance liquid chromatography – quadrupole time-of-flight mass spectrometry to identify contaminants in water : An insight on environmental forensics &. **Journal of Chromatography A**, v. 1345, p. 86–97, 2014.

MARTEL, Samile. **Método multirresíduo para agrotóxicos e compostos relacionados em ar empregando trapeamento em sorvente polimérico e GC-MS/MS**. 2013. 186 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4255/MARTEL%2C%20SAMILE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 15 fev. 2019.

MMA. Agrotóxicos. 2018. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/gestao-das-substancias-quimicas/produtos-agrot%C3%B3xicos.html> Acesso em 15 de Fev, 2019.

MORAES, Maria Carolina B.; LAGO, Claudimir L. do. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Química Nova**, [s.l], v. 26, n. 4, p.556-563, 2003. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol26No4_556_18.pdf>.

MOREIRA, Josino C. et al . Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciênc. saúde coletiva**, São Paulo , v. 7, n. 2, p. 299-311, 2002. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S14138123200200020010&lng=en&nrm=iso>. Access on 04 June 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232002000200010>.]

MOTTA VEIGA, M.; ALMEIDA, R.; DUARTE, F. O desconforto térmico provocado pelos equipamentos de proteção individual (EPI) utilizados na aplicação de agrotóxicos. **Laboreal**, v. 12, n. 2, p. 83–94, 2016.

NETO, M. DE L. F.; SARCINELLI, P. DE N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 69–78, 2004.

NOVAIS, A. S. *et al.* Novo sorvente de hidrofobicidade reduzida para extração em fase sólida: Preparação e caracterização. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 274–279, 2015.

OLIVEIRA, Ariovaldo Umbelino de. AGRICULTURA E INDÚSTRIA NO BRASIL. **Campo-Território: Revista de Geografia Agrária**, São Paulo, v. 5, n. 10, p.5-64, ago. 2010. Disponível em: <<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/12048-Texto%20do%20artigo-44509-1-10-20100902.pdf>>. Acesso em: 12 abr. 2019.

PARREIRA, F. V. et al. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE PESTICIDAS N-METILCARBAMATOS E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO NAS ÁGUAS DA REGIÃO DE PARÁ DE MINAS (MG) BRASIL. v. 11, p. 77–92, 2001.

PERES, F. et al. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 10, n. 27–37, 2005.

PRODUCTS, A. Aplicações em laboratórios de análise Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC). 2018.

REDE METROLÓGICA DO RIO GRANDE DO SUL (Brasil) (Org.). **REQUISITOS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DE LABORATÓRIOS EM ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA: PROCEDIMENTO DO SISTEMA DE GESTÃO DA QUALIDADE**. 2014. Disponível em: <https://webmail.econsulting.com.br/service/home/~/?auth=co&loc=pt_BR&id=5>

7698&part=2>. Acesso em: 30 ago. 2014.

REBOUÇAS, A. C. Água E Desenvolvimento Rural. **Estudos Avançados**, v. 15, n. 43, p. 327–344, 2001.

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

RIO GRANDE DO SUL. Constituição (2004). Portaria nº 320, de 24 de abril de 2014. Disponível em: <<https://sogi8.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro22041/portaria%20ses%20n%C2%BA%20320,%20de%2024-04-2014.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2018.

RIZZATO PASCHOAL, J. A. et al. Validation of chromatographic methods for the determination of residues of veterinary drugs in foods. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1190–1198, 2008.

ROBLES-MOLINA, J. et al. Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1350, p. 30–43, 2014.

RODRIGO, P.; FEIX, D. Painel do Agronegócio no Rio Grande do Sul — 2015. p. 1–44, 2015.

SANCHES FILHO, Pedro José *et al.* Pré-concentração de nitrosaminas a partir de amostras aquosas por extração em fase sólida e cromatografia capilar eletrocínica micelar. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 2, p.193-196, mar. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000200009>. Acesso em: 1 abr. 2019.

SANSON, A. L. et al. equipamento de baixo custo para extração em fase sólida em amostras aquosas de grande volume utilizando pressão positiva de n2. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 150–152, 2014.

SANTOS NETO, Alvaro José dos; SIQUEIRA, Maria Elisa Pereira Bastos de. Análise de praguicidas organofosforados em água por extração em fase sólida (spe) utilizando discos c18 e cromatografia em fase gasosa: avaliação da contaminação do reservatório de Furnas (MG-BRASIL). **Química Nova**, [s.l.], p.747-750, 30 jun. 2005. Disponível em: <http://quimicanova.sbgq.org.br/imagebank/pdf/Vol28No5_747_01-AR04093.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2019.

SILVA, A. R. M. Desenvolvimento de novas metodologias analíticas para a monitorização de PPCPs em matrizes reais. p. 184, 2010.

SILVA, Carla Grazieli Azevedo da; COLLINS, Carol H.. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, [s.l.], v. 34, n. 4, p.665-676, 2011. FapUNIFESP

(SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422011000400020>. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v34n4/20.pdf>>. Acesso em: 05 mar. 2019.

SINGH, Raj P.; CHIBA, Mikio. Determination of benomyl and its degradation products by chromatographic methods in water, wettable powder formulations, and crops. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 643, n. 1-2, p.249-260, jul. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80559-q](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673(93)80559-q).

SULTANA, T. et al. Neonicotinoid pesticides in drinking water in agricultural regions of southern Ontario, Canada. **Chemosphere**, v. 202, p. 506–513, 2018.

STARLING, M. C. V. M. et al. Degradation of carbendazim in water via photo-Fenton in Raceway Pond Reactor: assessment of acute toxicity and transformation products. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 4324–4336, 2018.

TAGERT, M. L. M.; MASSEY, J. H.; SHAW, D. R. Science of the Total Environment Water quality survey of Mississippi ' s Upper Pearl River. v. 481, p. 564–573, 2014.

TETTE, Patrícia Amaral Souza et al. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. **Talanta**, [s.l.], v. 149, p.124-141, mar. 2016.

UNISINOS. Agrotóxicos: Atlas do envenenamento alimentar no Brasil. **Revista Humanísticas Unissinos**, 2017.

VALE, R. L. et al. Diagnóstico do potencial de contaminação de águas subterrâneas por agrotóxicos aplicados na agricultura do entorno do reservatório São Gonçalo - PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 2, p. 66, 2015.

VAZ JÚNIOR, Silvio. **Análise química instrumental e sua aplicação em controle de qualidade de biocombustíveis**, ~}y2010. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/872917/analise-quimica-instrumental-e-sua-aplicacao-em-controle-de-qualidade-de-biocombustiveis>>. Acesso em: 7 fev. 2019.

WESTPHALEN, Ana Paula Campos; CORÇÃO, Gertrudes; BENETTI, Antônio Domingues. Utilização de carvão ativado biológico para o tratamento de água para consumo humano. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [s.l.], v. 21, n. 3, p.425-436, 11 ago. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/esa/v21n3/1809-4457-esa-46-02-S1413_41522016143108.pdf>. Acesso em: 2 abr. 2019.

WANG, H. et al. Science of the Total Environment Analysis of organochlorine pesticides in surface water of the Songhua River using magnetoliposomes as adsorbents coupled with GC-MS / MS detection. v. 618, p. 70–79, 2018.

ZOCOLO, G. J. Princípios e Aplicações da Cromatografia Apoio Princípios e Aplicações da Cromatografia Líquida. **CRQ -IV**, 2012.