



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

SERGIO MARCOS DE LIMA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA
DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA (CG-EM) DE
AGROTÓXICOS EM ÁGUAS RESIDUAIS DE INDÚSTRIA
QUÍMICA**

Londrina
2021

SERGIO MARCOS DE LIMA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA
DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA (CG-EM) DE
AGROTÓXICOS EM ÁGUAS RESIDUAIS DE INDÚSTRIA
AGROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação,
em Química, da Universidade Estadual de Londrina,
como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Solci

Londrina
2021

S484 Lima, Sergio Marcos.

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO CROMATOGRAFICA (CG-EM) DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS RESIDUAIS DE INDÚSTRIA AGROQUÍMICA / Sergio Marcos Lima. - Londrina, 2021. 79 f.

Orientador: Maria Cristina Solci.

Dissertação (Mestrado Profissional em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2021.

Inclui bibliografia.

1. Cromatografia - Tese. 2. Desenvolvimento e validação de método - Tese. 3. Análise por CG-MS - Tese. 4. Determinação de agrotóxicos - Tese. I. Solci, Maria Cristina. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

SERGIO MARCOS DE LIMA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA
DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA (CG-EM) DE
AGROTÓXICOS EM ÁGUAS RESIDUAIS DE
INDÚSTRIA AGROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação, em Química, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Solci
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Liane Maldaner
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Profa. Dra. Maria Luiza Zeraik
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 23 de setembro de 2021.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Profa. Dra. Maria Cristina Solci, pela orientação e sugestões, pela paciência e compreensão durante todo o desenvolvimento deste estudo, pela amizade no grupo de pesquisa do LACA.

Ao Departamento de Química da UEL.

Aos meus queridos pais, Devalcir e Cleuza, pelo exemplo de educação, dedicação e disposição sem limites.

A minha esposa Cristiane que sempre me apoiou e me deu forças para cumprir cada etapa deste desafio, mesmo em momentos em que eu pensava em desistir, me incentivava a continuar, agradeço por toda a compreensão em abrir mão de minha companhia durante os estudos e aguardar positivamente o fim desta longa jornada.

Aos colegas da ADAMA que contribuíram com conhecimentos e suporte durante o desenvolvimento.

A Deus, que me deu saúde, conforto, sabedoria e a oportunidade de conhecer e conviver com essas pessoas que de forma direta ou indireta contribuíram para essa realização pessoal.

“Não tenha medo de tentar, tenha medo de não tentar e ver que a vida passou e você não se arriscou como deveria”. (Chorão)

LIMA, Sergio Marcos de. **Validação de método analítico para determinação cromatográfica (CG-EM) de agrotóxicos em águas residuais de indústria agroquímica.** 2021. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Devido ao crescimento populacional que proporciona alta demanda de alimentos no mundo e redução das áreas aráveis, produtores necessitam elevar a produção agrícola por hectare plantado e melhorar a qualidade dos cultivos, assim o uso de agrotóxicos vem sendo altamente empregado. Durante a produção desses produtos uma das preocupações é a contaminação cruzada entre os agroquímicos, essa contaminação pode causar a ineficácia em campo, comprometendo a qualidade do produto, podendo ocasionar até a perda do plantio. O controle de qualidade e reaproveitamento dos resíduos gerados por indústrias agroquímicas devem fazer uso de técnicas analíticas avançadas, que possam garantir a qualidade da água, descartando a possibilidade de contaminações cruzadas no processo produtivo. Os procedimentos analíticos adotados para esse controle devem ser rápidos e confiáveis, permitindo a determinação de vários compostos com propriedades químicas variadas. Nesta perspectiva, este estudo visou o desenvolvimento e validação de um método capaz de determinar os compostos, atrazina, diuron, clorpirifós, picoxistrobina e tebuconazol em amostras de águas residuais de indústria de agroquímicos. A técnica analítica adotada foi a de Cromatografia Gasosa com detector de Espectrometria de Massas. O método foi validado segundo critérios da ABNT NBR 14029:2016, por meio da análise de figuras de mérito: seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação) e precisão. Para a separação foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida com 5%-fenil-dimetilpolisiloxano, 30m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 μm (HP-5MS Agilent), o tempo total análise foi de 33 minutos. O método validado demonstrou-se seletivo e específico para os compostos. Os resultados obtidos para o limite de detecção ficaram entre 0,01 e 0,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o limites de quantificação ficaram entre 0,07 e 0,27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A faixa linear de trabalho ficou entre 0,07 a 0,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Todos os compostos apresentaram recuperação média entre 75 e 103 % valores estes dentro do critério da norma ABNT, demonstrando a exatidão do método. No estudo de precisão o método mostrou-se preciso estando dentro dos critérios de aceitação da norma ABNT. A aplicação do método em amostras da fábrica demonstrou otimização e vantagem analítica em termos de economia financeira e redução no número de equipamentos necessários para a determinação dos cinco compostos do estudo.

Palavras-chave: agrotóxicos; cromatografia gasosa; espectrometria de massa; validação de método.

LIMA, Sergio Marcos de. **Validation of analytical method for chromatographic determination (GC-MS) of pesticides in agrochemical industry wastewater**. 2021. 79 p. Dissertation (Master in Analytical Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

The population growth that demands greater food production in the world, along with the reduction of arable areas, producers need to increase agricultural production per planted hectare and improve the quality of crops. Thus, the use of pesticides has been widely used. During the production of these products, one of the concerns is cross-contamination between agrochemicals. This contamination can cause inefficiency in the field, compromising the quality of the product and even causing the loss of planting. Quality control and reuse of waste generated by agrochemical industries must make use of advanced analytical techniques that can guarantee water quality, discarding the possibility of cross-contamination in the production process. The analytical procedures adopted for this control must be fast and reliable, allowing the determination of several compounds with varied chemical properties. In this perspective, this study aimed at the development and validation of a method capable of determining the compounds, atrazine, diuron, chlorpyrifos, picoxystrobin and tebuconazole in samples of waste water from the agrochemical industry. The analytical technique adopted was Gas Chromatography with a Mass Spectrometry detector. The method was validated according to the criteria of ABNT NBR 14029:2016, through the analysis of figures of merit: selectivity, linearity, detection limit, quantification limit, accuracy (recovery) and precision. For the separation, a fused silica capillary column with 5%-phenyl-dimethylpolysiloxane, 30m long, 0.25 mm internal diameter and 0.25 μm film (HP-5MS Agilent) was used, the total time for analysis was 33 minutes. The validated method proved to be selective and specific for the compounds. The results obtained for the detection limit were between 0.01 and 0.07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and the quantification limits were between 0.07 and 0.27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The linear working range was between 0.07 and 0.33 $\mu\text{g mL}^{-1}$. All compounds showed average recovery between 75 and 103% values within the criteria of the ABNT standard, demonstrating the accuracy of the method. In the precision study, the method was shown to be accurate, being within the acceptance criteria of the ABNT standard. The application of the method on factory samples demonstrated optimization and analytical advantage in terms of financial savings and reduction in the number of equipment needed to determine the five compounds in the study.

Keywords: pesticides; gas chromatography; mass spectrometry; method validation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Produção de Grãos de soja, milho e feijão (em milhões de toneladas).....	16
Figura 2	– Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas	30
Figura 3	– Perfil cromatográfico de uma solução em acetona contendo os compostos.....	51
Figura 4	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de branco solvente (Acetona) obtido por CG-EM.	53
Figura 5	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de branco solvente (Água) obtido por CG-EM	53
Figura 6	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Atrazina obtido por CG-EM.....	54
Figura 7	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Clorpirifos obtido por CG-EM..	54
Figura 8	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Diuron obtido por CG-EM.....	55
Figura 9	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Picoxistrobina obtido por CG-EM.....	55
Figura 10	– Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Tebuconazol obtido por CG-EM.....	56
Figura 11	– Gráfico de linearidade para o composto Atrazina	57
Figura 12	– Gráfico de linearidade para o composto Diuron	58
Figura 13	– Gráfico de linearidade para o composto Clorpirifós	58
Figura 14	– Gráfico de linearidade para o composto Picoxistrobina.....	58
Figura 15	– Gráfico de linearidade para o composto Tebuconazol	59
Figura 16	– Gráfico de linearidade para o composto Atrazina	59
Figura 17	– Gráfico de linearidade para o composto Diuron	60
Figura 18	– Gráfico de linearidade para o composto Clorpirifós	60
Figura 19	– Gráfico de linearidade para o composto Picoxistrobina.....	60
Figura 20	– Gráfico de linearidade para o composto Tebuconazol	61
Figura 21	– Comparativo de recuperação por nível de fortificação.	63
Figura 22	– Perfil cromatográfico do método proposto contendo 14 compostos.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Classificação química dos agrotóxicos.	18
Tabela 2	– Necessidades de uma formulação para uso em culturas agrícolas.	20
Tabela 3	– Limites aceitáveis de ingrediente ativo (IA) para formulação dos produtos.	21
Tabela 4	– Identificação do grupo, classe e fórmula estrutural dos compostos estudados neste trabalho.	22
Tabela 5	– Propriedades físico-químicas dos compostos.	23
Tabela 6	– Interpretação das propriedades físico-químicas dos compostos.	23
Tabela 8	– Listagem dos padrões utilizados e fornecedores.	38
Tabela 9	– Soluções estoque e de redissolução dos agrotóxicos.	38
Tabela 10	– Soluções intermediária para estudo de linearidade e curva analítica.	39
Tabela 11	– Soluções para estudo do limite de detecção.	39
Tabela 12	– Concentração dos agrotóxicos na solução <i>Mix</i> e nas amostras de fortificação nível 1 e nível 2.	40
Tabela 13	– Qualificação do instrumento e critérios de aceitação.	43
Tabela 14	– Condições cromatográficas para a determinação e quantificação dos compostos de interesse por CG-EM.	49
Tabela 15	– Tempo de retenção dos compostos e seus respectivos íons monitorados por CG-EM.	50
Tabela 16	– Resultado da qualificação instrumental.	51
Tabela 17	– Equações do modelo linear, faixa de concentração e coeficiente de correlação (r) dos compostos em estudo para o estudo de linearidade.	56
Tabela 18	– Equações do modelo linear, faixa de concentração e coeficiente de correlação (r) dos compostos em estudo para curva analítica de cinco níveis.	57
Tabela 19	– Limite de detecção e limite de quantificação do método, desvio padrão, e desvio padrão pela equação de Horwitz.	62
Tabela 20	– Recuperações obtidas a partir das fortificações nível 1 e nível 2 de cada composto do estudo.	63
Tabela 21	– Repetitividade e precisão intermediária dos cinco compostos do estudo.	64
Tabela 22	– Resultados obtidos para as amostras da fábrica de agrotóxicos.	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Níveis toxicologicamente significativos de acordo com o Regulamento de Agrotóxicos (PR).....	28
Quadro 2 – Métodos analíticos descritos para determinação de agrotóxicos em águas.....	35
Quadro 3 – Análise de variância ANOVA para comparar a variação entre os níveis da recuperação	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	do inglês <i>Analise Of Variance</i>
ATP	Adenosina trifosfato
CGL	Cromatografia gás-líquido
CGS	Cromatografia gás-sólido
CAS	Chemical Abstracts Service
CG-EM	Cromatógrafo Gasoso com Detector Espectrométrico de Massas
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DDT	2,2 bis-p-clorofenil-1,1,1-tricloroetano
DPR	Desvio Padrão Relativo
EC	Concentrado emulsionável
ECD	do inglês <i>Electron Capture Detector</i>
EM	Espectrometria de Massas
FID	do inglês <i>Flame Ionization Detector</i>
FLD	Detecção por Fluorescência
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
GR	Granulados
HPLC	do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LSPA	Levantamento Sistemático da Produção Agrícola
m/z	Razão massa/carga
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NADH	Dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
NBR	Norma Brasileira
ND	Não Detectado
NIST	do inglês <i>National Institute of Standards and Technology</i>
NPD	do inglês <i>Nitrogen-Phosphorus Detector</i>
PFTBA	Perfluorotributilamina
PVDF	Fluoreto de polivinilideno

QoI	Inibidores quinona
r	Coefficiente de correlação
RBC	Rede Brasileira de Calibração
SC	Suspensão concentrada
SIM	do inglês <i>Select Ion Monitoring</i>
TIC	do inglês <i>Total Ion Chromatogram</i>
t _R	Tempo de retenção
UBV	Ultra baixo volume
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta e Visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVOS GERAIS	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	AGRICULTURA	16
3.2	DEFENSIVOS AGRÍCOLAS	17
3.3	FORMULAÇÃO DOS DEFENSIVOS AGRÍCOLAS.....	20
3.4	PROPRIEDADES DOS ANALITOS	22
3.4.1	Atrazina.....	23
3.4.2	Ingrediente Ativo Clorpirifós.....	24
3.4.3	Ingrediente Ativo Diuron.....	24
3.4.4	Ingrediente Ativo Picoxistrobina	25
3.4.5	Ingrediente Ativo Tebuconazol.....	25
3.5	PRODUÇÃO.....	25
3.6	CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO NO PROCESSO DE PRODUÇÃO	26
3.7	CROMATOGRAFIA	29
3.7.1	Cromatografia Gasosa.....	29
3.7.2	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS).....	30
3.8	VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO	31
3.8.1	Seletividade.....	32
3.8.2	Sensibilidade	33
3.8.3	Linearidade	33
3.8.4	Faixa Linear de Trabalho	34
3.8.5	Limite de Detecção (LD)	34
3.8.6	Limite de Quantificação (LQ).....	35
4	METODOLOGIA	37
4.1	INSTRUMENTAÇÃO, MATERIAIS E VIDRARIAS	37
4.2	SOLVENTES, PADRÕES E AMOSTRAS	37

4.3	PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS	38
4.4	PREPARO DAS SOLUÇÕES INTERMEDIÁRIAS	38
4.5	PREPARO DAS SOLUÇÕES DO LIMITE DE DETECÇÃO	39
4.6	PREPARO DAS FORTIFICAÇÕES.....	40
4.7	PREPARO DAS AMOSTRAS	40
4.8	OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO.....	41
4.8.1	Escolha da Coluna.....	41
4.8.2	Separação e Identificação dos Compostos	41
4.8.3	Programação da Rampa de Temperatura do Forno.....	41
4.8.4	Parâmetros de Injeção	42
4.8.5	Linha de Transferência, Fonte e Quadrupolo.....	42
4.8.6	Ajuste das Massas	42
4.8.7	Parâmetros de Varreduras	43
4.9	VALIDAÇÃO E GARANTIA DA QUALIDADE	43
4.9.1	Validação do Equipamento	43
4.9.2	Validação do Método	44
4.10	Aplicação do Método Desenvolvido.....	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO.....	49
5.2	PARÂMETROS DE PROGRAMAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS	50
5.3	VALIDAÇÃO E GARANTIA DA QUALIDADE	51
5.3.1	Validação do Equipamento	51
5.3.2	Validação do Método	52
5.4	APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO.....	65
6	CONCLUSÃO	66
7	SUGESTÕES PARA DESENVOLVIMENTOS FUTUROS.....	67
	REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

A degradação dos recursos naturais do planeta está cada vez mais visível. A disponibilidade de água diminui e cresce o número de contaminantes e resíduos industriais. As atividades humanas podem causar modificações ambientais que resultam em mudanças na dinâmica dos ecossistemas. Essas mudanças podem gerar remoção direta ou indireta de elementos biológicos e até modificações no ambiente físico, mudando o fluxo de energia em um sistema natural e podendo gerar desequilíbrio no meio (CAVALHEIRO; ARAUJO; TYBUSCH, 2014).

O crescimento demográfico mundial, estimado em 9 bilhões de habitantes em 2050 (ONU, 2021), aumenta a preocupação com a demanda de alimentos para atender esse crescimento. A solução para a agricultura diante do crescimento mundial, foi aumentar a produtividade por hectare (BARBOSA, 2004). Nessa perspectiva o uso de agrotóxicos vem sendo massivamente aplicados para o controle de pragas (animais e vegetais) e doenças de plantas (PERES; MOREIRA e DUBOIS, 2003). A necessidade de proteção das lavouras provocou o desenvolvimento crescente dos agrotóxicos ao longo dos anos e hoje os produtos estão mais seletivos e eficazes. O homem tenta proteger as lavouras de doenças e pragas desde a idade média onde era utilizado o arsênio e enxofre para controle de insetos, o uso de compostos orgânicos como a nicotina e o piretro também foram utilizados como inseticida na Europa e nos Estados Unidos (GASPARIN, 2005). Países com grande produção agrícola como o Estados Unidos, China e Brasil que atualmente é o terceiro maior exportador agrícola do mundo, sendo responsável por alimentar 10 % da população do planeta, utilizam grandes volumes de agrotóxicos no processo agropecuário, entre outras aplicações, (FAO, 2013).

Apesar dos problemas causados pelo coronavírus em todos os setores, o agronegócio no ano de 2020 teve excelentes resultados para o faturamento do setor. A safra de grãos atingiu 254,1 milhões de toneladas, sendo a maior safra do país, com um incremento de 3,1% cerca de 7,9 milhões de toneladas em relação a 2019 (CONAB, 2021).

Devido à alta produtividade do Brasil no setor agrícola, quando avaliado o valor gasto com agrotóxicos, o Brasil posiciona-se na primeira colocação como o maior consumidor de agrotóxico, no entanto quando se relaciona o valor gasto tendo o tamanho da produção como referência, o Brasil se posiciona na 13ª colocação (FAO, 2013).

O controle de agrotóxicos no Brasil envolve um sistema de vários órgãos governamentais em esfera federal, estadual e municipal. O processo de produção e

comercialização de agrotóxicos é rigorosamente controlado pela União (INÁCIO, 2013). De acordo com o inciso XXXIII do art. 1º do Decreto nº 4.074/02, a produção é o processo de natureza química, física ou biológica para obtenção de agrotóxicos, seus componentes e afins. O termo fabricante é utilizado para os estabelecimentos que produzem componentes (princípio ativo, produto técnico, matérias primas, ingrediente inertes e aditivos utilizados na fabricação de agrotóxicos e afins). O formulador é quem efetivamente produz os agrotóxicos ou afins. E o manipulador é o estabelecimento autorizado a fracionar e reembalar os agrotóxicos e afins (BRASIL, 2002).

Em alguns processos, a reutilização de resíduos na indústria pode ser feita em atividades que não necessitam do consumo de água potável e para viabilizar o reaproveitamento de grandes volumes de água na produção de agrotóxicos há a necessidade de um controle rígido dos contaminantes presentes nessas águas residuais do processo, agregando valor à um resíduo e evitando o descarte. Para isso é necessário o uso de análise de traços de compostos para atender essas necessidades industriais. Os desafios nas determinações de traços dos agrotóxicos em resíduos industriais para reaproveitamento destes resíduos sem comprometer o desempenho e qualidade do produto traz economicidade e redução de consumo de recursos naturais. Para análise de contaminantes em nível de concentração de traços, uma das técnicas mais utilizada é a cromatográfica. Esta técnica permite a separação, identificação e quantificação dos analitos, mesmo presente em misturas complexas, ela permite o uso de outras técnicas de análise acoplada ao sistema cromatográfico como a espectrofotometria e espectrometria de massas (SKOOG et al., 2002).

