

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG**  
**ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS - EQA**  
**CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO**

**EMPREGO DE COMPÓSITO DE SILICA/CELULOSE**  
**EXTRAÍDO DA CASCA DE ARROZ COMO SORVENTE NA**  
**SPE PARA DETERMINAÇÃO DE TRIAZÓIS EM AMOSTRAS**  
**DE ÁGUA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Laísa Cristina dos Santos Chiareli**

Rio Grande

2018

**EMPREGO DE COMPÓSITO DE SILICA/CELULOSE EXTRAÍDO DA CASCA DE  
ARROZ COMO SORVENTE NA SPE PARA DETERMINAÇÃO DE TRIAZÓIS EM  
AMOSTRAS DE ÁGUA**

**Por**

**Laísa Cristina dos Santos Chiareli**

Trabalho apresentado ao curso de Química Bacharelado da Universidade Federal do Rio Grande (FURG, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Bacharel em Química**.

**Orientador(a): Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel**

**Coorientador(a): Dr<sup>a</sup>. Larine Kupski**

Rio Grande, RS, Brasil

2018

## DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE E AUTENTICIDADE

Eu, **Laísa Cristina dos Santos Chiareli**, declaro que este trabalho é de minha autoria, tendo sido elaborado com base nos recursos aos quais faço referência ao longo do texto e experiências no decorrer do referido trabalho.

---

Assinatura do Orientando

Rio Grande, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

*“Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso ou pessoas fracassadas. O que existe são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles.”*

*Augusto Cury*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** pela vida, por guiar e iluminar meu caminho, e por todas as pessoas que me presenteou nessa longa jornada. Sem Ele eu nada seria.

Ao **Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel**, por essa oportunidade, pela orientação e auxílio nas ideias do projeto, por seu apoio no desenvolvimento deste trabalho, pelas palavras de reforço e incentivo e por acreditar no meu potencial.

A **Dr<sup>a</sup>. Larine**, que esteve comigo dia após dia, dando sugestões, incentivando todos os processos, acreditando na evolução deste trabalho, disponibilizando sem hesitar seu conhecimento e experiência. Muito obrigada por aceitar ser minha coorientadora e se dedicar a este trabalho comigo.

A **Dr<sup>a</sup>. Sergiane**, pelo incentivo e colaborações, participando com suas brilhantes ideias e sugestões, se colocando sempre à disposição, auxiliando em todas as etapas, desde o preparo de padrões às análises no LC- DAD.

A todos os **professores** que com empenho se dedicam à arte de ensinar sendo ponte entre o conhecimento e o estudante.

Aos meus pais **Cristina e Luiz**, meus grandes amores, que estiveram presentes em cada momento, decisão, escolhas, me incentivando, me apoiando, me encorajando, ajudando de todas as formas possíveis e dando tudo que podiam para que meu sonho se realizasse. Que mesmo longe em distância se mantiveram presentes em atitudes, mostrando o quão valioso é o nosso amor. Essa conquista é nossa!

Aos meus tios **Graziela e Thomaz**, aos meus avós **Aristides e Conceição**, e meu priminho **Benício**, que mesmo distantes me deram palavras maravilhosas de apoio, me incluíram em suas orações, e torceram comigo todos os dias.

A minha amiga **Viviane** e sua **família**, que esteve comigo em todos os momentos, dando muito apoio e incentivo, me encorajando a seguir e não me deixando desistir. Por abrirem as portas de sua casa de todo coração para que eu pudesse me instalar e terminar este trabalho. Serei eternamente grata a vocês. As minhas amigas **Roberta e Thalya**, por me acolherem e me incentivarem, pelas risadas e descontrações. A minha mãezinha do Sul, **Ideni**, que me apoiou em todas as etapas, me dando carinho e me enchendo de esperança, fazendo eu acreditar que tudo vale a pena.

A todos os **amigos** que tive o prazer de conhecer e conviver nessa cidade acolhedora, que me ofereceram apoio e momentos únicos.

A **Marisa** que ajudou em várias etapas experimentais e também com suas indagações frente ao trabalho auxiliou no aprimoramento das minhas pesquisas.

A **Carol** que se disponibilizou diversas vezes a me auxiliar, independente do horário, nas partes experimentais ficando até altas horas e torcendo para que tudo se completasse.

Aos meus colegas de trabalho **Duane, Júlia, Álisson, Larissa, Luanne, Ana, Thomas, Cassiane, Maiara, Juliane** que sempre estiveram dispostos a ajudar e me deram palavras de ânimo quando precisei.