A diversidade na fabricação de agrotóxicos e a necessidade de determinar estes contaminantes em águas residuais decorrentes do processo industrial, laboratórios de controle utilizam diferentes técnicas para acompanhamento dos processos levando ao alto custo nesta etapa industrial. A ausência de técnicas que atendam à determinação em nível de traços dos agrotóxicos produzidos, em única etapa, instigou ao planejamento deste trabalho. Sendo assim, foi escolhida a técnica cromatográfica de gases acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) a ser validada para a separação e quantificação de específicos agrotóxicos produzidos em empresa local.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e validar método analítico para avaliar a presença de agrotóxicos em efluentes industriais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Selecionar os compostos que serão analisados nas amostras de águas residuais da indústria agroquímica.
- ✓ Identificar e classificar os compostos selecionados.
- ✓ Validar o método empregando análise por cromatografia de gases acoplada ao espectro de massas CG-EM para determinação dos agrotóxicos em águas residuais da indústria agroquímica.
- ✓ Reduzir o número de equipamentos e consumo de solventes para análise.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AGRICULTURA

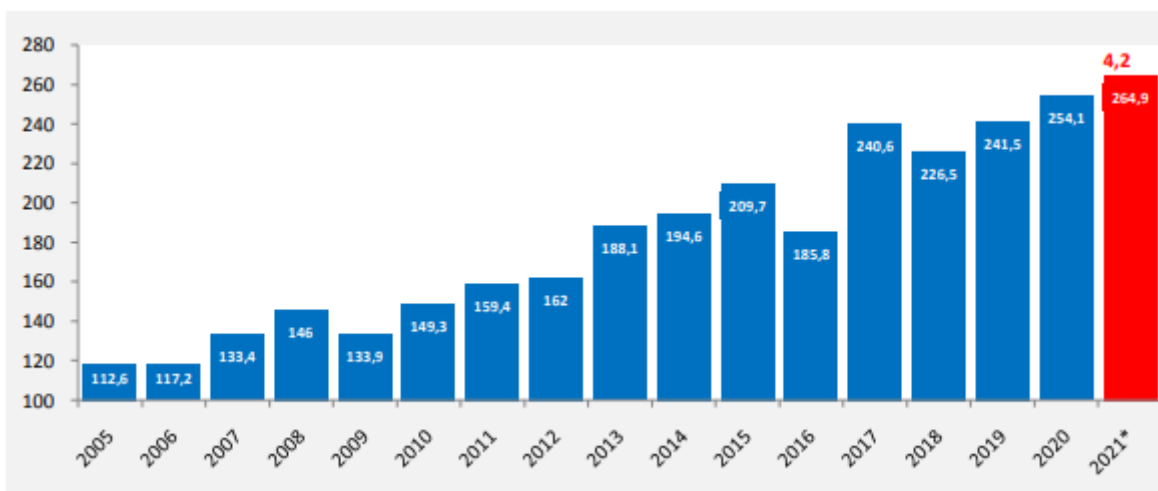
Após a segunda guerra mundial, mudanças como a globalização econômica e introdução de tecnologias e modernizações agrícolas geraram um grande aumento da produtividade e no desenvolvimento da população urbana e rural (NUNES, 2007).

De acordo com Carneiro et al. (2015) o Brasil está no ranking de maior produtor agropecuário do mundo e o segundo país que mais exporta esses produtos e para manter essas posições, o setor faz uso intensivo de agrotóxicos.

As extensas áreas plantadas são pulverizadas com agrotóxicos com a intenção de atingir as pragas, fungos, insetos ou ervas “daninha” a fim de aumentar a produtividade e reduzir as perdas causadas por essas pragas.

O Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA) de 2021, realizado pelo IBGE (2021), prevê alta na produção em comparação com o ano anterior. A safra de grãos deverá alcançar 264,9 milhões de toneladas, com um aumento significativo considerando o que foi produzido na safra passada, que foi de 254,1 milhões de toneladas. A cultura da soja é a principal responsável por essa variação. Na Tabela 1 é possível observar o crescimento da produção de grãos no Brasil.

Figura 1 - Produção de Grãos de soja, milho e feijão (em milhões de toneladas).



Fonte: IBGE, 2021.

A crescente produção agrícola somada a políticas públicas que incentivem a

produção agroecológica gera o alto consumo de agroquímicos no país. O clima tropical do Brasil é um outro fator no uso de agroquímico, o qual favorece a proliferação de pragas e, conseqüentemente, a possibilidade de mais aplicação de defensivo agrícola em safra de inverno e safrinha, para não ocorrer a quebra do ciclo de reprodução. Diferente do que ocorre em países de clima temperado que em época de inverno as pragas são inativadas pelo frio (MAPA, 2018).

3.2 DEFENSIVOS AGRÍCOLAS

A publicação da Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074/2002 que dispõe sobre:

A pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins (BRASIL, 2002).

Essa Lei regulamentou os defensivos agrícolas que passaram a ser reconhecidos como “ 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; substâncias e produtos, empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 2002).

O termo agrotóxico também chamados de defensivos agrícolas, biocidas, agrotóxicos e praguicidas foi introduzido pelas legislações estadual e federal nos últimos anos. Sua classificação quanto à composição química pode ser dividida em três principais grupos: compostos inorgânicos, compostos de origem vegetal e compostos orgânicos. A classificação também pode ser dada considerando à sua ação: inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, entre outros, conforme Tabela 1. Quanto à estrutura química dos mesmos: organoclorados, organofosforados, piretróides, tiocarbamatos, derivados de uréia, entre outros (BRONDI, 2000).

Tabela 1 - Classificação química dos agrotóxicos.

Classificação quanto à natureza da praga controlada	Classificação quanto ao grupo químico	Exemplos
Inseticida	Inorgânicos	Fosfato de alumínio
	Extratos vegetais	Óleos vegetais
	Organoclorados	Aldrin, DDT
	Organofosforados	Clorpirifós
	Carbamatos	Carbofurano, carbaril
	Piretróides sintéticos	Deltametrina, permetrina
	Neonicotinóides	Imidacloprido
	Fenilpirazóis	Fipronil
Herbicida	Triazina	Atrazina
	Arylurea	Diuron
Fungicida	Inorgânicos	Calda bordalesa, enxofre
	Triazóis	Tebuconazol
	Estrobirulina	Picoxistrobina
Acaricida	Organofosforados,	Dicofol, teradifon
	Dinitrofenóis	Dinocap, quinometionato

Fonte: Adaptado de PERES, 2003.

Inseticidas são compostos químicos ou biológicos que quando aplicados em dose adequadas, direta ou indiretamente sobre os insetos, provocam a sua morte (GALLO et al., 2002). O controle químico de pragas utilizando inseticidas é destinado ao uso em setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas em pastagem, na proteção de florestas e de outros ecossistemas ou ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição flora ou fauna, no intuito de preservar da ação danosa de seres vivos nocivos (ANDREI, 2001).

Os fungicidas representam na atualidade a principal ferramenta complementar no manejo de doenças de plantas, caracterizados por produtos modernos e compatíveis com os conceitos de manejo integrado de doenças. Os fungicidas são compostos químicos empregados em controle de doenças nas plantas causadas por fungos, bactérias e algas. Em alguns casos esses compostos químicos não matam os fungos, apenas inibem, temporariamente a germinação dos esporos (ZAMBOLIM et al., 1995; KIMATI, 1995).

Os herbicidas possuem ação inibidora de ervas denominadas de daninhas, são compostos que têm atividade biológica importante para a produção de alimentos

(STEPHENSON et al., 2006). Na década de 1940, havia um limitado número de herbicidas disponíveis para uso, simplificando a escolha para o uso em: 2,4 D para folhas largas, ou um dos herbicidas não seletivos, tais como arsenato de chumbo ou sais. Na década de 1970 o desenvolvimento de herbicidas se acelerou e atualmente a lista de herbicidas disponíveis no mercado aumentou (LEIN et al., 2004). O mecanismo de ação é relacionado ao primeiro passo bioquímico ou biofísico no interior celular a ser inibido pela atividade herbicida. Esse processo inicial pode ser suficiente para matar as espécies sensíveis. Porém, normalmente, diversas outras reações químicas ou processos são necessários para se matar uma planta, cujo somatório é denominado modo de ação. Os herbicidas normalmente inibem a atividade de uma enzima/proteína na célula e, como consequência, desencadeiam uma série de eventos que matam ou inibem o desenvolvimento da célula e do organismo (VIDAL, 2002).

Os agrotóxicos utilizados no extermínio de ácaros são denominados acaricidas. O método de controle para o carrapato que mais tem sido utilizado desde a década de 50 é o uso de acaricidas (PRUETT, 1999). Apesar de atualmente ser o único método eficaz é também dispendioso, além de poder causar danos ao meio ambiente e à saúde pública, através da contaminação de rios e solos. Ao longo destas décadas, foram utilizados, sequencialmente, acaricidas baseados em compostos arsenicais, organoclorados, organofosforados, carbamato, formamidinas e piretróides. A troca dos princípios ativos tem sido uma necessidade devido ao surgimento de populações resistentes (PRUETT, 1999).

Os agrotóxicos organoclorados destacam-se entre os principais agentes contaminantes por apresentarem elevada persistência ambiental. Esses compostos foram intensamente empregados no combate a insetos transmissores de doenças fatais como malária e febre amarela e, também, no controle de pragas que afetavam a produção agrícola (HASSAL, 2002). Devido ao potencial tóxico e por serem bioacumulativos e persistentes no meio ambiente, os organoclorados tiveram seu uso restrito ou suprimido em muitos países (BAIRD, 2002). No Brasil, a comercialização, o uso e a distribuição de alguns agrotóxicos organoclorados destinados à agropecuária foram proibidos em 1985 pela Portaria 329 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1985). Esta medida não eliminou completamente o emprego desses compostos no Brasil, uma vez que permitia a utilização de alguns organoclorados em campanhas de saúde pública e na agricultura em caráter emergencial (MAPA, 1985).

3.3 FORMULAÇÃO DOS DEFENSIVOS AGRÍCOLAS

A formulação dos defensivos acontece na transformação do produto técnico em uma forma conveniente de uso. Isso ocorre através das misturas do ingrediente ativo (produto técnico) com outros componentes inertes e auxiliares da formulação, onde o produto final possa ser dispersado e cumprir a sua finalidade biológica. Os ingredientes ativos (IA) possuem características físico-químicas distintas sendo líquidos viscosos e cristais. Eles podem ser ou não, solúveis em água ou solventes orgânicos, sendo necessário conhecer as principais características físico-químicas dos ingredientes ativos pois serão importantes na escolha do tipo de formulação (AZEVEDO, 2006).

As formulações de acordo com GALLO et al. (2002) podem ser do tipo: pó seco, pó molhável, pó solúvel, granulados, concentrados emulsionáveis, soluções concentradas, suspensão líquida, microencapsulada, isca e espelhantes adesivos.

Para que as formulações sejam eficientes no controle das culturas, algumas necessidades físico-químicas relacionadas ao tipo de formulação devem ser consideradas conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Necessidades de uma formulação para uso em culturas agrícolas.

Tipo de Formulação	Necessidades
Pó molhável (PM)	Boa suspensibilidade e dispersão em água Boa granulação e partículas muito pequenas O pó deve misturar-se rapidamente com a água Pequena formação de espuma
Concentrado emulsionável (CE)	Emulsificação espontânea em água, resultando uma emulsão estável e homogênea, com aspecto leitoso
Pó solúvel (PS)	Dissociação rápida e formação de uma solução aquosa sem resíduos
Concentrado solúvel (CS)	Formação de uma solução límpida em água Formação homogênea para a aplicação em diluição em água, sob a forma de solução verdadeira dos ingredientes ativos
Suspensão concentrada (SC)	Dispersão espontânea em mistura com água Suspensão estável do ingrediente ativo
Pós secos (P)	Dispersão espontânea em mistura com água Suspensão estável do ingrediente ativo
Grânulos e micro grânulos (GR)	Grânulos e micro grânulos

Ultrabaixo volume (UBV)	Baixa volatilidade Baixa viscosidade Não deve conter substâncias sólidas em suspensão.
-------------------------	--

Fonte: Adaptado de AZEVEDO, 2006.

Os limites aceitáveis na composição da formulação do produto são regulamentados pela portaria Nº 45, de 10 de dezembro de 1990, onde no artigo 11 determina que os resultados analíticos da avaliação química devem obedecer aos limites de acordo como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Limites aceitáveis de ingrediente ativo (IA) para formulação dos produtos.

Quantidade declarada do I.A. em g/kg ou g/l do produto	Limites aceitáveis de diferença (%)	Valor declarado em g/kg ou g/l de I.A.	Limites aceitáveis em g/kg ou g/l
500 ou mais	± 25	700	675 a 725
250 a 500	± 05	400	380 a 420
100 a 250	± 06	200	188 a 212
25 a 100	± 10	80	72 a 88
0 a 25	± 1,5	10	8,5 a 11,5

Fonte: Adaptado MAPA, 1990

A composição dos defensivos agrícolas é o princípio ativo e os ingredientes inertes que são utilizados como diluentes ou veículo para o princípio ativo e alguns adjuvantes para atingir a eficácia desejada no produto. De acordo com AZEVEDO (2006), os adjuvantes mais utilizados na formulação são:

Surfactantes: Ajudam na compatibilidade com água permitindo boa adesividade e absorção do ingrediente ativo pelos tecidos vegetais.

Dispersantes: Facilitam a dispersão dos pós nas misturas mantendo-os em suspensão evitando a formação de grumos que podem causar obstrução nos bicos aplicadores da pulverização.

Emulsionantes: Responsável por compatibilizar o ingrediente ativo e os solventes da formulação com água, reduzem a tensão superficial entre a gota pulverizada e superfície de contato, aumentando a superfície de contato do ingrediente ativo e do alvo aplicado.

Estabilizantes: Evitam a decomposição do ingrediente ativo, mantendo por longo

tempo as características da formulação durante o período de armazenamento sob ação de calor, luz e umidade.

3.4 PROPRIEDADES DOS ANALITOS

Os compostos deste estudo foram selecionados devido a necessidade do monitoramento em efluente industrial (água) gerados após a limpeza de tanques e equipamentos. Estes agrotóxicos possuem características distintas no aspecto físico-químico como polaridade e volatilidade e essas diferenças de propriedades influenciam na detecção.

Para o desenvolvimento analítico foram verificadas algumas propriedades de cada composto visando maior seletividade, sensibilidade e rapidez na separação dos compostos. A Tabela 4 mostra a identificação de cada composto do estudo o grupo químico ao qual pertence, classe e a fórmula estrutural.

Tabela 4 - Identificação do grupo, classe e fórmula estrutural dos compostos estudados neste trabalho.

Nome comum	Grupo Químico	Classe	Massa Molar	Form. Molecular	Fórmula Estrutural
Atrazina	Triazina	Herbicida	215,7	$C_8H_{14}ClN_5$	
Diuron	Uréia	Herbicida	233,1	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$	
Clorpirifós	Organofosforado	Inseticida	350,6	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	
Picoxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	367,3	$C_{18}H_{16}F_3NO_4$	
Tebuconazol	Triazol	Fungicida	307,8	$C_{16}H_{22}ClN_3O$	

Fonte: ANVISA, 2019.

Na Tabela 5 é apresentado algumas propriedades físico-químicas de interesse analítico dos compostos do estudo.

Tabela 5 - Propriedades físico-químicas dos compostos.

Nome comum	Solubilidade água / Acetona (20°C, mg.L ⁻¹)	Log P (Kow) (25°C)	Ponto de Fusão (°C)	Pressão de Vapor (20°C, mPa)	Constante de Henry (Pa m ³ mol ⁻¹)
Atrazina	33,0 / 31,0	2,50	175,8	3,85 10 ⁻²	1,50 10 ⁻⁴
Diuron	36,4 / 53,0	2,85	158,0	1,15 10 ⁻³	7,04 10 ⁻⁶
Clorpirifós	1,4 / 6500	4,7	43,5	2,7	6,76 10 ⁻¹
Picoxistrobina	3,1 / 25000	3,6	367,3	5,50 10 ⁻³	6,50 10 ⁻⁴
Tebuconazol	36 / -	3,7	307,8	1,70 10 ⁻³	1,00 10 ⁻⁵

Fonte: PESTICIDE, 2018

A interpretação das propriedades físico-químicas apresentada na Tabela 5, é apresentado de forma resumida na Tabela 6.

Tabela 6 - Interpretação das propriedades físico-químicas dos compostos.

Propriedade físico-química	Critério para interpretação	Significado
Solubilidade em água (mg.L ⁻¹)	< 50 = Baixa 50 - 500 = Moderada > 500 = Alta	Quantidade máxima por volume de água
Coefficiente de partição octanol-água (log P)	< 1,0 = Baixa 1,0 - 2,5 = Moderada > 2,5 = Alta	Estimativa da hidrofobicidade ou tendência de partição em meio orgânico
Ponto de fusão	Não classificado	Temperatura qual a substância passa do estado sólido ao estado líquido
Pressão de Vapor (20°C, mPa)	> 1,0 10 ⁻⁴ = Volátil 1,0 10 ⁻⁴ - 1,0 10 ⁻⁶ = Moderadamente Volátil < 1,0 10 ⁻⁶ = Não volátil	Indica volatilidade da substancia pura a temperatura de referencia
Constante de Henry (Pa m ³ mol ⁻¹)	> 2,5 10 ⁻⁵ = Volátil 2,5 10 ⁻⁷ - 2,5 10 ⁻⁵ = Moderadamente volátil < 2,5 10 ⁻⁷ = Não volátil	Indica volatilidade da substancia em solução a temperatura de referencia

Fonte: IUPAC, 2021

3.4.1 Ingrediente ativo Atrazina

A Atrazina é um herbicida de nome comum 2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina, tem seu uso seletivo utilizado no controle pré e pós emergente de plantas infestantes

de diversas culturas agrícolas, como milho, sorgo e cana de açúcar. Algumas pragas controladas são: glória da manhã; grama de curral; joio; quartel dos cordeiros; *crabgrass*; *pigweed*; trigo mourisco; *ragweed*; *foxtail* (IUPAC,2021). A Atrazina atua de modo de ação seletiva, sistêmica com atividade residual e foliar. Assim como outros herbicidas do grupo das triazinas atuam por inibição da fotossíntese (fotossistema II), conduzindo ao bloqueio do transporte de elétrons. As plantas sensíveis à atrazina sofrem de clorose (amarelecimento das folhas) a qual conduz à necrose dos tecidos. Nas espécies tolerantes à Atrazina, como é o caso do milho, o herbicida é eficientemente metabolizado em formas não tóxicas (BIRADAR, 1995).

3.4.2 Ingrediente ativo Clorpirifós

Clorpirifós é um inseticida cristalino da classe dos organofosforados de amplo espectro e acaricida usados para controlar pragas de solo e folhagem atua inibindo a transmissão dos receptores causando envenenamento por colapso do sistema nervoso do inseto. É utilizado para controlar vários tipos de insetos como: escala; pulgão lanoso; rolo de folhas; lagartas; lagarta da orelha do milho; *armyworm*; *cutworms*; *rootworms*; baratas; besouros contra pulgas; moscas; cupins; formigas de fogo nas culturas de cereais incluindo cevada, trigo; algodão; frutas incluindo maçãs, peras, uvas, abacaxis, bananas, morangos, manga; tomates; nozes; legumes incluindo cenouras, repolhos, couve-flor, couve de Bruxelas (IUPAC, 2021).

3.4.3 Ingrediente ativo Diuron

O Diuron é um herbicida pré-emergente pertencente à família fenilamida e da subclasse de feniluréia (Giacomazzi e Cochet, 2004). É conhecido como um herbicida fotossistema II, que atua de modo sistêmico, sendo absorvido pelas raízes, inibindo fortemente a fotossíntese (Ali et al., 2014; Holmes, 2014). Representa uma importante classe de herbicidas de contato, aplicado no controle de plantas daninhas de folhas largas, gramíneas e musgos em uma variedade de situações agrícolas e não agrícolas, tanto em pré como em pós emergência (Katsumata et al., 2009). Algumas das pragas controladas são: *bermudagrass*; *fathen*; *pigweed*; *charlock*; *sowthistle*; rabanete selvagem; nabo selvagem; *capeweed*; *deadnettles*; papoulas; capim-arroz. Ele é usado principalmente nas culturas de cana-de-açúcar, soja, algodão, milho, café, frutas cítricas e superfícies cultivadas, incluindo margens de estradas, caminhos de ferro e parques (IUPAC, 2021).

3.4.4 Ingrediente ativo Picoxistrobina

O princípio ativo Picoxistrobina é um fungicida para cereais de amplo espectro usado para controlar ampla gama de doenças, incluindo ferrugem e bolor. Algumas das pragas controladas são: ferrugem marrom e amarelo; mancha da folha; mancha bronzeada; oídio; mancha de rede; doenças do ouvido; esclerotinia (IUPAC, 2021). Atua inibindo a respiração celular ligando-se a um local específico nas mitocôndrias, desta forma impedem a transferência de elétrons levando a diminuição da taxa de oxidação do NADH (dinucleotídeo de nicotinamida e adenina) e síntese do ATP (adenosina trifosfato). Em decorrência a isso a produção de energia é parada e o parasito (fungo) morre. As estrobilurinas (grupo químico do picoxistrobina) são conhecidas como fungicidas inibidores quinonas (QoI), e apresentam ação rápida e concentrada no primeiro período do ciclo de vida dos fungos (estágio de esporos). As estrobilurinas produz nas plantas uma coloração mais verde (“efeito verde”) elas proporcionam um aumento significativo no volume e na qualidade da colheita. A maioria dos fungicidas estrobilurinas tem um período residual de aproximadamente 21 dias (BALBA, 2007).