## RESUMO

### EMPREGO DE COMPÓSITO DE SILICA/CELULOSE EXTRAÍDO DA CASCA DE ARROZ COMO SORVENTE NA SPE PARA DETERMINAÇÃO DE TRIAZÓIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

**Autor: Laísa Cristina dos Santos Chiareli**  
**Orientador: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel**  
Rio Grande, 12 de dezembro de 2018

O monitoramento de contaminantes em águas é de grande interesse visto sua essencialidade na manutenção da vida. Dentre os principais contaminantes encontrados em corpos de água, os Fármacos e Produtos de Cuidado Pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*) e os agrotóxicos ganham destaque pois são potencialmente tóxicos, persistentes e bioacumuladores. Uma técnica de preparo muito utilizada para extração destes em água é a Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) que faz utilização de um material sorvente com características específicas a fim de interagir com os compostos de interesse. Ainda há poucos estudos encontrados na literatura sugerindo a aplicação de materiais alternativos nessa técnica, dessa forma, a utilização de um material oriundo de um resíduo agrícola como a casca de arroz, contribui de forma significativa, econômica e ambiental para o crescimento da área química analítica verde. Nesse trabalho, foi feito um estudo da aplicabilidade de um sorvente de fonte renovável, sílica/celulose extraída da casca de arroz, na SPE para a extração de triazóis de amostras de água com determinação por Cromatografia Líquida acoplada ao Detector por Arranjo de Diodos (LC-DAD, do inglês *Liquid Chromatography – Diode Array Detection*). No cartucho foi utilizado 200 mg do material em estudo (compósito de sílica/celulose extraída da casca de arroz) com granulometria  $< 105 \mu\text{m}$ . Os parâmetros para a determinação dos quatro triazóis: epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol, foram avaliados por LC-DAD, obtendo curvas analíticas com boa linearidade, com coeficientes de correlação ( $r$ ) superiores a 0,99. As recuperações obtidas variaram entre 53,3 – 172,5% e os RSD de 1,7 – 31,6%, apesar de alguns resultados estarem

fora da faixa estipulada como ideal, os resultados foram satisfatórios, visto a aplicação de um material novo, onde o processo de preparo do cartucho foi todo manual.

**Palavras chaves:** *água; agrotóxicos; ppcps; sorvente alternativo; compósito sílica/celulose; spe; casca de arroz; cromatografia líquida*



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Etapas da extração em fase sólida: Condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção de interferentes e eluição do analito. Fonte: Adaptado de CALDAS et al (2011)....	27
<b>Figura 2.</b> Sílica em sua forma cristalina e amorfa. Fonte: Adaptado de CALLISTER (2002)	32
<b>Figura 3.</b> Monômero da molécula de celulose. Fonte: COMA, 2013.....	33
<b>Figura 4.</b> Diagrama de um detector de arranjo de diodos. Fonte: Adaptado de COLLINS et al., 2006.....	35
<b>Figura 5.</b> Componentes de um espectrômetro de massas. Fonte: Adaptado de CALDAS, 2009 .....	36
<b>Figura 6.</b> Sistema de SPE utilizado para pré-concentração dos agrotóxicos .....	42
<b>Figura 7.</b> Cartuchos com 500 mg de sílica/celulose preparados e empacotados .....	43
<b>Figura 8.</b> Cartuchos com 500 mg de sílica/celulose em condicionamento .....	44
<b>Figura 9.</b> Recuperações utilizando 500 mg de sílica/celulose e cartuchos de 500 mg de C18. Resultados apresentados em ordem crescente de log de $k_{ow}$ .....	49
<b>Figura 10.</b> Recuperações (%) referentes à utilização de 500 mg de C18 e 500 mg de sílica-celulose como sorvente na SPE .....	50
<b>Figura 11.</b> Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de 1 mg L <sup>-1</sup> , a. Água: MeCN (48:52, v/v) b. Água: MeCN (46:54, v/v), vazão: 1 mL min <sup>-1</sup> .....	53
<b>Figura 12.</b> Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de 10 mg L <sup>-1</sup> , a. Água: MeOH (30:70, v/v) b. Água: MeOH (35:65, v/v), vazão: 1 mL min <sup>-1</sup> .....	54
<b>Figura 13.</b> Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de 10 mg L <sup>-1</sup> , a. Água:MeCN: MeOH (37:35:28, v/v/v) b. Água: MeCN: MeOH (42:35:23, v/v/v), vazão: 1 mL min <sup>-1</sup> .....	55
<b>Figura 14.</b> Cromatogramas referentes a mix de triazóis 10 mg L <sup>-1</sup> sob as condições de fase móvel de Água:MeCN:MeOH (22:44:34, v/v/v), vazão 1,2 mL min <sup>-1</sup> .....	55
<b>Figura 15.</b> Espectros referentes aos padrões individuais de concentração 10 mg L <sup>-1</sup> .....	56
<b>Figura 16.</b> Cromatogramas referentes aos triazóis na concentração referente ao LOQ em 220 nm (a) e 225 nm (b).....	57
<b>Figura 17.</b> Recuperações para o cartucho preenchido com 500 mg de material sorvente com partículas <105 µm e partículas de 53-74 µm. Letras diferentes indicam diferença estatística para cada analito (p<0,05).....	57

**Figura 18.** Recuperações empregando diferentes massas no empacotamento do cartucho (200 mg e 500 mg de material sorvente). Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ).58

**Figura 19.** Cromatogramas referentes a diferentes concentrações da mistura de triazóis: -LOQ, - 5 LOQ, - 10 LOQ, - 25 LOQ, - 50 LOQ ..... 60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Evolução do consumo de água em âmbito mundial ( $\text{km}^3\text{ano}^{-1}$ ).....	18
<b>Tabela 2.</b> Exemplos de trabalhos para determinação de agrotóxicos em amostras de água utilizando a SPE.....	29
<b>Tabela 3.</b> Revisão bibliográfica da determinação de triazóis utilizando LC-DAD.....	30
<b>Tabela 4.</b> Revisão bibliográfica de diferentes tipos de sorvente alternativos utilizados na SPE.....	31
<b>Tabela 5.</b> Composições de fase móvel e vazões testadas na otimização da separação dos agrotóxicos no LC-DAD.....	52
<b>Tabela 6.</b> LOD e LOQ instrumentais ( $\text{LOD}_i$ e $\text{LOQ}_i$ ) e do método ( $\text{LOD}_m$ e $\text{LOQ}_m$ ) para determinação de triazóis por SPE e LC-DAD.....	59
<b>Tabela 7.</b> Curva analítica para determinação de triazóis por LC-DAD.....	60
<b>Tabela 8.</b> Precisão em termos de repetibilidade e precisão intermediária e recuperações dos compostos de estudo, epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol em diferentes níveis de concentração.....	61

## LISTA DE SIGLAS

$\lambda$  - Comprimento de onda

**C18** – sílica modificada com hidrocarboneto linear C18, octadecilsilano

**C8** – sílica modificada com hidrocarboneto linear C8, octilsilano

**CONAMA** – Conselho Nacional do Meio Ambiente

**EM** - efeito matriz, do inglês *Matrix effect*

**ESI** - ionização por eletrospray, do inglês *electrospray ionization*

**d.i.** – diâmetro interno

**DAD** – Detecção por Arranjo de Diodos, do inglês *diode array detection*

**EPA** - Agência de proteção ambiental, do inglês *environmental protection agency*

**FE** – Fase estacionária

**FM** – Fase móvel

**LC-DAD** - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos, do inglês *liquid chromatography with diode array detector*

**IBGE** - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**MeCN** - Acetonitrila

**MeOH** – Metanol

**K<sub>oc</sub>** – Coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo

**K<sub>ow</sub>** – Coeficiente de partição octanol-água

**LACOM** – Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais

**LC** – Cromatografia Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*

**LC-ESI-MS/MS** - Cromatografia Líquida com Fonte de Ionização por Electrospray acoplada à Espectrometria de Massas *em série*, do inglês *liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometric*