3.4.5 Ingrediente ativo Tebuconazol

O Tebuconazol é um fungicida eficaz contra várias doenças foliares em cereais e outras culturas agrícolas, algumas das pragas controladas são: ferrugem listrada; mancha amarela da folha; oídio; podridão sclerotinia; mancha negra; mancha de rede (IUPAC, 2021). Em relação à classificação toxicológica, enquadra-se na classe III, sendo considerado medianamente tóxico. Possui ação sistêmica e persistente de 20-25 dias no ambiente. Seu efeito fungicida é resultado da inibição do citocromo P450 (CYP450) dependente da enzima C14 α -esterol-demetilase, a qual promove a demetilação do lanosterol, um intermediário na biossíntese do ergosterol e interfere com a síntese de esteróis, que são essenciais para a constituição normal das membranas celulares (SANCHO et al., 2010).

3.5 PRODUÇÃO

As indústrias químicas estão sempre em busca de otimizar os processos de produção, seja agilizando os processos ou em busca de melhorar a eficácia na utilização dos princípios ativos. As reduções dos custos e tempo de produção visam redução de custo para o cliente final e melhoria na segurança ao meio ambiente (LIMA e SANT'ANNA, 2010).

Nas chamadas formulações são incorporados os ingredientes ativos e cada

formulação é elaborada para que os ingredientes ativos possam atingir seu potencial total. Durante o desenvolvimento de produtos agroquímicos, a escolha certa do tipo de formulação ajuda a diminuir a sua toxicidade ao meio ambiente e a sua volatilidade (CROPLIFE, 2019). As formulações podem ser do tipo de pré-misturas ou de pronto uso. As pré-mistura são formulações que necessitam ser diluídas (geralmente com água) até uma concentração adequada, no ato da aplicação. Por exemplo: concentrado emulsionável (EC), suspensão concentrada (SC). Já formulações de pronto uso são formulações cujas concentrações já estão adequadas para aplicação em campo. Por exemplo: granulados (GR) e ultrabaixo volume (UBV). Estas praticamente não são mais utilizadas devido à riscos de contaminação do ambiente (deriva) e segurança na aplicação (SILVA, 2005).

3.6 CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO NO PROCESSO DE PRODUÇÃO

A necessidade no controle de agrotóxicos durante o processo de fabricação e nos efluentes industriais deste processo, requer métodos analíticos rápidos, confiáveis e de baixo custo para determinação de diversos princípios ativos. Os procedimentos de análises devem contemplar não somente as concentrações elevadas, mas também determinações em nível de traços para os efluentes do processo de produção.

Em uma empresa não é viável manter um equipamento para cada formulação, visto que isso dependeria de um espaço físico maior devido ao portfólio diversificado das empresas agroquímicas, sendo assim necessário um planejamento prévio de utilização dos formuladores e também uma boa prática de limpeza para revezamento de produção de diferentes agrotóxicos. As vendas sazonais, que vai de acordo com as necessidades dos clientes e do campo, permitem que haja a rotatividade entre a produção de produtos durante o ano. Devido a formulação e produção dessas diversidades de agrotóxicos, com propriedades e classes diferentes, surgiu a necessidade de análises multiresiduais do processo de produção, onde é de extrema importância que ocorra a devida descontaminação das linhas produtivas e equipamento entre cada produção. Sem um controle cuidadoso, a contaminação por ingredientes ativos previamente presentes nos equipamentos pode ocorrer e possivelmente causar efeitos adversos em culturas sensíveis e tratadas ou em espécies não alvo, como por exemplo fitotoxicidade (CROPLIFE, 2015). Uma política de prevenção a contaminação deve ser seguida à risca dentro de toda empresa que produza defensivos agrícolas para diminuir os riscos de contaminação cruzada. De acordo com a Croplife (2019) existem alguns requisitos gerais que os fabricantes devem seguir:

- a) Avaliações de risco de prevenção de contaminação documentadas devem ser conduzidas.
- b) Os níveis de limpeza devem ser definidos.
- c) Os produtos não herbicidas não devem ser fabricados nos mesmos equipamentos que os herbicidas, isto é, a separação de unidades de fabricação deve ser garantida. Isso se aplica a todas as operações de síntese, formulação, envase e embalagem. Uma exceção a essa regra somente pode ser permitida quando uma verificação rigorosa da limpeza for confirmada e houver uma aprovação documentada da alta administração.
- d) O manuseio de matérias-primas deve ser avaliado com o objetivo de minimizar o risco de uso de matérias-primas em comum para herbicidas e não herbicidas.
- e) Equipamentos portáteis móveis (aspiradores a vácuo, mangueiras flexíveis, bombas, ferramentas) devem ser dedicados às áreas de herbicidas ou não herbicidas.
- f) Recipientes recarregáveis (IBCs, ISOs, Big Bags, caminhões ferroviários) devem ser tratados da mesma maneira que os equipamentos químicos quando entram em contato com produtos.
- g) A reciclagem e o retrabalho devem ser administrados no sentido de se minimizar riscos de contaminação cruzada.
- h) Todos os materiais devem ser clara e devidamente rotulados, incluindo, entre outros: matérias-primas, intermediários, formulações a granel, produtos acabados, retrabalho, reciclados e resíduos.
- i) Procedimentos de limpeza eficazes e métodos analíticos validados devem estar disponíveis para analisar resíduos em líquidos de lavagem (enxágue) e/ou no produto subsequente.
- j) Uma operação de limpeza deve ser executada logo que possível após a produção ter parado, não apenas na troca de um produto para o próximo, mas também se o equipamento for deixado inativo. Isso se aplica a todos os equipamentos de síntese, formulação, envase e embalagem.

Existe um grande risco durante a produção de diferentes produtos em uma mesma planta industrial, por isso faz-se necessário um controle do nível de limpeza durante a troca dos produtos. Para isso deve ser considerado a categoria do produto (herbicida, inseticida ou fungicida), a toxicidade em culturas não alvo ou organismos não alvos (CROPLIFE, 2019). Em caso de falha no processo de limpeza os efeitos podem causar desde impurezas residuais até a perda da cultura no caso de contaminação de herbicida em um fungicida ou inseticida.

O nível de limpeza é definido por cada empresa, que define através de estudos. A

EPA (*United States Environmental Protection Agency*) considera toxicologicamente significativa a presença de contaminante em uma concentração maior que a concentração especificada apresentada no quadro 1, que mostra a classificação de acordo com as categorias citadas no Regulamento de Agrotóxicos (PR) Aviso 96-8, de 31 de outubro de 1996 (US EPA PRN 96-8).

Quadro 1 - Níveis toxicologicamente significativos de acordo com o Regulamento de Agrotóxicos (PR).

Categoria	Tipo de contaminante	Tipo de pesticida contaminado	Nível Toxicologicamente Significativo (3) (ppm)(4)
1	Inseticida (5), fungicida, moluscicida ou nematocida em...	Qualquer inseticida, fungicida, moluscicida, nematocida, herbicida, regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante.	1000
2	Herbicida, regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante em...	Qualquer pesticida (6) em que o contaminante seja aceito para uso em todos os locais onde o produto é rotulado.	1000
3	Qualquer pesticida (6) que não seja um herbicida de baixa taxa de aplicação (7) em...	Qualquer pesticida antimicrobiano.	1000
4	Herbicida de taxa normal (8), regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante em...	Qualquer herbicida, regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante.	250
5	Qualquer pesticida (6) em...	Um pesticida (6) aplicado no corpo humano.	100
6	Herbicida de taxa normal, regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante em...	Qualquer inseticida, fungicida, moluscicida ou nematocida.	100
7	Herbicida de baixa taxa de aplicação em...	Um herbicida de baixa taxa de aplicação.	Nível de quantificação (9) ou 100 ppm, o que for mais alto.
8	Herbicida de baixa taxa de aplicação em...	Um herbicida de taxa normal, regulador de crescimento de plantas, desfolhante ou dessecante.	Nível de quantificação (9) ou 20 ppm, o que for mais alto
9	Herbicida de baixa taxa de aplicação em...	Um pesticida (6) que não seja herbicida, regulador de crescimento de planta, desfolhante ou dessecante.	Nível de quantificação (9) ou 1 ppm, o que for mais alto

Fonte: EPA, 1996

3.7 CROMATOGRAFIA

Um dos métodos mais modernos de análise química segundo LANÇAS (1993) é a cromatografia que se destaca pela separação, identificação e quantificação de espécies químicas, possibilitando a caracterização e quantificação de compostos em misturas complexas. A cromatografia é uma técnica de separação que se apresenta nos modos cromatográficos: cromatografia de gases (CG), cromatografia a líquido (CL) e cromatografia com fluido supercrítico (CFS). Mesmo a cromatografia pertencendo a técnica de separação, ela precisa utilizar outras técnicas, principalmente a espectroscopia para a identificação dos analitos separados. Desta forma a análise cromatográfica de uma substância química envolve as etapas de preparo de amostra, cromatografia e identificação dos compostos separados (LANÇAS, 2004).

3.7.1 Cromatografia de gases

A técnica de cromatografia de gases baseia-se na distribuição de substâncias entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa), sendo aplicada na análise de gases ou substâncias volatilizáveis. Em função da constituição da fase estacionária, pode-se dividir a cromatografia de gases em: cromatografia gás-líquido (CGL), sendo a fase estacionária uma película delgada líquida, recobrindo um sólido inerte denominado suporte e cromatografia gás-sólido (CGS), sendo a fase estacionária um sólido de grande área superficial. A cromatografia de gases é utilizada quando a amostra é volátil e termicamente estável. O esquema de um cromatógrafo a gás é constituído por um cilindro de gás ligado a um controle de fluxo de gás, um injetor, coluna, detector e um registrador (LANÇAS, 2004).

Sempre que possível a cromatografia de gases é escolhida, devido apresentar menor consumo de solventes orgânicos, menor custo operacional, boa eficiência e rapidez. Os detectores mais empregados na cromatografia de gases são: detector de ionização em chama (DIC), detector por captura de elétrons (DCE), detector por condutividade térmica (DCT) e pode ser acoplado ao espectrômetro ou analisador de massas (EM) (PEDROSO, 2011).

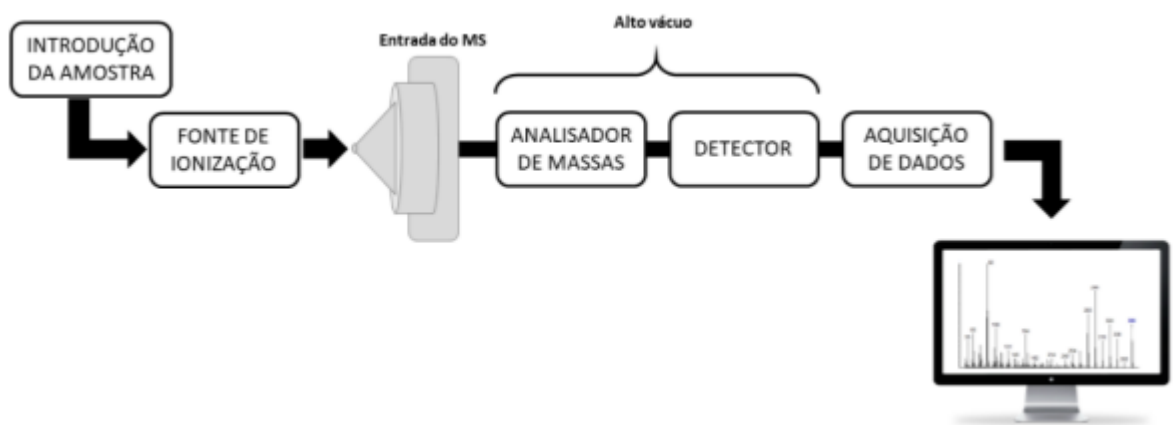
A determinação de resíduos de agrotóxicos em água, seus metabólitos e produtos de transformação são normalmente realizadas através de métodos de separação, especialmente por cromatografia de gases (HATRIK & TEKEL, 1996).

3.7.2 Cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

Dentre as inúmeras técnicas para determinar agrotóxicos, destacam-se as cromatográficas, pois, possuem alto grau de separação de analitos, alta sensibilidade, detectabilidade e seletividade, o que permite fazer análises de um número variado de resíduos através de sistemas de detecção por espectrometria de massas. Os estudos de cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) visam a identificação e confirmação dos principais componentes presentes nas frações de interesse, por isso existem um grande número de publicações para qualificação e quantificação utilizando a técnica CG-EM, em diferentes matrizes. A espectrometria de massas tem se tornado fundamental para determinação de traços e ultra traços, sendo o diferencial desta técnica a possibilidade de o detector ser: qualitativo, seletivo, específico, sensível e universal para os compostos de interesse (AGILENT, 2020).

O diagrama esquemático de um espectrômetro de massas é apresentado na Figura 2.

Figura 2 - diagrama esquemático de um espectrômetro de massas



Fonte: JURISCH, 2019.

A capacidade do espectro de massas diferenciar entre as massas de dois picos adjacentes, onde a altura do vale entre eles não é maior que 10% de suas alturas, é chamado de resolução. Os espectros de massas podem ser classificados como de baixa ou alta resolução, essa definição está relacionada de acordo com o número de casas decimais das massas dos íons, sendo que os equipamentos de alta resolução fornecem massa de íons com massa molecular com 4 casas decimais.

3.7.2.1 TIPOS DE ESPECTRÔMETROS DE MASSAS

Os espectrômetros de massas podem ter diferentes sistemas de separação dos íons durante a ionização, o analisador de massas mais utilizados são os do tipo quadrupolo, armadilha de íons (*ion trap*) e tempo de voo (*Time-of-flight*) (LANÇAS, 2004).

O analisador de massas do tipo quadrupolo tem esse nome devido a existência de quatro hastes paralelas que estão arranjadas em um quadrado, essas barras recebem voltagens, gerando campo eletromagnético que durante a passagem dos íons, definido pela razão massa/carga, passarão pelo filtro e chegarão ao detector (AGILENT, 2016).

No analisador do tipo armadilha de íons ao invés das quatro hastes paralelas, a armadilha de íons consiste em um eletrodo de anel circular mais duas tampas de extremidade que formam uma “armadilha”. Todos os íons de polaridade selecionada sobre o intervalo de massa selecionado podem ser armazenados de uma vez na armadilha. Os íons podem ser manipulados realizando isolamento múltiplo e estágios de fragmentação até a hora de detectar (AGILENT, 2016).

Já para o modelo por tempo de voo, um pulso de alta tensão é aplicado acelerando os íons no tubo de voo. Um espelho de íon no final do tubo reflete os íons e os envia para o detector que registra sua hora de chegada (AGILENT, 2016).

O espectrômetro de massas pode ser operado no modo de varredura de massas (*Scan Mass* ou *SIM (Selected Ion Monitoring)*). No modo *scan* o espectrômetro faz a varredura de todas as massas dentro do espectro de operação ou em uma determinada faixa de m/z , já o modo *SIM* o espectrômetro de massa faz a separação de somente um íon ou alguns íons específicos dependendo do equipamento. Esse modo permite que o equipamento aumente a sensibilidade pois ele não faz a varredura por toda massa do espectro.

3.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO

A definição de validação, de acordo com o Inmetro é:

Comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atendidos (CGCRE-008, de 2020).

Ainda de acordo com esta publicação do Inmetro (CGCRE-008, 2020), o método desenvolvido neste trabalho pode ser considerado método não normalizado, visto ser um método desenvolvido pelo próprio laboratório. A validação da metodologia escolhida adotou um modelo seguindo a normatização da ABNT NBR 14029:2016 que estabelece:

O procedimento para validação de métodos para determinação do teor de ingrediente ativo em produto técnico, teor de ingrediente ativo em formulação e teor de impureza em produtos agrotóxicos e afins (ABNT, 2017).

A validação em análise química ficou mais intensa na década de setenta, devido a variabilidade de resultados obtidos em análises toxicológicas submetidas a estudos interlaboratoriais por órgãos do governo americano. A partir de iniciativas de instituições como *Food and Drug Administration (FDA)* e a *Environmental Protection Agency (EPA)*, criou-se o sistema denominado ISO/IEC-25 (do inglês *International Standardization Organization/International Electrotechnical Commission*) com objetivo de padronizar as exigências a serem seguidas pelos laboratórios para demonstrarem competência nos serviços e tornar os resultados internacionalmente aceito e passível de reprodução em outros laboratórios (LANÇAS, 2004).

Os laboratórios devem dispor de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio executados levam resultados confiáveis e adequados (INMETRO, 2020).

A validação de método para a análise de agrotóxicos em baixa concentração, de acordo com os critérios da ABNT (2017), deve ser feita através dos parâmetros de validação: seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade e faixa linear de trabalho, precisão e recuperação.

3.8.1 R= recuperação; DPR= desvio padrão relativo.

3.8.2 Seletividade

De acordo com a definição adotada pelo Inmetro (CGCRE-008, 2007): um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros é chamado seletivo. A seletividade de um método de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. (LANÇAS, 2004). A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão comprometidas. A espectrometria de massas em conjunto com separações por cromatografia é uma combinação muito poderosa para identificação de um analito em um extrato. Esta combinação fornece simultaneamente dados de tempo de retenção, razão de massa/carga iônica e dados de abundância.

3.8.3 Sensibilidade

Para LANÇAS (2004) a sensibilidade do método indica a capacidade de discriminar, com fidelidade estabelecida, concentrações próximas de um analito.

A sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Pode ser expressa pelo coeficiente angular da curva analítica, e é determinada simultaneamente com os testes de linearidade. Quanto maior o ângulo de inclinação da reta, mais sensível o método. (INMETRO. DOQ-CGCRE-008).

3.8.4 Linearidade

O Inmetro, através do DOQ-CGCRE-008, define a linearidade como a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. Já de acordo com LANÇAS (2004) a linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado. A quantificação requer que se conheça a dependência entre a resposta medida e a concentração do analito. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real. A equação da reta (equação 1) relaciona as duas variáveis:

$$y = ax + b \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

y = variável dependente (resposta medida em absorvância, altura ou área do pico),

x = variável independente (concentração ou massa),

a = inclinação da reta ou coeficiente angular,

b = interseção com o eixo y ou coeficiente linear.

O valor do coeficiente de correlação deve aproximar-se o mais possível do valor de 1, indicando menor dispersão do conjunto de pontos experimentais. Um coeficiente de correlação acima de 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. (RIBANI, 2004).

Segundo as recomendações do MAPA, 2011, são aceitos valores de coeficiente de determinação (R^2) de 0,95 para curvas preparadas em matriz e 0,97 para curvas preparadas em solvente. Em caso de exclusão de algum ponto da curva analítica, deve-se indicar qual a

ferramenta estatística utilizada (teste de Grubs, ou outros).

3.8.5 Faixa Linear de Trabalho

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito no qual o método pode ser aplicado. No limite inferior da faixa de concentração, os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e quantificação. No limite superior, estes fatores dependem da resposta do equipamento. Uma relação linear simples, descrita pela equação $y = ax + b$, só é válida em um determinado intervalo de massa ou concentração da espécie medida. Este intervalo de massas ou concentrações, no qual se pode construir uma curva analítica linear, é a faixa linear dinâmica. Esta pode ser definida como a faixa de concentrações na qual a sensibilidade é aproximadamente constante (Ribani et al, 2004).

Sua avaliação pode ser feita através do uso da razão sinal/massa, conforme equação 3:

$$(S/Q)_i = (S_i - b)/Q_i \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

S = sinal do equipamento,

$(S/Q)_i$ = relação sinal/massa para o i-ésimo ponto da curva,

S_i = sinal medido para dada concentração Q_i , b= interceptor da curva analítica,

Q_i = concentração do analito.

Em uma suposta ausência de erros indeterminados ($r^2 = 1$) e dentro da faixa linear, pode-se provar que $(S/Q)_i = a$ para todos os pares de valores experimentais usados para construir a curva. Na prática, com presença de erros indeterminados o valor de r^2 resulta < 1 e dentro da faixa linear, $(S/Q)_i \cong a$. Se $(S/Q)_i < a$ ou $(S/Q)_i > a$, então o dado pode ser assumido como estando fora da faixa linear.

Para a faixa linear pode ser atribuído um intervalo de 5 % ou 10 % de tolerância acima e abaixo do coeficiente angular, onde os valores obtidos para a razão S/Q podem variar. Valores maiores ou menores situam-se fora da faixa de linearidade (AUGUSTO; ANDRADE e CUSTÓDIO, 2000).

3.8.6 Limite de detecção (LD)

Em determinações de nível traço, é importante saber o menor valor de concentração

do analito detectável no equipamento. Segundo LANÇAS (2004), o limite de detecção corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificada com valor exato. Já para o INMETRO, o LD é a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero. É determinado através de uma análise completa de uma dada matriz contendo o analito. A ABNT (2017) orienta a determinar o limite de detecção pela relação entre o sinal/ruído (S/R) da injeção do padrão analítico de menor concentração da curva analítica. Utilizando o ruído da linha de base, considerando-se que a razão sinal/ruído deve ser 3:1.