**LOD** - Limite de detecção, do inglês *Limit of detection*

**LOQ** - Limite de quantificação, do inglês *Limit of quantification*

**LOQ<sub>i</sub>** - LOQ instrumental

**LOQ<sub>m</sub>** - LOQ do método

**MeOH**- Metanol

**MeCN**- Acetonitrila

**Pa** – Pascal (unidade de pressão)

**pH** – potencial hidrogeniônico

**pKa** – potencial de dissociação ácida

**r** - Coeficiente de correlação

**R** – Recuperação

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

**RSD<sub>pi</sub>** – Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

**RSD<sub>r</sub>** – Desvio Padrão Relativo para Repetitividade

**s/n** - relação sinal-ruído

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

**t<sub>R</sub>** – tempo de retenção

**v/v** – volume por volume

**VMP** – Valor Máximo Permitido

**IDA** – Ingestão Diária Aceitável

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>GERAL: .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>ESPECÍFICOS:.....</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>DESENVOLVIMENTO .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
3.1.1	<i>A água e sua qualidade.....</i>	<i>18</i>
3.1.2	<i>Fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs).....</i>	<i>19</i>
3.1.3	<i>Agrotóxicos .....</i>	<i>20</i>
3.1.3.1	<i>Legislação dos agrotóxicos .....</i>	<i>21</i>
3.1.4	<i>Triazóis.....</i>	<i>22</i>
3.1.4.1	<i>Epoxiconazol.....</i>	<i>23</i>
3.1.4.2	<i>Tebuconazol .....</i>	<i>23</i>
3.1.4.3	<i>Propiconazol.....</i>	<i>24</i>
3.1.4.4	<i>Difenoconazol .....</i>	<i>25</i>
3.1.5	<i>Preparo de amostra .....</i>	<i>26</i>
3.1.6	<i>Extração em fase sólida (SPE).....</i>	<i>27</i>
3.1.7	<i>Casca de arroz.....</i>	<i>31</i>
3.1.8	<i>Técnicas para determinação de resíduos de agrotóxicos em água .....</i>	<i>33</i>
3.1.9	<i>Validação .....</i>	<i>36</i>
<b>4</b>	<b>PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS .....</b>	<b>38</b>
4.1.1	<i>Instrumentação.....</i>	<i>38</i>
4.1.2	<i>Reagentes, solventes e materiais.....</i>	<i>39</i>
4.1.3	<i>Preparo das soluções analíticas .....</i>	<i>40</i>
4.1.4	<i>Amostras de água.....</i>	<i>40</i>
4.1.5	<i>Obtenção do material sorvente .....</i>	<i>40</i>
4.1.6	<i>Extração em fase sólida (SPE).....</i>	<i>41</i>

4.1.6.1	Comparação da eficiência de extração de 51 analitos por sílica/celulose com C18 (Teste preliminar) .....	42
4.1.7	<i>Otimização da SPE empregando sorvente alternativo</i> .....	44
a.	<i>Granulometria da sílica/celulose</i> .....	44
b.	<i>Avaliação da quantidade de sorvente</i> .....	45
4.1.8	<i>Otimização do sistema cromatográfico LC-DAD</i> .....	45
4.1.8.1	Preparo e escolha da fase móvel .....	45
4.1.8.2	Determinação do comprimento de onda de máxima absorção .....	45
4.1.9	<i>Validação</i> .....	46
4.1.9.1	Limite de detecção e limite de quantificação .....	46
4.1.9.2	Curva analítica e linearidade .....	46
4.1.9.3	Exatidão .....	46
4.1.9.4	Precisão .....	47
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>SELEÇÃO DOS ANALITOS</b> .....	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA POR LC-DAD</b> .....	<b>51</b>
5.2.1	<i>Composição da fase móvel</i> .....	51
5.2.2	<i>Determinação do comprimento de onda de máxima absorção</i> .....	56
<b>5.3</b>	<b>OTIMIZAÇÃO SPE</b> .....	<b>57</b>
<b>5.4</b>	<b>VALIDAÇÃO DO MÉTODO POR LC-DAD</b> .....	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>62</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>63</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A água é essencial para o planeta, pois a sobrevivência de todas as formas de vida existente na Terra depende dela. Devido ao crescimento e desenvolvimento das atividades industriais e agrícolas houve um aumento na demanda por água, o que influencia diretamente na qualidade desta (CALDAS et al., 2013). A água é de grande importância em vários setores, está envolvida em diversos processos e atividades, como em setores agrícolas, industriais, uso doméstico e como fonte de consumo humano. Estima-se que um bilhão de pessoas carecem de acesso a um abastecimento de água potável, levando a morte de milhões de pessoas por ano no mundo, em virtude de doenças transmitidas pela água (WHO, 2017). Desta forma, torna-se importante o cuidado e controle deste bem vital.

Dentre os principais contaminantes presentes em água encontram-se os fármacos e produtos de cuidados pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), compostos estes considerados emergentes, pois possuem certa toxicidade, são de origem antrópica ou natural, não possuem ainda uma legislação, e muitos não são totalmente removidos pelos processos tradicionais de tratamento de água para consumo humano (RODRIGUES, 2018). As principais fontes desses produtos no ambiente são águas residuais provenientes de hospitais, casas e indústrias farmacêuticas, aquicultura e pecuária (CARDOSO et al., 2011). Outra classe de contaminantes são os agrotóxicos, compostos sintéticos ou naturais com a finalidade de matar, controlar ou combater algum modo de praga (LOPES et al., 2018). Porém é importante salientar que embora estes sejam de grande auxílio no controle de pragas tanto nas plantas quanto em animais, sua utilização deve ser cautelosa, pois muitos são tóxicos e perigosos, tanto para a saúde humana, como para os animais e ao meio ambiente (DEMOLINER et al., 2010).