3.8.7 Limite de quantificação (LQ)

Conforme o Inmetro (CGCRE-008, 2007), o limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão. Segundo LANÇAS (2004), o limite de quantificação corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade determinada. O limite de quantificação segundo critérios da ABNT (2017) pode ser determinado através de cinco determinações feitas para a solução de calibração de menor concentração da curva analítica. Na prática o limite de quantificação é definido como a concentração do primeiro nível da faixa linear, onde, o desvio padrão relativo (DPR) entre as cinco medidas deve ser menor que o DPR calculado pela equação estendida de Horwitz, diferente do limite de detecção a relação entre sinal/ruído (S/R) deve ser maior ou igual a 10.

3.9 APLICAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS PARA ANÁLISE DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS AQUOSAS

O quadro 2 apresenta a revisão bibliográfica realizada sobre análises de agrotóxicos utilizando técnicas cromatográficas para quantificação em amostras aquosas

Quadro 2 - Métodos analíticos descritos para determinação de agrotóxicos em águas.

Finalidade	Técnica	Resultado	Preparo de amostra	Ref.
------------	---------	-----------	--------------------	------

Determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial	CG-EM	DPR entre 1,3 e 11,9% Recuperações foram de 50,0 a 155,3%	SPE	MARTINS, M. 2004
Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara	CG e HPLC	Recuperação 25,55 - 102,78%	LLE e SPE	BRONDI, S. H. G. 2000.
Determinação de Metacrato em amostras de água	LC-UV	5,7% DPR	MLLD	Xia, J.; Xiang, B.; Zhang, W. 2008
Determinação de 32 agrotóxicos e metabolitos em águas superficiais	CG-EM	Recuperação de 80 a 120% e incerteza expandida < 40%	SPE automático	PLANAS et al. 2006.
Análise de agrotóxicos organoclorados em água de profundidade	CG-EM CG-ECD	$r > 0,97$	SPME	PÉREZ-TRUJILLO P. et. Al., 2002.
Análise de traço de 12 agrotóxicos em amostra de água	CG-ECD CG-EM CG-EM-EM	%DPR : 5,3 – 17,4 Recuperação de 70 – 133%	SPE C-18	VIDAL et al., 2000.
Determinação de 11 agrotóxicos em água do mar	CG-EM	$r > 0,988$ e DPR < 14%	LPME	BASHEER C.; LEE H. K.; OBBARD J. P. 2002.
Monitoramento de HPAs e agrotóxicos no rio Paraíba do Sul no Brasil	CG-EM	Recuperação de 82 – 119% para agrotóxicos e 55-78% para HPAs	SPE C-18 E Polimérico Oasis	AZEVEDO D. A.; GERCHON E.; REIS E. O.
Monitoramento de 8 agrotóxicos entre eles a Atrazina em águas potáveis	CG-EM	Recuperação de 47 – 131% Reprodutividade 5,5 a 20,5%	SPE	QUITANA, J.; MARTÍ I.; VENTURA F.
Determinação simultânea de 29 agrotóxicos em água	CG-EM	Recuperação de 58-105% Repetitividade 6,9-20,5%	SPME	BECEIRO-GONZÁLEZ et al. 2007

Fonte: Próprio autor.

4 METODOLOGIA

4.1 INSTRUMENTAÇÃO, MATERIAIS E VIDRARIAS

Empregou-se cromatógrafo a gás modelo 7890B Agilent (Wilmington, Estados Unidos), equipado com injetor automático modelo 7693 Agilent (Wilmington, Estados Unidos) com amostrador para 100 *vials*. O sistema de injeção é composto por seringa cromatográfica de 10 μL e *liner ultra inert* Agilent, com queda de pressão baixa e lã de vidro.

Na separação dos compostos utilizou-se coluna analítica capilar de baixa polaridade modelo HP5-MS Agilent (19091S-433) de baixo sangramento, com fase estacionária de sílica fundida com 5%-fenil-dimetilpolisoloxano, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 μm .

Para a detecção utilizou-se o espectrômetro de massa modelo 5977A Agilent (Wilmington, Estados Unidos), do tipo *single quadrupole* de ionização por impacto de elétrons a 70 eV, com varredura de 1 à 800 m/z.

A aquisição de dados e o tratamento dos dados foi realizada pelo *software* OpenLab CDS.

Para as pesagens utilizou-se balança analítica Sartorius (São Paulo, Brasil) modelo ED224S, com resolução de 0,01 mg. As balanças foram verificadas com padrões de massas Toledo (São Paulo, Brasil) certificados pela RBC (Rede Brasileira de Calibração).

Para a filtração das amostras foram utilizados filtros PVDF (Whatman) de 0,45 μm . No preparo das soluções utilizou-se vidrarias volumétricas calibradas e certificadas RBC de volume nominal 10, 25 e 50 mL. Foram utilizadas micropipetas de volume variável de 200, 1000 e 5000 μL Brand.

Para amostras foram utilizados *vials* de vidro transparente com tampa e septo de teflon, Agilent.

4.2 SOLVENTES, PADRÕES E AMOSTRAS

- A água utilizada nas fortificações era de poço artesiano
- Acetona grau HPLC, Merck.
- Hélio 99,999%, White Martins
- Amostra sendo resíduo industrial (água) de lavagem de equipamento e linhas de transferência de produtos da fábrica.

As concentrações e fornecedores dos padrões analíticos são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Listagem dos padrões utilizados e fornecedores.

Nome comum	Fornecedor	Pureza (%)
Atrazina	Chem Service	99,1
Diuron	Dr. Ehrenstorfer	98,86
Clorpirifós	Dr. Ehrenstorfer	98,61
Picoxistrobina	Chem Service	98,22
Tebuconazol	Dr. Ehrenstorfer	98,3

Fonte: Próprio autor.

4.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

Preparou-se 50 mL de solução estoque SA de cada pesticida (listados na tabela 1), em acetona, obtendo a concentração de 170,45 a 207,61 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Estas soluções foram preparadas partindo da dissolução de 10 ± 2 mg do padrão de referência em acetona.

A partir de 2 ml da solução estoque SA, preparou-se 50 mL de solução estoque SB em acetona, obtendo uma concentração de 6,82 a 8,30 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O preparo das soluções referência e as soluções de redissolução dos agrotóxicos utilizados para o estudo podem ser visualizados na Tabela 9.

Tabela 9 - Soluções estoque e de redissolução dos agrotóxicos.

Padrões	Massa (μg)	Pureza (%)	Concentração SA ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração SB ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Atrazina	8600	99,1	170,45	6,82
Diuron	10500	98,86	207,61	8,30
Clorpirifós	9500	98,61	187,36	7,49
Picoxistrobina	10500	98,22	206,26	8,25
Tebuconazol	9400	98,3	184,8	7,39
Volume da solução estoque SA (mL)				2
Volume final da solução (mL)			50	50

Fonte: Próprio autor.

4.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES INTERMEDIÁRIAS

As soluções para o estudo de linearidade foram obtidas transferindo-se 0,30; 0,40; 0,50; 0,70; 0,80; 0,90 e 1,00 mL da solução estoque SB de atrazina em balão de 25mL para os pontos P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7. Para o diuron foram transferidos 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70 e 0,80 mL da solução estoque SB de diuron em balão de 25 mL para os pontos

P1, P2, P3, P4, P5, P6. Para o clorpirifós foram 0,30; 0,40; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80 e 0,90 mL da solução estoque SB de clorpirifós em balão de 25 mL para os pontos P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7. Para o picoxistrobina foram transferidos 0,20; 0,30; 0,40; 0,60; 0,80; 0,90 e 1,00 mL da solução estoque SB de picoxistrobina em balão de 25 mL para os pontos P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7, e para o tebuconazol foram transferidos 0,45; 0,50; 0,60; 0,70; 0,80; 0,90 e 1,00 mL da solução estoque SB de tebuconazol em balão de 25 mL para os pontos P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7. Todas as soluções intermediárias foram aferidas com acetona grau HPLC.

As concentrações finais das soluções intermediárias P1 – P7 utilizadas no estudo de linearidade e no preparado das curvas analíticas são apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 - Soluções intermediária para estudo de linearidade e curva analítica.

Padrões	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Vol. (mL) solução estoque SB Atrazina	0,30	0,40	0,50	0,70	0,80	0,90	1,00
Vol. (mL) solução estoque SB Diuron	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80
Vol. (mL) solução estoque SB Clorpirifós	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
Vol. (mL) solução estoque SB Picoxistrobina	0,20	0,30	0,40	0,60	0,80	0,90	1,00
Vol. (mL) solução estoque SB Tebuconazol	0,45	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,00
Volume final da solução (mL)	25	25	25	25	25	25	25
Concentração final Atrazina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,08	0,11	0,14	0,19	0,22	0,24	0,27
Concentração final Diuron Atrazina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,07	0,10	0,13	0,17	0,20	0,23	0,27
Concentração final Clorpirifós ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,09	0,12	0,15	0,18	0,21	0,24	0,27
Concentração final Picoxistrobina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,07	0,10	0,13	0,26	0,30	0,30	0,33
Concentração final Tebuconazol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,13	0,15	0,18	0,21	0,24	0,27	0,30

Fonte: Próprio autor.

Todos os padrões foram estocados em freezer na temperatura de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e protegidos na luz.

4.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES DO LIMITE DE DETECÇÃO

As soluções para o estudo do limite de detecção (solução LD) foram obtidas partindo da solução SB de cada composto apresentado na Tabela 2 em acetona. O preparo das soluções dos agrotóxicos utilizados para o estudo pode ser visualizado na Tabela 11.

Tabela 11 - Soluções para estudo do limite de detecção

Padrões	Atrazina	Diuron	Clorpirifós	Picoxistrobina	Tebuconazol
Concentração SB ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	6,82	8,30	7,49	8,25	7,39
Vol. sol. estoque SB (mL)	0,15	0,12	0,20	0,10	0,32
Volume final solução (mL)	25	25	25	25	25
Concentração final ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,04	0,04	0,06	0,03	0,09

Fonte: Próprio autor.

O preparado da solução LD nessas concentrações teve como critério o ajuste feito de forma a permitir a obtenção da relação sinal ruído, sendo 3 vezes maior que o ruído da linha de base determinados

4.6 PREPARO DAS FORTIFICAÇÕES

Foram escolhidos dois níveis de concentração para o preparo das fortificações conforme sugerido pela ABNT (NBR 14029:2016), as soluções foram preparadas partindo do preparo de uma solução (*Mix*) contendo todos os padrões, essa solução (*Mix*) foi preparada transferindo 2 mL da solução estoque SA de cada padrão (atrazina, diuron, clorpirifós, picoxistrobina, tebuconazol) para um balão volumétrico de 50 mL e aferido com acetona grau HPLC. Em seguida foram preparadas 14 soluções independentes sendo 7 amostras para cada nível (nível 1 e nível 2), essas 14 amostras foram preparadas fortificando uma massa de aproximadamente 500 ± 50 mg de água de poço em balão volumétrico de 10 mL, em seguida adicionado 0,20 mL da solução *Mix* para amostras de recuperação nível 1 e 0,30 mL para as amostras de recuperação nível 2 e aferido com acetona grau HPLC.

A concentração de cada pesticida na solução *Mix* e a concentração aproximada nas amostras de fortificação nível 1 e nível 2 são apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12 - Concentração dos agrotóxicos na solução *Mix* e nas amostras de fortificação nível 1 e nível 2.

Padrões	Atrazina	Diuron	Clorpirifós	Picoxistrobina	Tebuconazol
Conc. na solução <i>Mix</i> ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	6,82	8,30	7,49	8,25	7,39
Conc. fortificação N-1	0,27	0,33	0,30	0,33	0,30
Conc. fortificação N-2	0,41	0,50	0,45	0,50	0,44

Fonte: Próprio autor.

4.7 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas por colaboradores da fábrica de agrotóxicos em frascos PET (polietileno tereftalato) de 250 mL, elas são decorrentes da limpeza e descontaminação de equipamentos e linhas de transferência após o término e/ou troca de produção entre produtos, essas amostras são de matriz em água e foram estocadas em freezer na temperatura de -5 °C e protegidos na luz, o limite estabelecido pela empresa é $< 0,5$ $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para as análises foi pesada 5 g de amostra em balão volumétrico de 10 mL e

aferido o volume com acetona grau HPLC, em seguida a amostra foi filtrada em filtro PVDF (fluoreto de polivinilideno) de 0,45 μm e injetada do equipamento.

4.8 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO

4.8.1 Escolha da coluna

Iniciou-se a otimização cromatográfica de separação pela escolha da coluna cromatográfica. Por CG-EM pode-se utilizar qualquer coluna cromatográfica capilar usada com diferentes detectores (ECD, FID, NPD) desde que essas colunas não tenham perda excessiva da fase estacionária, efeito conhecido como “sangramento” da coluna, por isso foi escolhida a HP5-MS (Agilent) que possui a tecnologia de sangramento minimizado e atende uma ampla faixa de polaridade dos analitos, permitindo melhores separações e detecções.

4.8.2 Separação e identificação dos compostos

A otimização de separação e identificação dos compostos foi feita através de injeções individuais de cada composto de concentração aproximadamente 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no modo *Scan* (Varredura de massas), com varredura de espectro de 50 a 600 m/z.

Para identificação dos compostos, após a aquisição dos espectros de massas das soluções individual de cada composto, os espectros foram enviados para a biblioteca (NIST 14) do *software* do equipamento para a confirmação dos compostos e escolha dos seus respectivos íons moleculares, onde os dois de maior intensidade de cada componente foram monitorados pelo método proposto. Em seguida buscando melhor sensibilidade, seletividade e redução de tempo de análise, foi preparada uma amostra em acetona de concentração aproximadamente 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, composta por todos os compostos do estudo e injetada no equipamento no modo SIM (Monitoramento do íon selecionado). Através destas corridas otimizou-se a programação de temperatura para a separação cromatográfica dos compostos do estudo. Este estudo permite a otimização da programação de temperatura do forno através da observação do comportamento dos compostos em função da temperatura.

4.8.3 Programação da rampa de temperatura do forno

A temperatura é um dos fatores que possibilita ajustar a separação na cromatografia de gases, pois determina o tempo total de análise. Desta forma buscando otimizar a separação e o tempo de análise trabalhou-se com a programação de temperatura do forno para

separação dos compostos do estudo. Devido a diferença de volatilidade e polaridade de cada composto este estudo possibilitou determinar a ordem de eluição dos picos. A programação é inicializada em uma dada temperatura para a eluição dos compostos de maior volatilidade, em seguida é gradualmente aumentada para eluição dos compostos menos voláteis.

O desenvolvimento da rampa de temperatura foi realizado avaliando o tempo de permanência dos compostos em função da temperatura.

Partindo da solução de concentração $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ constituída por todos os compostos do estudo, selecionou-se o modo de varredura de SIM para o detector de massas para identificação dos compostos. Em seguida, foi criada uma série de métodos em sequência com temperaturas iniciais de 120°C a 280°C (de 10 em 10°C , totalizando 17 métodos), para cada método foi mantida a temperatura inicial por 60 minutos.

Após avaliar o comportamento das corridas em dadas temperaturas projetou-se a programação de temperatura do forno para melhor separação e tempo de análise.

4.8.4 Parâmetros de injeção

Para o sistema de injeção da amostra o desenvolvimento incluiu a seleção do solvente utilizado (acetona) devido sua volatilidade e boa solubilidade, quando avaliado para todos os compostos de estudo, sendo solúvel em água. No injetor a temperatura do vaporizador foi mantida a 230°C , garantindo boa volatilização sem degradação dos compostos, o modo de injeção utilizado foi com divisão de fluxo 1:10 (*Split*), esse modo foi definido de modo a prolongar a limpeza da fonte para análise de rotina. O sistema de limpeza da agulha foi definido com 10 lavagens com acetona (5 vezes solvente A e 5 vezes solvente B) antes da injeção e pós injeção, e a lavagem com a amostra 3 vezes. O volume de injeção foi definido com $1,0 \mu\text{L}$ e fluxo de gás de arraste Hélio $1,0 \text{ mL}$ por minuto.

4.8.5 Linha de transferência, fonte e quadrupolo

A temperatura da linha de transferência (Interface CG-EM) foi mantida a 300°C , essa temperatura deve ser superior a temperatura máxima de separação para evitar a condensação dos compostos no final da coluna, as temperaturas da fonte e do analisador tipo quadrupolo foram definidas respectivamente a 280 e 150°C .

4.8.6 Ajuste das massas

O ajuste de massas do equipamento foi realizado pelo autoajuste (*autotune*) do

equipamento, através da infusão do composto de ajuste perfluorotributilamina (PFTBA) para regular a voltagem da eletromultiplicadora e abundância de massa, sendo possível verificação de outros parâmetros como sujeira na fonte, vazamentos e sangramento de coluna. Esse processo é feito automaticamente e o parâmetros são aceitos de acordo com a adequação do sistema. A energia de ionização foi ajustada em 70 eV, operando no modo positivo.

4.8.7 Parâmetros de varreduras

Para a aquisição dos picos cromatográficos, o número de vezes que o equipamento faz a varredura completa (número de ciclos) foi garantido no mínimo de 10 pontos.

4.9 VALIDAÇÃO E GARANTIA DA QUALIDADE

4.9.1 Validação do equipamento

O equipamento utilizado para o estudo foi validado de acordo com o programa de garantia da qualidade, atendendo os requisitos da ISO 17025. O equipamento possui programa de manutenção preventiva, verificações e calibrações periódicas. A Tabela 13 mostra o autoajuste dos parâmetros do espectro de massa por meio da infusão do composto de ajuste perfluorotributilamina (PFTBA).

Tabela 13 - Qualificação do instrumento e critérios de aceitação.

Sistema CG-EM	Monitoramento	Crítérios
Atribuição de massa	<i>Auto tune</i>	m/z 69 (68,8–69,2) m/z 219 (218,8–219,2) m/z 502 (501,8–502,2)
Largura do pico (PW50)	<i>Auto tune</i>	0,55 ± 0,15
Sensibilidade	<i>Auto tune</i>	EM < 1600 V
<i>Background</i>	<i>Auto tune</i>	< 300 picos
Razão isotópica	<i>Auto tune</i>	m/z 69 (≥0,5 e ≤1,6%) m/z 219 (≥3,2 e ≤5,4%) m/z 502 (≥7,9 e ≤12,3%)
Energia (EI)	<i>Auto tune</i>	70 ± 1 eV
Vazamentos	<i>Auto tune</i>	m/z:18 <5% do pico base; 32 e 28 <15% do pico base
Vácuo	<i>Auto tune</i>	< 5,0 ⁻⁵

Fonte: Próprio autor.

4.9.2 Validação do método

Após a otimização das condições de separação e detecção, a validação do método foi realizada de acordo com os critérios de validação conforme estabelecido na norma ABNT (ABNT NBR 14029:2016). Desta forma os parâmetros selecionados para a validação do método de análise de agrotóxicos em efluente industrial foram:

- Seletividade
- Linearidade
- Limite de detecção
- Limite de quantificação
- Exatidão/recuperação
- Repetitividade
- Precisão

4.9.2.1 LINEARIDADE E CURVA ANALÍTICA

A linearidade e a curva analítica foram obtidas através do preparo das soluções analíticas de concentração 0,07 a 0,33 $\mu\text{g mL}^{-1}$, conforme descrito no item 4.4.

Cada solução padrão foi injetada 2 vezes no cromatógrafo, os dados foram processados automaticamente pelo *software* de aquisição de dados do próprio equipamento. Os parâmetros de identificação e integração de cada composto foram:

- Nome do composto
- Espectros de referência
- Íons monitorados
- Tempo de retenção
- Janela de integração
- Relação sinal ruído

Após definidos os parâmetros de identificação dos compostos e as faixas de concentrações, todas as análises foram processadas pelo software do equipamento onde foram obtidos os gráficos de resposta analítica versus concentração e a equação da reta de regressão do modelo linear. A faixa de aplicação foi definida em função da linearidade e dos limites de quantificação e detecção do método.

4.9.2.2 SELETIVIDADE

A seletividade do detector de espectro de massa é considerada de alta seletividade e especificidade, ela é definida como a habilidade do método para determinar com acuracidade e especificidade o analito de interesse na presença de outros componentes em uma matriz de amostra. Seguindo critérios da ABNT (ABNT NBR 14029:2016) foi avaliada a presença de interferentes no sinal analítico de interesse. A avaliação ocorreu da seguinte forma: examinando 3 injeções de cada solução sendo branco amostra (matriz da amostra), branco solvente (acetona), padrão analítico de cada composto. A seletividade do método foi garantida pela ausência dos íons qualificador e quantificador no tempo de retenção dos compostos em amostra do branco amostra (água) e do branco solvente (acetona). Para garantir a seletividade a proporção do íon qualificador em relação ao quantificador deve reproduzir e normalmente aceita-se uma variação de até 30% (SANCO, 2013).

4.9.2.3 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O limite de detecção e de quantificação foram determinados a partir da relação sinal-ruído dos íons selecionados para cada composto do estudo.

Para o LD foram considerados 5 injeções da menor concentração do analito que foi detectada pelo equipamento e que apresentou a relação sinal/ruído maior do que 3. Os cálculos do limite de detecção foram realizados de acordo com a equação 1.

$$LD = \frac{3x (C_{std})}{\left(\frac{S}{R}\right) x C_s} x 100 \quad (1)$$

Onde:

LD é o limite de detecção do método expresso em concentração (% m/m);

C_{std} é a concentração da solução de calibração mais diluída;

(S/R) é a razão entre a altura do sinal e a altura do ruído para o analito no cromatograma da solução de calibração mais diluída;

C_s é a concentração nominal teórica da amostra.

Para o LQ foram considerados 5 injeções da solução de calibração de menor concentração com a relação sinal/ruído maior que 10, onde o desvio padrão relativo (DPR) entre

as cinco medidas seja menor do que o DPR calculado pela equação estendida de Horwitz (ABNT NBR 14029:2017) equação 2.

$$\%DPR \text{ Horwitz} = 2^{(1-0,5 \log C)} \times 0,67 \quad (2)$$

Onde: C = concentração do analito (% m/m) dividido por 100

O cálculo do limite de quantificação foi expresso pela equação 3.

$$LQ = \frac{C_{std}}{C_s} \times 100 \quad (3)$$

Onde:

LQ é o limite de quantificação do método para o analito, expresso como concentração (% m/m);

C_{std} é a concentração da solução padrão (solução LQ) (mg L^{-1});

C_s é a concentração nominal teórica da amostra (mg L^{-1}).

4.9.2.4 CURVA ANALÍTICA

A curva analítica de trabalho foi obtida utilizando 5 pontos dentro da linearidade, sendo os extremos da curva o LQ e o último ponto da linearidade.

4.9.2.5 EXATIDÃO (RECUPERAÇÃO)

Para avaliar quanto os valores dos compostos obtidos no estudo estão próximos ao considerado real, conforme critérios da ABNT (ABNT NBR 14029,2017), foram preparados 2 níveis de fortificações em água de poço (matriz), conforme descrito no item 4.6. A norma não cita quais são esses 2 níveis, portanto optou-se por um nível próximo ao limite de quantificação e um segundo nível próximo ao ponto do meio da curva analítica, por consequência foram preparadas 7 amostras independentes de cada nível e injetada 1 vez cada.

O cálculo de recuperação foi expresso pela equação 4:

$$R(\%) = \frac{C1 + C2}{C3} \cdot 100 \quad (4)$$

Onde

R é a recuperação;

C1 é a concentração encontrada após adição do padrão;

C2 é a concentração encontrada antes da adição do padrão;

C3 é a concentração conhecida adicionada do padrão analítico.

4.9.2.6 PRECISÃO

Para avaliar a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, foi utilizado os critérios da ABNT (ABNT NBR 14029,2017). A precisão foi determinada por meio do ensaio de repetitividade e precisão intermediária.

4.9.2.6.1 REPETITIVIDADE

A repetitividade do instrumento foi avaliada pela injeção de 7 soluções independentes, preparadas com adição de padrão analítico dos compostos de interesse na amostra. O ensaio ocorreu no mesmo dia, no mesmo equipamento onde foram injetadas as sete soluções preparadas de acordo com a fortificação nível 2 (repetitividade 1) conforme descrito no item 3.5. Em seguida, foi feito o tratamento estatístico da média, estimativa do desvio padrão, teste de Grubbs para avaliar a existência de valores dispersos e desvio padrão relativo, ao qual deve estar em conformidade com o valor determinado pela equação estendida de Horwitz conforme critérios da ABNT (ABNT NBR 14029:2016), equação 5.

$$\%DPR \text{ Horwitz} = 2^{(1-0,5 \log C)} \times 0,67 \quad (5)$$

Onde: C = concentração do analito (% m/m) dividido por 100

Para a repetitividade 2 o ensaio foi executado alterando o dia da análise e o analista. Em seguida procedeu conforme a repetitividade 1.

4.9.2.6.2 PRECISÃO INTERMEDIÁRIA

A precisão intermediária foi obtida seguindo critérios da ABNT (ABNT NBR 14029:2016) combinando os dados das repetitividades 1 e 2 e aplicando o tratamento estatístico pelos cálculos da média, estimativa do desvio padrão, teste de Grubbs e o desvio padrão relativo, ao qual deve estar em conformidade com o valor determinado pela equação de Horwitz, equação

6.

$$\%DPR \text{ Horwitz} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (6)$$

Onde: C = concentração do analito (% m/m), dividido por 100.

4.10 APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO

O método desenvolvido foi aplicado nas análises de 19 amostras de água de efluentes industriais, decorrente de descontaminação de linhas, tanques e equipamentos de fabricação e envase de defensivos agrícolas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA CROMATOGRÁFICO

A otimização do sistema cromatográfico e a melhor condição de separação e detecção dos compostos do estudo é apresentada na Tabela 14. Os critérios avaliados para chegar nestas condições cromatográficas estão descritos no item 4.8.

Tabela 14 - Condições cromatográficas para a determinação e quantificação dos compostos de interesse por CG-EM.

Parâmetros de injeção	
Lavagem solvente A:	5 vezes
Lavagem solvente B:	5 vezes
Descarte da amostra:	3 vezes
Volume de Injeção:	1,0 µL
Modo de Injeção:	Split - 1:10
Temperaturas:	
Vaporizador:	230 °C
Interface:	300° C
Fonte:	280° C
Quadrupolo	150° C
Coluna:	
Temperatura inicial	160 °C por 4 minuto
Aquecimento de 20 °C/minuto	180 °C por 7,8 minutos
Aquecimento de 30 °C/minuto	210°C por 6 minutos
Aquecimento de 10 °C/minuto	240°C por 10 minutos
Fluxo de gás de arraste (He):	1,0 mL/minuto
Modo de Aquisição:	SIM
Tempo de corrida:	32,8 minutos
Fonte: Próprio autor.	

A rampa de temperatura foi otimizada para assegurar uma boa separação dos compostos fornecendo maior velocidade de saída para os compostos no momento da detecção, favorecendo maior altura e menor largura de picos, melhorando desta forma a relação sinal/ruído (Agilent, 2020).

5.2 PARÂMETROS DE PROGRAMAÇÃO DO ESPECTRO DE MASSAS

Após a otimização do sistema de separação os compostos do estudo foram confirmados quando enviados os espectros coletados a biblioteca NIST 14 do software do equipamento, a identificação do espectro foi de 99,92 a 99,99% de probabilidade de confirmação para os compostos.

O tempo de retenção (t_R) dos compostos corresponde ao da medida encontrada nas soluções padrões, com tolerância de $\pm 0,5$ min. A proporção do íon qualificador em relação ao quantificador teve boa reprodução ficando dentro do aceitável, obtendo uma variação de até 30% para todos os compostos (SANCO, 2013). Os íons quantificador, qualificador e os tempos de retenção dos compostos do estudo são apresentados na Tabela 15, o primeiro íon (maior intensidade) é o quantificador e o segundo íon o qualificador.

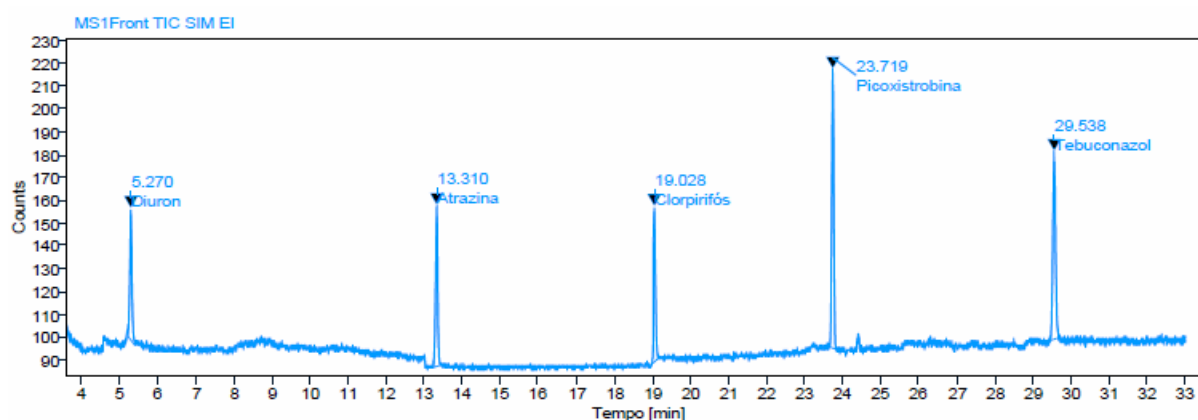
Tabela 15 - Tempo de retenção dos compostos e seus respectivos íons monitorados por CG-EM.

Íons monitorados	Quantificador	Qualificador
Diuron	187	189
Atrazina	200	215
Clorpirifós	197	199
Picoxistrobina	145	355
Tebuconazol	125	250
Tempos de retenção (min)		
Diuron		$\approx 5,1$
Atrazina		$\approx 13,0$
Clorpirifós		$\approx 19,0$
Picoxistrobina		$\approx 23,7$
Tebuconazol		$\approx 29,5$

Fonte: Próprio autor.

O cromatograma com o perfil de separação dos compostos do estudo em acetona, obtidos com as condições otimizadas pode ser observado da Figura 3.

Figura 3 - Perfil cromatográfico típico de uma solução em acetona contendo os compostos do estudo obtidos por CG-EM nas condições cromatográficas descritas na Tabela 13.



Fonte: Próprio autor.

5.3 VALIDAÇÃO E GARANTIA DA QUALIDADE

5.3.1 Validação do equipamento

O equipamento manteve-se dentro dos critérios de qualificação durante todo o período do estudo. A seguir na Tabela 16 é apresentado os resultados das qualificações instrumental durante a validação do método e as análises das amostras.

Tabela 16 - Resultado da qualificação instrumental.

Sistema CG-EM	Monitoramento	Critérios
1) Atribuição de massa	<i>Auto tune</i>	m/z 69 (68,8–69,2)
		m/z 219 (218,8–219,2)
		m/z 502 (501,8–502,2)
2) Largura do pico (PW50)	<i>Auto tune</i>	0,55 ± 0,15
3) Sensibilidade	<i>Auto tune</i>	EM < 1600 V
4) <i>Background</i>	<i>Auto tune</i>	< 300 picos
5) Razão isotópica	<i>Auto tune</i>	m/z 69 (≥0,5 e ≤1,6%)
		m/z 219 (≥3,2 e ≤5,4%)
		m/z 502 (≥7,9 e ≤12,3%)
6) Energia (EI)	<i>Auto tune</i>	70 ± 1 eV
7) Vazamentos	<i>Auto tune</i>	m/z:18 <5% do pico base; 32 e 28 <15% do pico base
8) Vácuo	<i>Auto tune</i>	< 5,0 ⁻⁵

Data	18/06/2020	9/3/21	10/3/21	10/05/20	12/5/20	13/5/20	14/5/20
1)	69,85; 218,90; 501,85	69,00; 218,95; 501,85	69,00; 218,95; 501,90	68,95; 218,95; 501,90	69,00; 218,90; 501,90	69,85; 218,90; 501,90	69,00; 218,95; 501,90
2)	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,61	0,60
3)	1044	1133	1073	1129	1052	1102	1128
4)	118	111	124	130	142	152	150
5)	1,1 4,3 11,2	1,1 4,2 10,4	1,1 4,5 10,6	1,2 4,5 11,0	1,1 4,5 10,6	1,1 4,2 10,4	1,1 4,5 10,6
6)	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0
7)	$2,22^{-5}$	$2,14^{-5}$	$2,07^{-5}$	$2,12^{-5}$	$2,09^{-5}$	$2,21^{-5}$	$2,18^{-5}$

Fonte: Próprio autor.

5.3.2 Validação do método

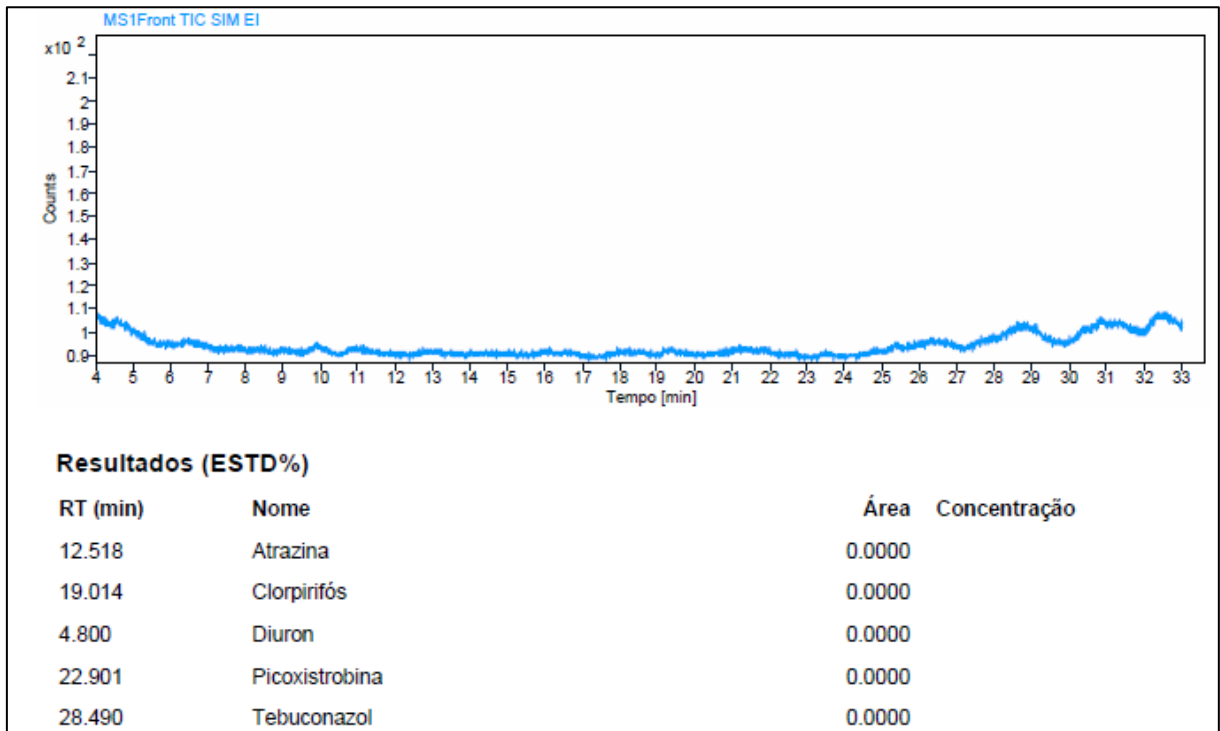
Após definido as melhores condições cromatográfica para a separação e detecção dos compostos a validação do método de análise seguiu-se conforme os critérios da ABNT (ABNT NBR 14029:2016). Os parâmetros da validação são descritos na sequência.

5.3.2.1 SELETIVIDADE

No teste de seletividade o método mostrou-se apropriado para a determinação dos compostos em estudo. Não foi identificado nenhum interferente no tempo de retenção dos compostos de interesse nos brancos (branco amostra e branco solvente). Desta forma o método proposto está valido segundo critérios normativos (ABNT NBR 14029:2016).

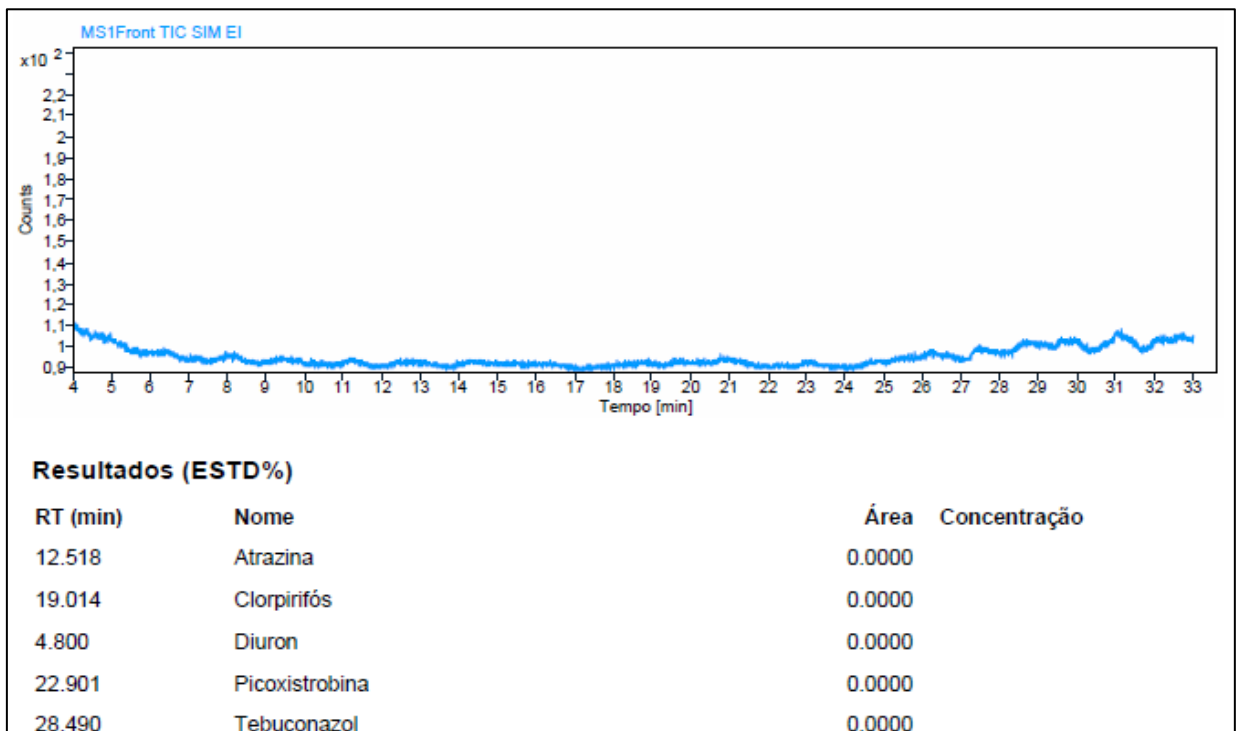
A seguir nas Figuras de 4 a 10 são mostrados os sinais para cada amostra do estudo de seletividade sendo respectivamente: branco solvente (acetona), branco amostra (água), solução padrão Atrazina, solução padrão Diuron, solução padrão Clorpirifós, solução padrão Picoxistrobina e solução padrão Tebuconazol.

Figura 4 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de branco solvente (acetona) obtido por CG-EM.



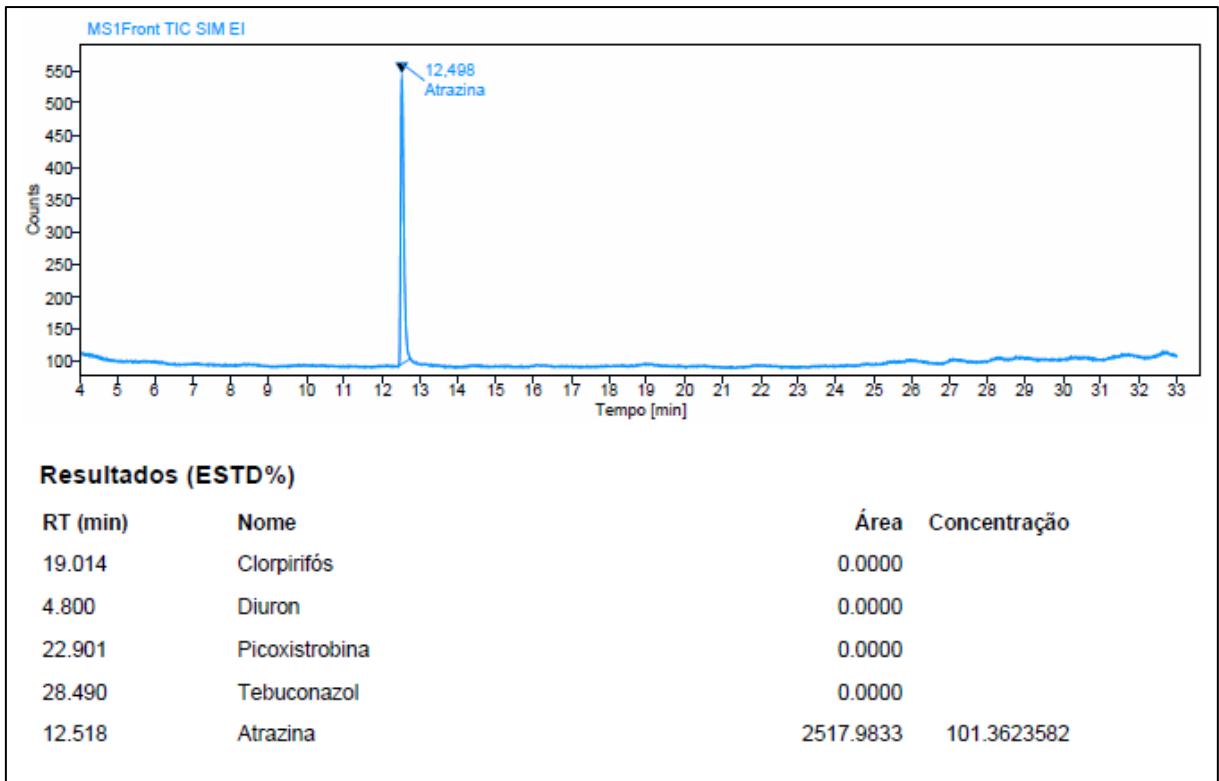
Fonte: Próprio autor.

Figura 5 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de branco amostra (água) obtido por CG-EM.



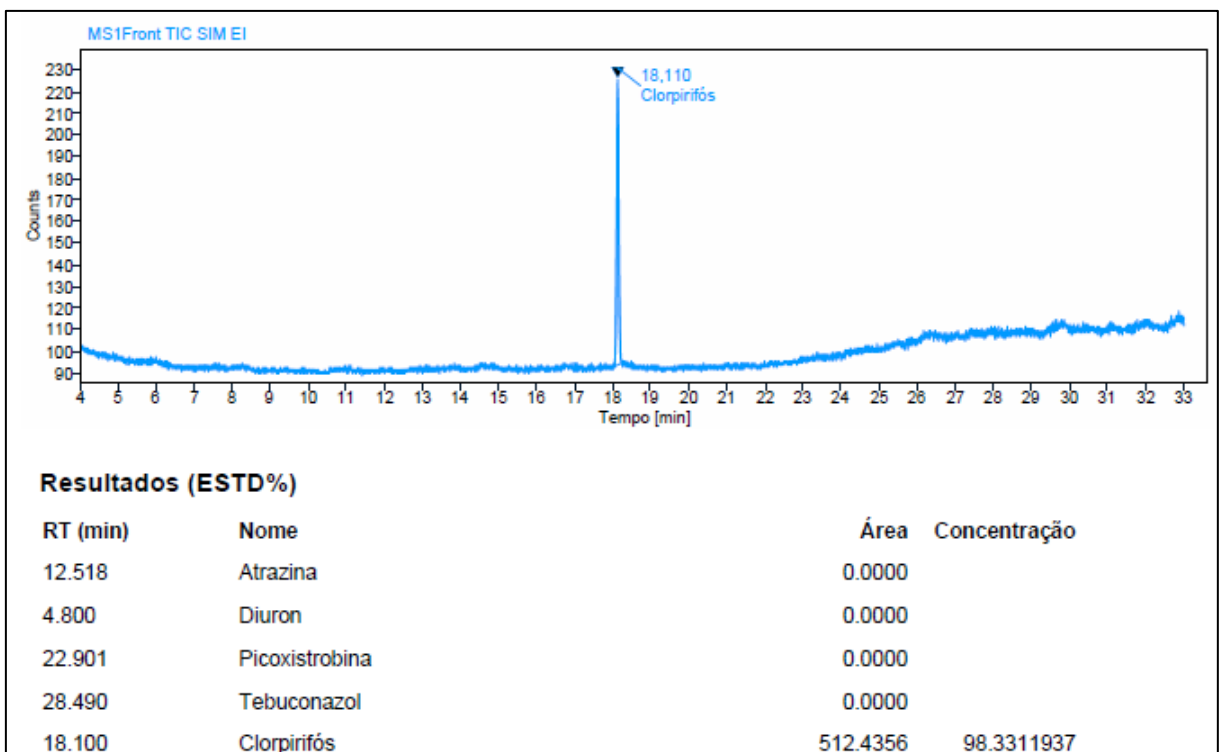
Fonte: Próprio autor.

Figura 6 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Atrazina obtido por CG-EM.



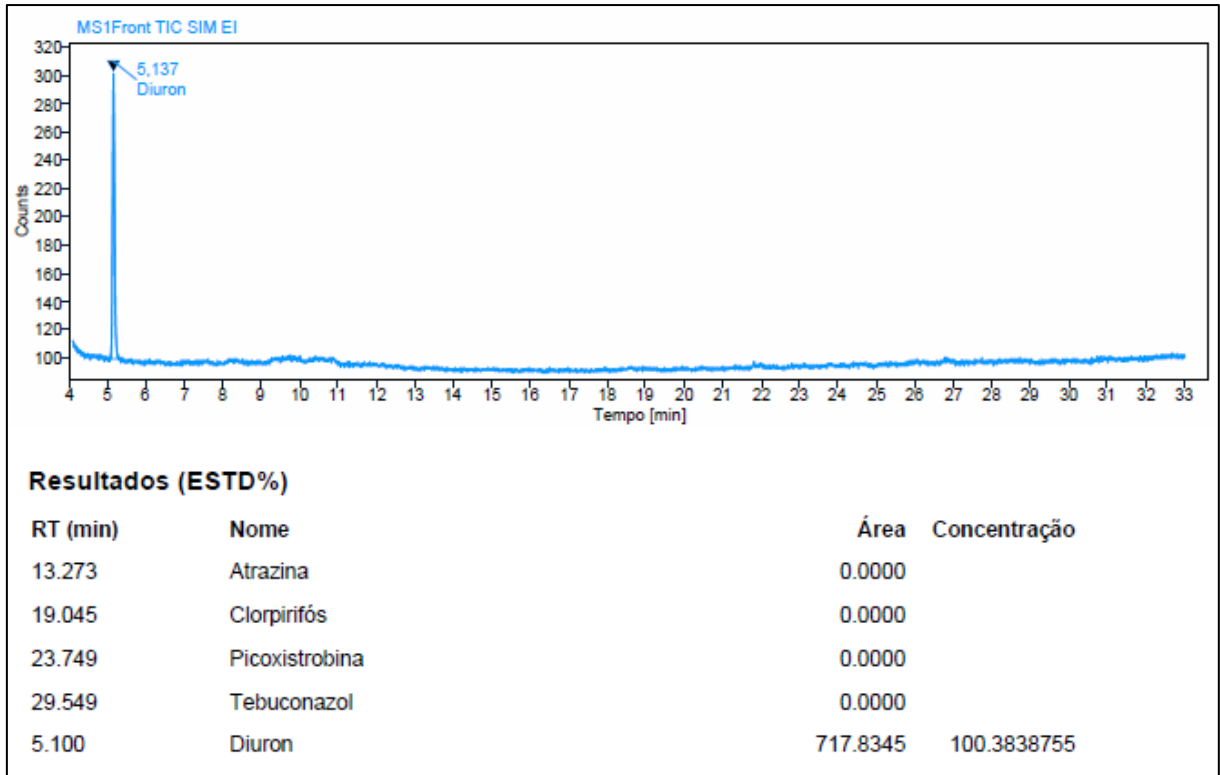
Fonte: Próprio autor.

Figura 7 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Clórpifós obtido por CG-EM.



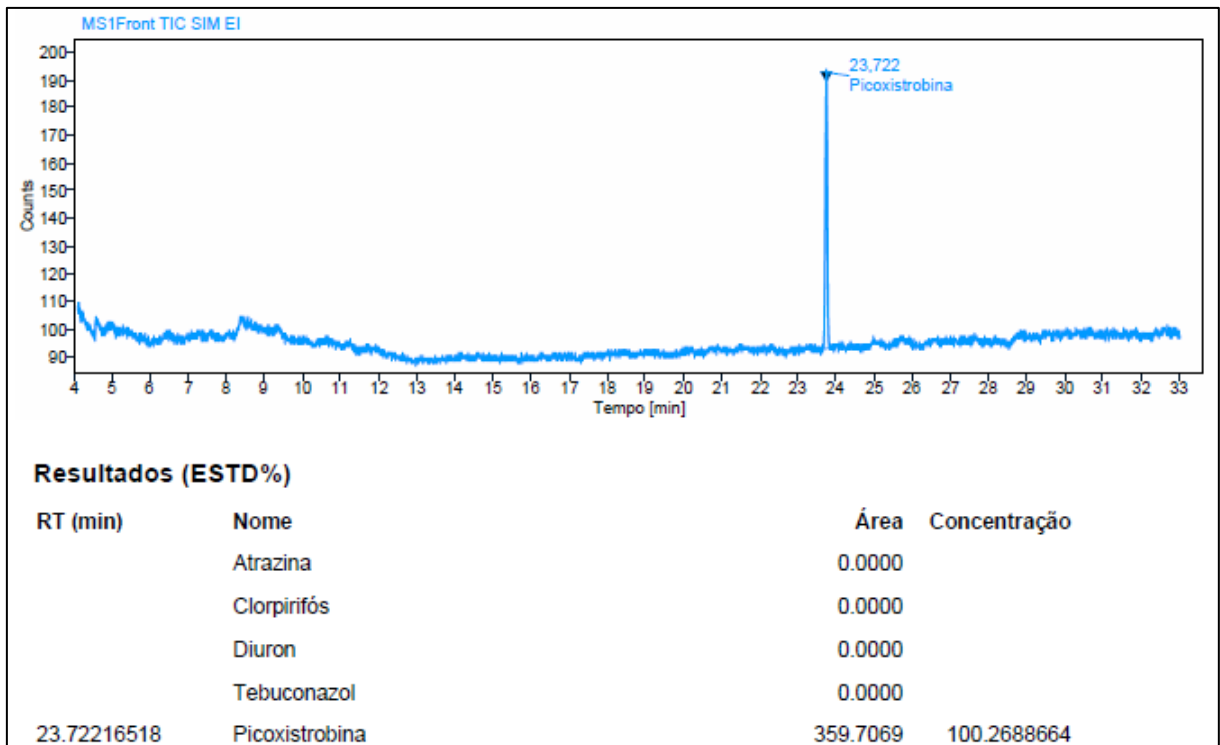
Fonte: Próprio autor.

Figura 8 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Diuron obtido por CG-EM.

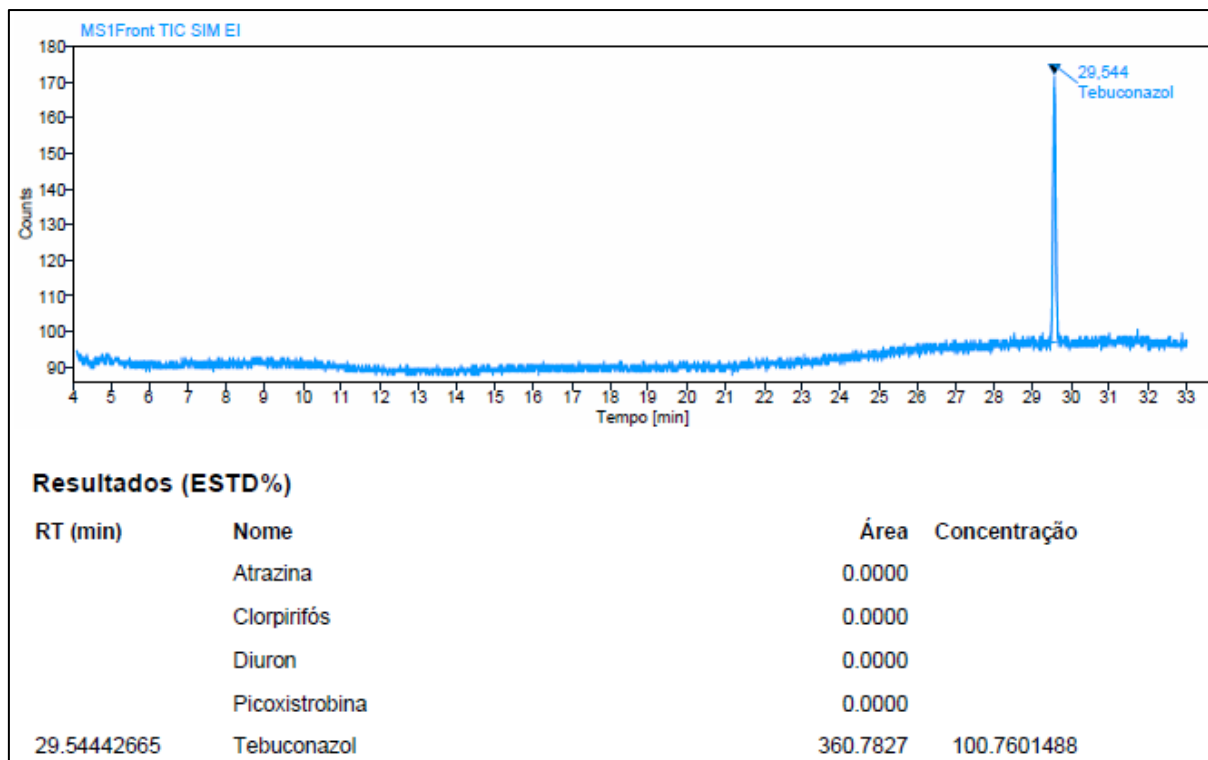


Fonte: Próprio autor.

Figura 9 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Picoxistrobina obtido por CG-EM.



Fonte: Próprio autor.

Figura 10 - Cromatograma do íon total (TIC) para amostra de Tebuconazol obtido por CG-EM.

Fonte: Próprio autor.

5.3.2.2 FUNÇÃO ANALÍTICA E LINEARIDADE

Para o teste de linearidade todos os compostos apresentaram o coeficiente de correlação $> 0,99$ exigido pela norma (ABNT NBR 14029:2016).

Na Tabela 17 são apresentados os valores mínimos e máximos das concentrações usadas na construção das curvas analíticas utilizadas para avaliar o parâmetro da linearidade de cada composto no procedimento de validação.

Tabela 17 - Equações do modelo linear, faixa de concentração e coeficiente de correlação (r) dos compostos em estudo para o estudo de linearidade.

Composto	Faixa de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Equação do modelo linear	Coefficiente de correlação (r)
Atrazina	0,08 – 0,27	$y = 1602,112 x + 23,191$	0,9918
Clorpirifós	0,09 – 0,27	$y = 1445,716 x + 8,915$	0,9975
Diuron	0,07 – 0,26	$y = 3911,320 x + 71,884$	0,9911
Picoxistrobina	0,07 – 0,33	$y = 1659,987 x + 23,630$	0,9996
Tebuconazol	0,13 – 0,30	$y = 1746,22 x - 7,269$	0,9914

Fonte: Próprio autor.

A linearidade foi aceita na faixa de concentração conforme o estudo para todos os compostos. Entretanto, para análise de rotina do controle de qualidade dos efluentes gerados

durante a descontaminação de equipamento e linhas de transferência de produtos, buscando otimizar tempo de preparo da curva analítica, calibração do equipamento e redução de custo, limitou-se em uma curva analítica de 5 níveis: sendo as soluções P1, P2, P4, P6 e P7 da tabela 3. Com essa escolha houve o cobrimento de toda a faixa de linearidade do estudo trabalhando com uma curva analítica de 5 níveis, em caso de resultados de amostras acima da concentração superior da faixa linear de trabalho, deve-se fazer uma diluição da amostra para quantificação na região interpolada pela curva analítica.

A equação do modelo linear e o coeficiente de relação para a curva analítica com cinco níveis é exibido na Tabela 18.

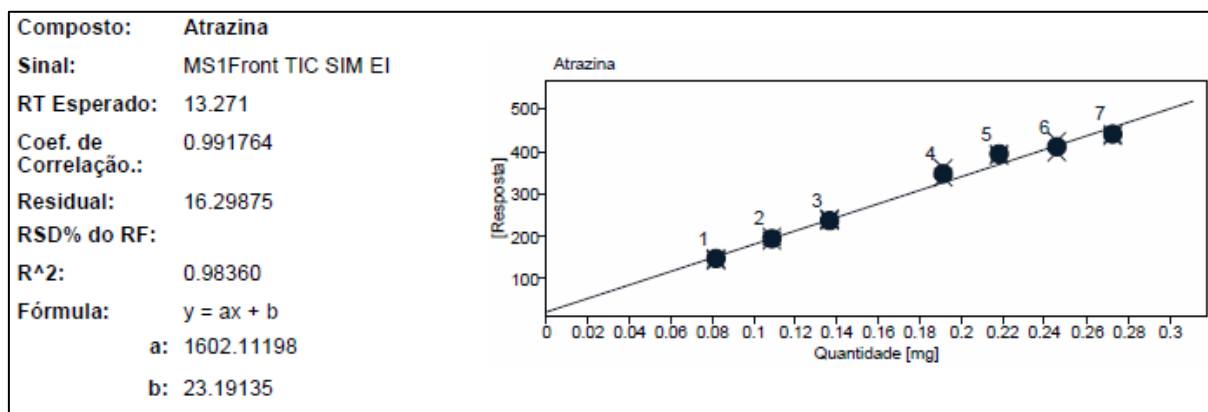
Tabela 18 - Equações do modelo linear, faixa de concentração e coeficiente de correlação (r) dos compostos em estudo para curva analítica de cinco níveis.

Composto	Faixa de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Equação do modelo linear	Coefficiente de correlação (r)
Atrazina	0,08 – 0,27	$y = 2259,860 x - 46,734$	0,9954
Clorpirifós	0,09 – 0,27	$y = 1430,792 x + 11,422$	0,9985
Diuron	0,07 – 0,26	$y = 3831,629 x + 79,034$	0,9901
Picoxistrobina	0,07 – 0,33	$y = 1664,898 x + 21,424$	0,9996
Tebuconazol	0,13 – 0,30	$y = 1731,989 x - 8,082$	0,9902

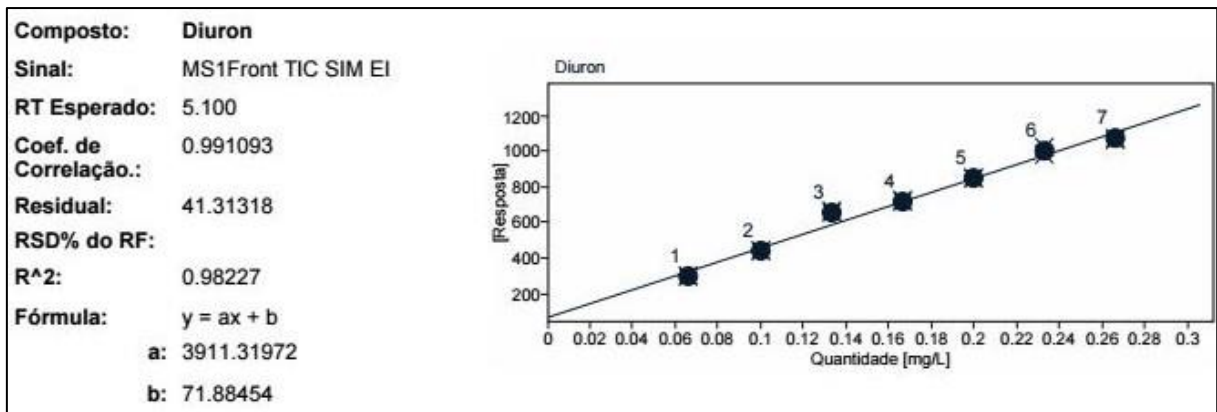
Fonte: Próprio autor.

Nas Figuras seguintes são apresentados os gráficos de linearidade de resposta analítica pela equação da reta linear e seus respectivos coeficiente de correlação para o estudo de linearidade.

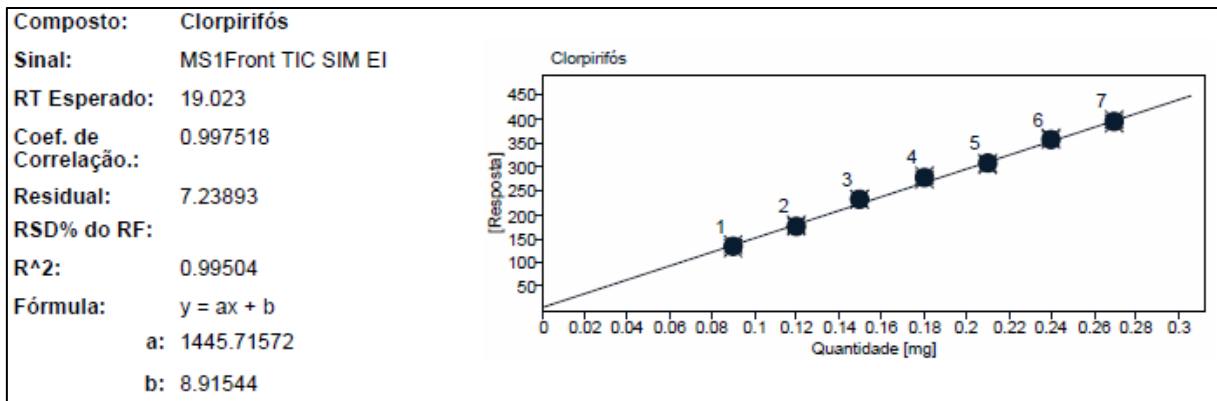
Figura 11 - Gráfico de linearidade para o composto Atrazina



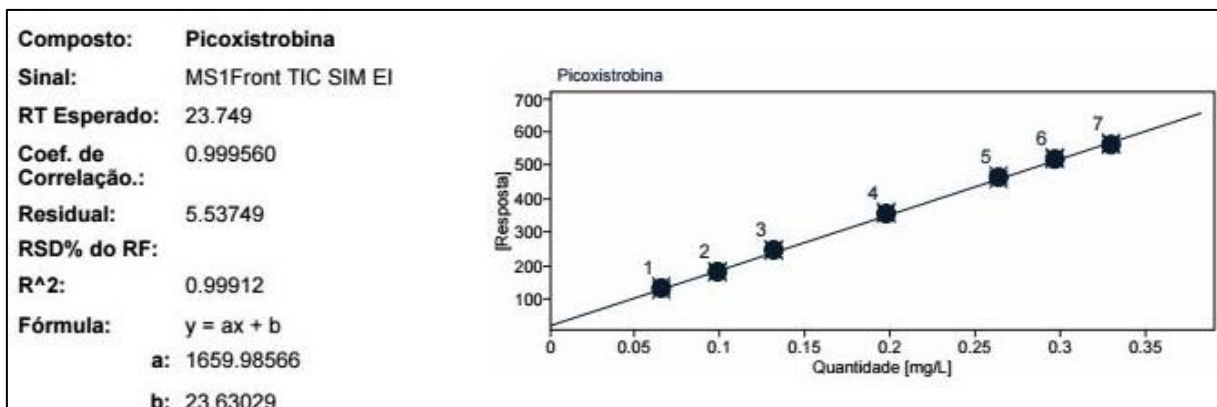
Fonte: Próprio autor.

Figura 12 - Gráfico de linearidade para o composto diuron

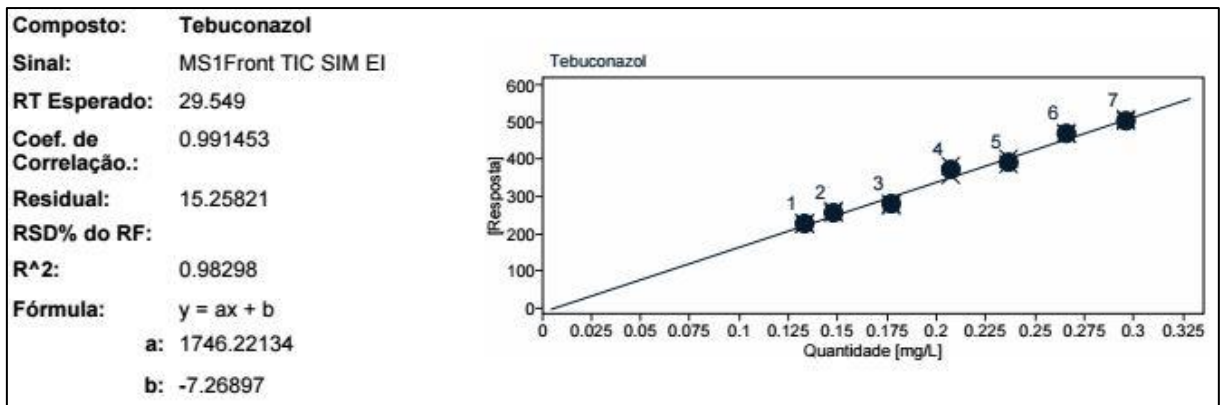
Fonte: Próprio autor.

Figura 13 - Gráfico de linearidade para o composto Clorpirifós

Fonte: Próprio autor.

Figura 14 - Gráfico de linearidade para o composto Picoxistrobina

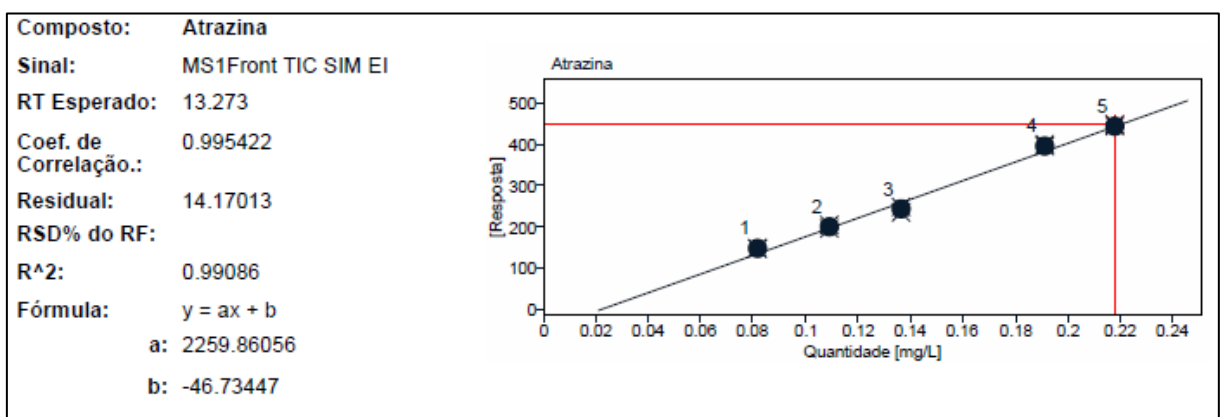
Fonte: Próprio autor.

Figura 15 - Gráfico de linearidade para o composto Tebuconazol

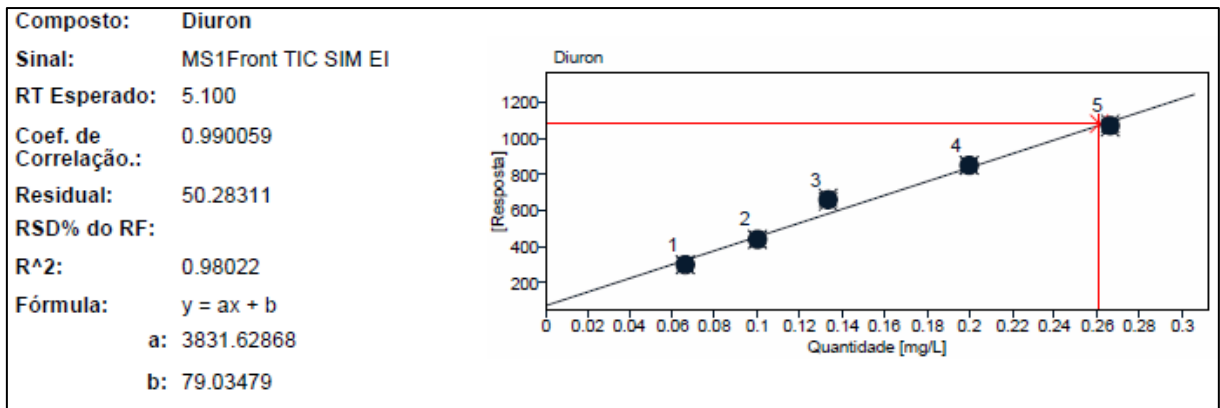
Fonte: Próprio autor.

Os compostos Novaluron, Metomil e Clorotalonil, foram retirados dos estudos por não apresentarem resultados satisfatório nos testes de LD e LQ. Os limites de quantificação para esses compostos ficaram acima do objetivo proposto para a metodologia que era um limite mínimo de $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para os demais compostos a linearidade foi aceita para os estudos estando dentro dos critérios na norma ABNT (ABNT NBR 14029:2016).

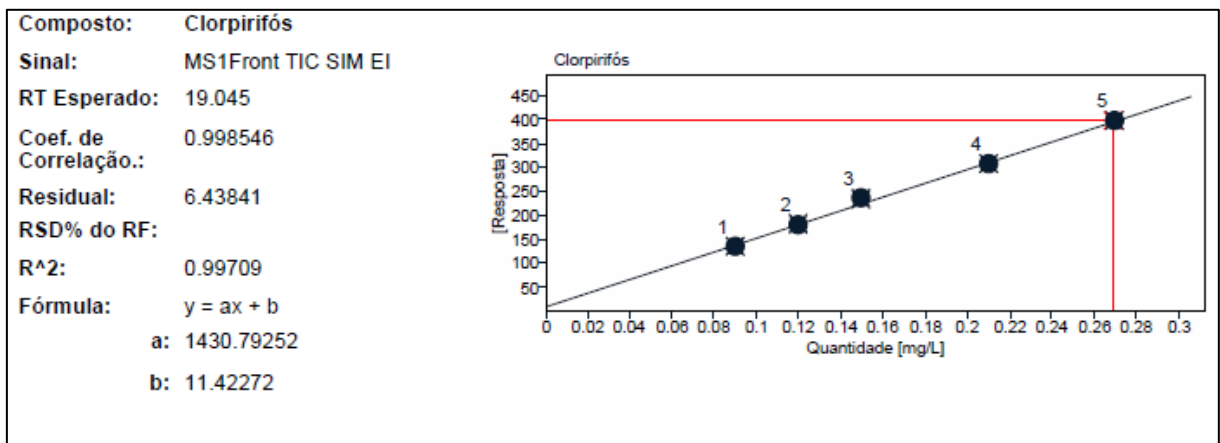
Nas Figuras seguintes são mostrados os gráficos de linearidade de resposta analítica pela equação da reta linear e seus respectivos coeficiente de correlação das curvas analíticas com 5 níveis.

Figura 16 - Gráfico de linearidade para o composto atrazina

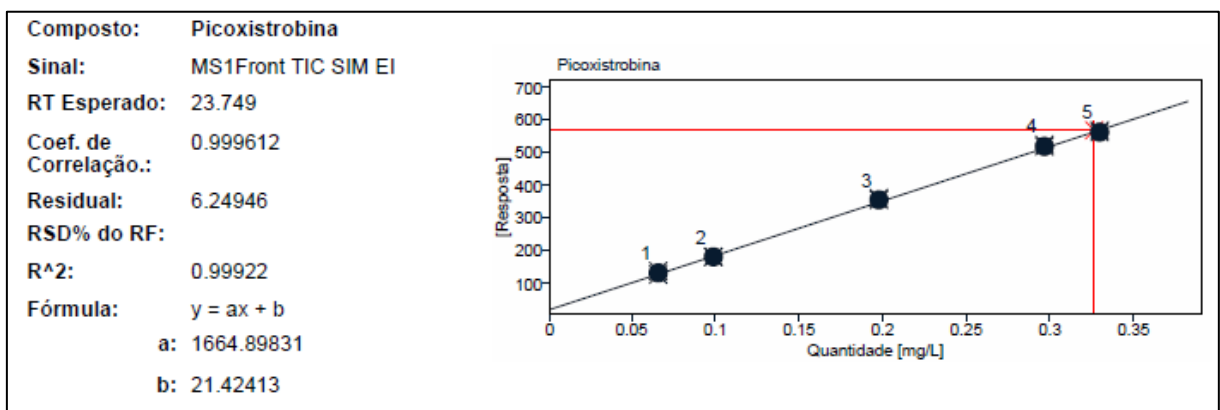
Fonte: Próprio autor.

Figura 17 - Gráfico de linearidade para o composto diuron

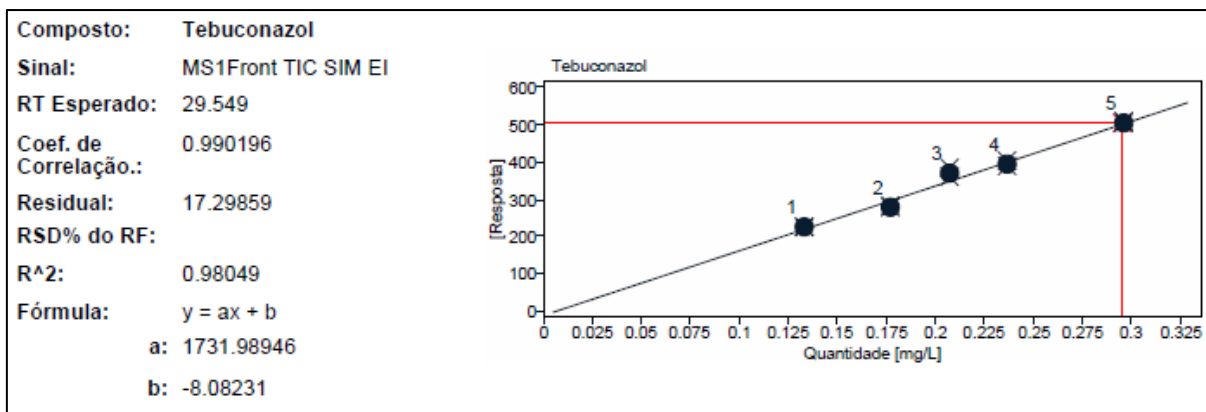
Fonte: Próprio autor.

Figura 18 - Gráfico de linearidade para o composto clorpirifós

Fonte: Próprio autor.

Figura 19 - Gráfico de linearidade para o composto picoxistrobina

Fonte: Próprio autor.

Figura 20 - Gráfico de linearidade para o composto tebuconazol

Fonte: Próprio autor.

A linearidade das curvas analítica com 5 níveis para análise de rotina foi considerada aceita de acordo com os critérios da norma (ABNT NBR 14029:2016).

5.3.2.3 LIMITE DE DETECÇÃO E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O preparado da solução LD nas concentrações conforme descrito no item 3.5 teve como critério o ajuste feito de forma a permitir a obtenção da relação sinal ruído sendo 3 vezes maior que o ruído da linha de base (ABNT NBR 14029:2016), essa relação foi determinada automaticamente pelo *software* do equipamento (OpenLab CDS). Os limites de detecção para cada composto foram calculados através da média dos resultados das cinco injeções da solução LD conforme descritas no item 3.5 que obtiveram a relação sinal/ruído maior que 3.

Para o limite de quantificação o preparo da solução LQ (solução P1) teve como critério o ajuste feito de forma a permitir a obtenção da relação sinal ruído sendo 10 vezes maior que o ruído da linha de base (ABNT NBR 14029:2016). Os limites de quantificação para cada composto foram calculados através das cinco determinações da solução de calibração de menor concentração (Solução P1), ou seja, o primeiro nível da faixa linear que obtiveram a relação sinal/ruído maior que 10, onde o desvio padrão relativo (DPR) entre as cinco determinações foi menor que o DPR calculado pela equação estendida de Horwitz. O cálculo para o limite de detecção e limite de quantificação seguiu a metodologia conforme descrito no item 3.8.2.3. a Tabela 19 apresenta os resultados para o LD e LQ, desvio padrão, média e desvio padrão relativo pela equação de Horwitz, todos os resultados estão dentro do critério de aceitação da norma (ABNT NBR 14029:2016).

Tabela 19 - Limite de detecção e limite de quantificação, desvio padrão, e desvio padrão pela equação de Horwitz.

Composto	Média S/R	STD S/R	LD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Média conc.	DPR %	% DPR Horwitz	LQ do Método ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LQ Instrumental ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Atrazina	7,8	0,43	0,03	0,09	8,04	14,08	0,16	0,08
Diuron	5,5	0,66	0,04	0,06	1,77	14,53	0,13	0,07
Clorpirifós	6,3	0,63	0,04	0,09	2,12	13,88	0,18	0,09
Picoxistrobina	8,3	0,15	0,02	0,07	2,10	14,54	0,13	0,07
Tebuconazol	7,7	0,16	0,07	0,13	2,35	13,08	0,27	0,13

Fonte: Próprio autor.

Os compostos novaluron, metomil e clorotalonil não apresentarem resultados satisfatório nos testes de LD e LQ. Os compostos apresentaram sensibilidade com relação sinal/ruído $<$ do que 3 no teste de LD, onde foi verificado que para melhorar a relação sinal/ruído seria necessário aumentar o limite de detecção e conseqüentemente o de quantificação. Entretanto o LD que alcançou a relação sinal ruído $>$ 3 foi a concentração de aproximadamente $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para novaluron, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para metomil e $\mu\text{g mL}^{-1}$ para clorotalonil. Porém o valor mínimo quantificável proposto para a metodologia era um limite mínimo de $0,4 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as amostras de efluente. Desta forma os compostos foram removidos do estudo.

5.3.2.4 EXATIDÃO (RECUPERAÇÃO)

O método obteve uma recuperação adequada entre a quantidade do componente analisado e a quantidade teórica esperada para o ensaio de fortificação nível 1 e 2 em matriz (água de poço). Todos os compostos apresentaram recuperação aceitável, estando dentro do estipulado pela norma ABNT (ABNT NBR 14029:2017) que descreve para impurezas de concentração nominal $<$ 0,1% a recuperação tolerável é de 75 a 125 %.

Na Tabela 20 são apresentados os valores das recuperações, com seus desvios padrão relativo para o as fortificações nível 1 e 2 de cada composto.

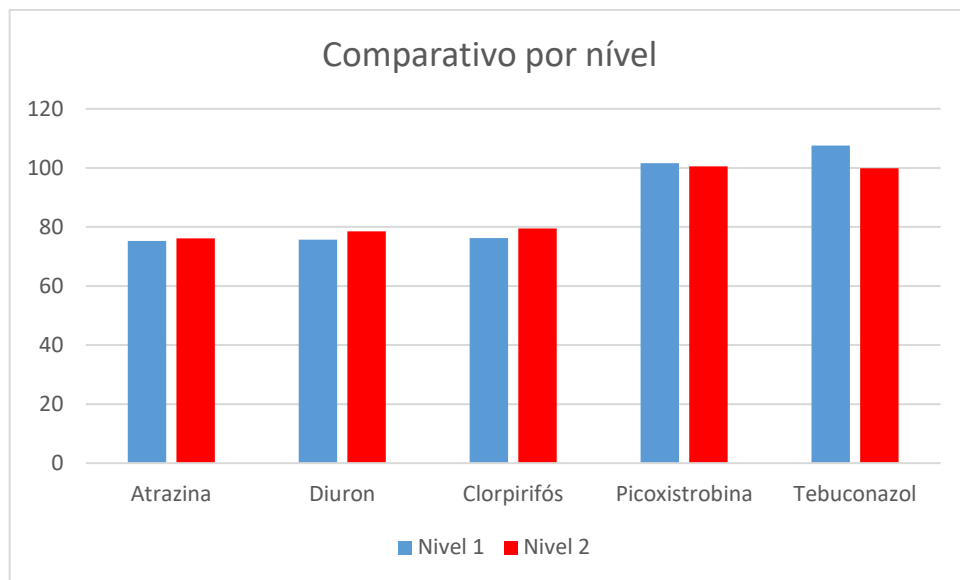
Tabela 20 - Recuperações obtidas a partir das fortificações nível 1 e nível 2 de cada composto do estudo.

Composto	Nível 1		Nível 2		Média N1/N2 (%)
	Rec. (%)	DPR (%)	Rec. (%)	DPR (%)	
Atrazina	75,29	1,78	76,16	1,61	75,73
Diuron	75,73	4,28	78,49	2,21	77,11
Clorpirifós	76,25	2,35	79,48	6,91	77,87
Picoxistrobina	101,61	4,22	100,52	2,54	101,06
Tebuconazol	107,54	4,89	99,91	5,41	103,73

Fonte: Próprio autor.

A Figura 21 mostra um comparativo das recuperações por nível de fortificação

Figura 21 - Comparativo de recuperação por nível de fortificação



Fonte: Próprio autor.

Através da análise de variância (ANOVA – Fator único) foi comprovado que não houve diferença significativa entre as recuperações no teste de fortificação com nível de confiança de 95%. Os valores da análise de dados (ANOVA) são apresentados no quadro 3.

Quadro 3 – Análise de variância ANOVA para comparar a variação entre os níveis da recuperação

Anova: fator único							
RESUMO							
	<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
Nível 1		5	436,42	87,28	253,66		
Nível 2		5	434,56	86,91	148,974		
ANOVA							
	<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
	Entre grupos	0,34596	1	0,346	0,001718	0,967949	5,317655
	Dentro dos grupos	1610,5358	8	201,3			
	Total	1610,88176	9				

Fonte: Próprio autor.

5.3.2.5 PRECISÃO

5.3.2.5.1 REPETITIVIDADE E PRECISÃO INTERMEDIÁRIA

No teste de repetitividade o método demonstrou concordância entre os resultados das medições sucessivas do mesmo mensurado, efetuadas sob as mesmas condições, não foi evidenciado nenhuma dispersão entre os 7 resultados do ensaio e o desvio padrão relativo (DPR) do método foi menor do que o calculado pela equação estendida de Horwitz.

A precisão intermediária mostra que o grau de concordância entre os resultados das medições da repetitividade 1 e repetitividade 2 estão conforme, onde o teste de Grubbs demonstra que não houve nenhum valor disperso e o desvio padrão relativo (DPR) ficou abaixo do valor determinado pela equação de Hortwitz. Os resultados da repetitividade e precisão intermediária são representados na Tabela 21.

Tabela 21 - Repetitividade e precisão intermediária dos cinco compostos do estudo.

Composto	Repetitividade 1			Repetitividade 2			Precisão intermediária	
	Média ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	%DPR Horwitz	DPR (%)	Média ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	%DPR Horwitz	DPR (%)	%DPR Horwitz	DPR (%)
Atrazina	0,309	12,79	1,75	0,291	12,91	3,38	19,18	4,04
Diuron	0,388	12,36	2,53	0,393	12,34	2,83	18,43	2,66
Clorpirifós	0,354	12,53	6,86	0,335	12,64	3,61	18,78	6,12
Picoxistrobina	0,493	11,92	2,25	0,511	11,86	2,23	17,75	2,83
Tebuconazol	0,439	12,13	5,23	0,448	12,10	2,70	18,08	4,10

Fonte: Próprio autor.

Todos os compostos do estudo apresentaram repetitividade e precisão dentro do recomendado pela ABNT que cita que o desvio padrão relativo deve ser menor que o desvio padrão relativo calculado pela equação de Horwitz (ABNT NBR 14029:2016).

5.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO DESENVOLVIDO

A aplicação do método desenvolvido em amostras reais (efluente industrial) demonstrou ótima performance, onde foi possível detectar e quantificar os componentes em amostras de descontaminação de equipamentos industriais. Os valores encontrados para as amostras não necessitam de comparação com a legislação vigente, devido os resultados serem apenas para acompanhamento da limpeza, os efluentes contaminados retornam para o processo de produção do mesmo produto. A Tabela 22 apresenta os resultados de amostras reais obtidas na fábrica de agrotóxicos.

Tabela 22 - Resultados obtidos para as amostras da fábrica de agrotóxicos.

Concentração dos agrotóxicos ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
Amostra	Atrazina	Clorpirifós	Diuron	Picoxistrobina	Tebuconazol
1	0,190	ND	ND	ND	ND
2	0,182	ND	ND	ND	ND
3	0,297	ND	ND	0,206	0,187
4	ND	ND	ND	0,218	0,144
5	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	0,340	ND	ND	ND
7	ND	<LOQ	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	0,452	0,391
10	ND	ND	ND	0,256	0,222
11	ND	ND	ND	ND	ND
12	ND	0,333	ND	0,264	0,201
13	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	0,081	ND	ND
15	ND	ND	<LOQ	ND	ND
16	ND	ND	ND	ND	ND
17	ND	ND	0,529	ND	ND
18	ND	ND	0,510	ND	ND
19	ND	ND	ND	ND	ND

Fonte: Próprio autor.

6 CONCLUSÃO

O método desenvolvido neste trabalho demonstrou-se satisfatório permitindo a detecção e quantificação dos compostos de interesse deste estudo. Os estudos de recuperação mostraram que o método é eficiente e o teste de repetitividade mostrou que é também preciso para amostras de efluente industrial.

A técnica por CG-EM mostrou-se eficiente e possibilitou a identificação e quantificação de cinco compostos em uma mesma amostra, sem comprometimento de sobreposição de picos ou componente co-eluídos.

A aplicação do método em amostras de efluentes industrial gerados durante a descontaminação de equipamentos da fábrica demonstrou a otimização e vantagem analítica em termos de economia financeira através da redução do tempo para análise de rotina, permitindo a detecção e quantificação de cinco compostos em uma única análise. A otimização reduziu o volume de solvente orgânicos consumido para essas análises e o número de equipamentos necessários para a determinação dos cinco compostos do estudo, onde hoje são necessários o uso de quatro equipamentos, sendo que com o método desenvolvido, foi necessário somente o CG-EM. Mesmo com a redução do consumo de solventes orgânicos devido a não utilização dos métodos por CLAE, não houve uma redução significativa no custo da análise, isso se deve ao alto custo do gás hélio utilizado pelo método desenvolvido, entretanto o volume de efluentes orgânicos gerados por CLAE e a disponibilidade desses equipamentos para outras análises justifica a aplicação do método proposto.

O procedimento mostrou-se ótimo em eficiência e resolução com um ponto de melhora a ser otimizado no tempo de análise. Embora este tempo não seja visto como longo para empresa, é possível trabalhar para ajustar a rampa de temperatura para que os componentes cheguem mais rápido ao detector.

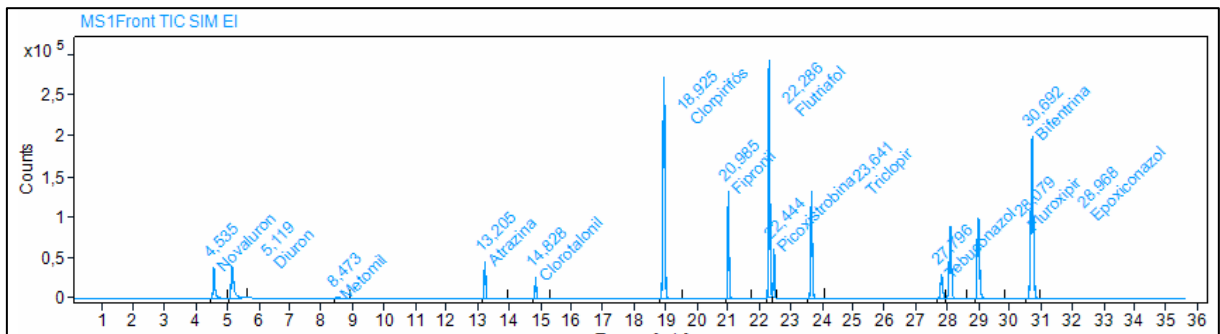
Para os componentes retirados do estudo devido ao baixo nível de detecção é possível realizar novos estudos verificando o modo de injeção sem divisão (*splitless*). Neste estudo o modo de injeção com divisão 1:10 foi escolhido visando a proteção e manutenção do equipamento. É possível testar um volume de injeção maior do que o 10 μ L para futuros estudos.

7 SUGESTÕES PARA DESENVOLVIMENTOS FUTUROS

Para os compostos retirados do estudo devido ao baixo nível de detecção, é possível realizar novos testes verificando o modo de injeção sem divisão.

A otimização do método utilizando as mesmas condições com a adição de outros componentes como fipronil, flutriafol, triclopir, bifentrina e epoxiconazol, pode acrescentar maior valor ao método. Esses compostos foram testados nestas condições cromatográficas e apresentaram boa separação, no entanto eles não foram validados neste estudo. Um perfil cromatográfico contendo os esses compostos é apresentado na Figura 14.

Figura 22 - Perfil cromatográfico do método proposto contendo 14 compostos, dos quais 5 estão validados.



Fonte: Próprio autor.

REFERÊNCIA

AGILENT **Cromatografia Gasosa / Espectrometria de Massa**. Disponível em: <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gc-ms-instruments>. Acesso em: 10 de ago 2020.

AGILENT **Guia de seleção de coluna para GC Agilent J&W**. Disponível em www.agilent.com/chem/academia. Acesso em: 07 jun. 2020.

AGILENT. **Conceitos básicos de cromatografia gasosa: Hardware**, Curso: 5991-5422PTBR, Barueri, 2020.

AGILENT. **Conceitos básicos de cromatografia gasosa: Teoria**, Curso: 5991-5422PTBR, Barueri, 2016.

AGILENT. **Mass Spectrometry Fundamentals – Theory**, Barueri, Curso: 5991-5857 EN, 2016.

ALI, H. R.; et al. Contamination of diuron in coastal waters around Malaysian Peninsular. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 1, p. 287-291, 2014.

ANDREI, S. L. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 6. ed. São Paulo. 2001.

ANVISA. **Monografias de Agrotóxicos**, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos>. Acesso em: 03/05/2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - **ABNT NBR14029:2016**, Agrotóxicos e afins – Validação de métodos analíticos. 3^oed. Versão corrigida 2017.

AZEVEDO F. R; FREIRE F. C. O. **Tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas**, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006, 47p.

AZEVEDO D. A.; GERCHON E.; REIS E. O. Monitoring of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water from Paraíba do Sul River, Brazil. **Journal Brazilian Chemical Society**. v. 15, n. 2, 2004, p 292-299.

BAIRD, C.; **Química Ambiental**, 2 ed, Bookman: Porto Alegre, 2002.

BALBA, H., Review of Strobilurin Fungicides Chemicals, **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 42, p. 441 – 451, 2007.

BARBOSA, L. C. A. **Os agrotóxicos, o homem e o meio ambiente**. Minas Gerais: UFV, 215 p. 2004.

BASHEER C.; LEE H. K.; OBBARD J. P. Determination of organochlorine pesticides in seawater using liquid-phase hollow fibre membrane microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Chromatography A**. v. 963, 2002, p 95-105.

BECEIRO-GONZÁLEZ et. al. Optimisation and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography** v. 1141, ed. 9, 2007. p. 165-173.

BIRADAR, D.P. RAYBURN, A.L., Chromosomal damage induced by herbicide contamination at concentrations observed in public water supplies, **Journal Environmental Quality** v. 24, n. 6, 1995. p. 1222-1225.

BORRÁS, E; et al. Development of a gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of pesticides in gaseous and particulate phases in the atmosphere. **Analytica Chimica Acta** 699, 2011. Elsevier, 57-65

BRASIL, **Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002**. Regulamenta a Lei no 7.802 de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília: Presidência da República, 2002.

BRONDI, S. H. G. **Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara:** Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiól, Tese, (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2000.

Caldas, S. S.; Costa, F. P.; Primel, E. G.; Anal. Chim. Acta 2010, 665, 55.

CARDOSO, A. P. F et al. Dose–response of diuron [3-(3,4-dichlorophenyl)- 1,1-dimethylurea] in the urothelial mucosa of Wistar rats. **Toxicology**, v. 312, p. 1-5, 2013.

CARNEIRO, F. F. et al (Org.). **Dossiê ABRASCO:** um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CAVALHEIRO L. N; ARAUJO L. E. B.; TYBUSCH J. S. A influência da sustentabilidade no contexto geopolítico em decorrência dos recursos naturais para além do aspecto econômico. **Derecho y Cambio Social**, no 35, 2014.

Chou, T.; Lin, S.; Fuh, M.; Talanta 2009, 80, 493

CIPAC, **Guidelines on method validation to be performed in support of analytical methods for agrochemical formulations**, Document 3807, 1995.

CONAB, **Acompanhamento safra brasileira de grãos - Safra 2020/21**, Brasília, 2021 n 4, 85p.

CROPLIFE. **Contamination Prevention in the Manufacture of Crop Protection Products**. 4 ed. Brussels: CropLife International, 2019. Disponível em: https://croplife.org/wp-content/uploads/2019/01/CPMCPD_4th-edition-English_Jan19-complete-without-cutting-marks-HR.pdf. Acesso em: 18 fevereiro 2020.

CROPLIFE. **Prevenção de Contaminação na Fabricação de Produtos para Proteção de Culturas**. 1 ed. Bruxelas: Croplife international, 2015. 146 p. Disponível em: https://croplife.org/wp-content/uploads/2015/12/CPMCPD_-Portuguese_Nov2015_148-LR.pdf. Acesso em: 18 fevereiro 2020.

EPA U.S. Environmental Protection Agency, **Pesticide Regulation (PR) Notice 96-8, 31 de outubro, 1996**. Notice to Manufactures, formulators, producers and registrants of pesticide products, Washinton, 1996.

FAO, **Food and Agriculture Organization**, Corporate Document Repository. 2013.

Farhadi, K.; Farajzadeh, M. A.; Matin, A. A.; Hashemi, P.; Cent. Eur. J. Chem. 2009, 7, 369.

Farhadi, K.; Matin, A. A.; Hashemi, P.; Chromatographia 2009, 69, 45.

Fu, L.; Liu, X.; Hu, J.; Zhao, X.; Wang, H.; Wang, X.; Anal. Chim. Acta 2009, 632, 289

GALLO, D. *et al.* **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p. 2002.

GASPARIN, D. C. **Defensivos agrícolas e seus impactos**. PUC. Curitiba. 2005. 93p.

GIACOMAZZI, S.; COCHET, N. Environmental impact of diuron transformation: a review.

Chemosphere, v. 56, n. 11, p. 1021-1032, 2004.

HASSAL, K. A.; **The biochemistry & uses of pesticides**, Macmillan Press Ltd: Hong Kong, 2002.

HATRIK, S.; TEKEL, J. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, 733, 217- 233. 1996

HOLMES, G. A. Pesticide environmental risk assessment failure: The case of diuron and sugarcane. **Marine Pollution Bulletin**, v. 88, n. 1-2, p. 7-13, 2014.

HORWITZ, W; ALBERT, R.: The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision, **Journal of AOAC International**, vol. 89, no. 4, 2006.

IBGE. Contas Nacionais Trimestrais: **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. IBGE. Brasília. 2021.

INÁCIO, A. A. N. **Análise de Risco: Uma Ferramenta para a Fiscalização de Agrotóxicos e Afins no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Defesa Sanitária Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, 2013.

INÁCIO, Á. Á. N. **Análise de Risco: Uma Ferramenta para a Fiscalização de Agrotóxicos e Afins no Brasil.** Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2013.

INMETRO. **Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008** revisão 09, 2020.

ISO IEC 17025:2005. **General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.** 2005.

IUPAC. **Pesticides properties database,** 2021. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Acesso em: 03/03/2021.

JURISCH, M. **Espectrometria de massas com ionização *paper spray*: uma nova abordagem na solução de problemas florenses.** Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

KATSUMATA, H. Photocatalytic degradation of diuron in aqueous solution by platinumized TiO₂. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n. 1–3, p. 1081-1087, 2009.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. ed. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos.** v. 1, p. 761-784, 1995.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em fase Gasosa,** São Carlos: Acta, 239 p. 1993.

LANÇAS, F.M. **Validação de Método Cromatográficos de Análise:** São Carlos: RiMa, 2004, 46 p.

LCGC North America: What a GC–MS Tune Report Can Tell You, **LCGC North America**, vol. 37, 10 ed. 778 p. 2019.

LEIN, W. et al. Target-based discovery of novel herbicides. **Current opinion in Plant Biology**, v. 7 n. 2. p. 219- 225, 2004.

MAPA, **Portaria nº 45, de 10 de dezembro de 1990.** Art. 11. Os limites aceitáveis de diferença entre a composição do produto formulado e o resultado da avaliação química, Brasília, 1990.

MAPA, **Portaria nº 329 de 02 de setembro de 1985**. Proíbe em todo o território nacional, a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, à agropecuária dentre outros, Brasília, 1985.

MAPA. **Guia de validação e controle de qualidade analítica - Medicamentos Veterinários e Fármacos em Produtos para Alimentação Animal**. Coordenação-geral de apoio laboratorial, BRASÍLIA, 2011.

MAPA. Projeções do Agronegócio Brasil 2019/20 a 2029/30 **Projeções de Longo Prazo**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 11 ed. 104 p. 2020.

MARTINS, M. **Determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial empregando extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

Melwanki, M. B.; Fuh, M.; J. **Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de Agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas**. Química Nova Vol. 34 n.9 , 2011, p 1604 – 1617.

NUNES, S. P. O desenvolvimento da agricultura brasileira e mundial e a ideia de desenvolvimento rural. **DESER- departamento de estudos socioeconômicos rurais**, n. 157, p. 1-15, mar. 2007.
ONU- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **População Mundial**. Disponível em: <http://www.onu.org.br>>. Acessado em 01/05/2021.

PEDROSO, M. P. Detecção em cromatografia gasosa rápida e cromatografia gasosa bidimensional abrangente, **Scientia Chromatographica**, v. 3, n. 2 p. 145-154, 2011.

PERES, F.; MOREIRA, J. C.; DUBOIS, G. S. **É veneno ou é remédio?** Rio de Janeiro: FIOCRUZ, v. 1, 2003. 41 p.

PÉREZ-TRUJILLO J. P. et at. Comparison of different coatings in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in ground water. **Journal Chromatography A**. v. 963, 2002, p 95-105.

PESTICIDE Manual. **The Pesticide Manual: A Word Compendium**. Hampshire, BCPC UK. 2018, 18 ed. 1408p.

PLANAS, C. et al. Analysis of pesticides and metabolites in Spanish surface waters by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry with previous automated solid-phase extraction: Estimation of the uncertainty of the analytical results. **Journal Chromatography A**. v. 1131, 2006, p 242-252.

PRUETT J.H. 1999. **Immunological control of arthropods ectoparasites** - a review. *International Journal for Parasitology* 29: 25-32.

QUITANA, J.; MARTÍ I.; VENTURA F. Monitoring of pesticides in drinking and related waters in NE Spain with a multiresidue SPE-GC-MS method including an estimation of the uncertainty of the analytical results. **Journal Chromatography A**. v. 938, 2001, p 3-13.

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

SANCHO, E. D. et al. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 370-376, 2010.

SANCO /3030/99, **Technical Active Substance and Plant protection products Guidance for generating and reporting methods of analysis in support of pre- and post-registration data requirements for Annex (Section 4) of Regulation (EU) No 283/2013 and Annex (Section 5) of Regulation (EU) No 284/2013**, 22 mar. 2019, rev.5.

SANCO/12571/2013. **Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed** 19 November 2013. rev.0, 48 p.

SANTOS, J.M. F. **Tecnologia de aplicação de defensivos agrícolas**. São Paulo: Instituto Biológico, 2002. 62p.

SILVA, M. A. **Otimização de amostradores passivos para a determinação de agrotóxicos em águas utilizando SPE e GC-MS.**2012. Tese (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

SILVA, S. D. L. **Tecnologia para aplicação de defensivos agrícolas.** Academia Edu, Cascavel, 2005. Disponível em: https://www.academia.edu/4562196/Apostila_Tecnologia_Aplicacao_de_Defensivos. Acesso em: 23 Fevereiro 2021.

SKOOG, D. et al. **Princípios de análise instrumental.** 5^a ed. São Paulo: Bookman, 2002, 836 p.

STEPHENSON, G. R.; FERRIS, I. G.; HOLLAND, P.T.; NORDBERG, M. **Glossary of terms relating to pesticides** (IUPA Recommendations 2006) Pure and Applied Chemistry, v. 78, n. 11, p. 2075-2154, 2006.

TODESCHINI, B. H. **Avaliação da presença de agrotóxicos por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em águas superficiais e na rede pública de abastecimento de água no Rio Grande do Sul.** Tese, (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2019.

VIDAL, J. L. et al. Pesticide trace analysis using solid-phase extraction and gas chromatography with electron-capture and tandem mass spectrometric detection in water samples. **Journal Chromatography A.** v. 867, 2000, p 235-245.

VIDAL, R. A. **Herbicidas: mecanismo de ação e resistência de plantas.** Porto Alegre, 2002. 165 p.

Wei, G.; Li, Y.; Wang, X.; J. Sep. **Application of dispersive liquid–liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of methomyl in natural Waters.** Sci. 2007, 30, 3089.

Xia, J.; Xiang, B.; Zhang, W.; Determination of metacrate in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC with the aid of response surface methodology and experimental design. **Analytica Chimica Acta,** V. 625, ed. 1, 2008, p 28-34.

ZAMBOLLM, L.; VALE, F. X. R. do; CHAVES, G.M. **Controle químico de doenças de plantas.**

Brasília: ABEAS, 1995, 307p.