Uma das classes de agrotóxicos muito utilizada são os triazóis, classificados dessa forma, pois possuem um anel de cinco membros com três heteroátomos de nitrogênio. São fungicidas sintéticos, utilizados no controle de doenças como a ferrugem, oídio e manchas foliares, aplicados em diversos tipos de plantações, que variam de cereais a frutíferas. Dentre os triazóis, destacam-se o epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol, candidatos à substituição pela União Européia, por poderem ser persistentes, tóxicos e bioacumuladores (HERTFORDSHIRE, 2012).

O método oficial para extração de agrotóxicos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) é o 1699 no qual utiliza-se a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) (ENGLERT, 2007b). O material sorvente comumente utilizado nos



cartuchos de SPE é o C18, e considerando que a análise de água é rotineira o valor econômico investido nesta análise torna-se relativamente alto. Outros materiais também podem ser utilizados, como grupos orgânicos ligados a sílica (C8, fenil, cianopropil), materiais de sorção não modificados como a alumina, sílica pura e silicato de magnésio (BUSZEWSKI et al., 2012). Além disso, já existem relatos do emprego de materiais alternativos como o uso de biocarvão de aguapé e a casca de arroz (SOUZA,2017; SCAGLIONI, BADIALE-FURLONG,2016). Dentre estes, destaca-se a casca de arroz, co-produto obtido no beneficiamento do arroz, por apresentar sílica, celulose, lignina e hemicelulose em sua composição e pela disponibilidade deste co-produto no Rio Grande do Sul, sendo este o maior produtor nacional responsável por em torno de 70% do total produzido no Brasil (SOSBAI, 2016). Dessa forma o emprego desse material como sorvente é uma importante alternativa aos materiais convencionais. Sua aplicação no preparo de amostras já vem sendo relatada na literatura, como por exemplo na determinação de aflatoxinas em cebolas empregando dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*) (CARVALHO et al.,2012) e determinação de aflatoxinas em leite empregado SPE (SCAGLIONI, BADIALE-FURLONG, 2016), porém nenhum relato de sua utilização e/ou dos componentes sílica/celulose extraídos deste co-produto como adsorvente na SPE para determinação de agrotóxicos foi encontrado na literatura.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é propor a utilização de um compósito sílica/celulose como sorvente na SPE para determinação de triazóis em amostras de água empregando cromatografia líquida acoplada a um detector de arranjo de diodos (LC-DAD, do inglês *diode array detection*).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral:

-Demonstrar a aplicabilidade de um sorvente de fonte renovável, sílica/celulose extraída da casca de arroz, na extração em fase sólida para a determinação de agrotóxicos em amostras de água.

### 2.2 Específicos:

- Comparar a eficiência de extração de PPCPs e agrotóxicos empregando SPE com cartuchos de sílica/celulose e C18 (comercial);
- Avaliar as condições para o preparo de amostra (massa e granulometria do sorvente) empregando sílica/celulose como cartucho na SPE para determinação de triazóis;
- Avaliar os parâmetros de determinação de triazóis por LC-DAD;
- Validar o método de extração por LC-DAD, através das seguintes figuras de mérito: limites de detecção, limites de quantificação, curva analítica, linearidade, seletividade, exatidão e precisão.

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 Revisão Bibliográfica

##### 3.1.1 A água e sua qualidade

A água é um bem vital, visto que todos os seres vivos dependem dela para sobrevivência, desde plantas, animais até os seres humanos, que a utilizam para hidratação, preparo de refeições, higiene pessoal e doméstica, transporte, geração de energia, trabalho, assim como na pescaria, irrigação de plantações.

Na Tabela 1 está descrita a evolução do consumo de água em âmbito mundial (REBOUÇAS, 2002), onde pode-se observar que uma das maiores aplicações é para o uso agrícola, sendo estimado o uso de 4300 km<sup>3</sup> ano<sup>-1</sup> para 2020.

**Tabela 1.** Evolução do consumo de água em âmbito mundial (km<sup>3</sup>ano<sup>-1</sup>)

<i>Tipo/Usos</i>	<i>Ano</i>						
	1900	1920	1940	1960	1980	2000	2020
<i>Doméstico</i>	-	-	-	30	250	500	850
<i>Industrial</i>	30	45	100	350	750	1350	1900
<i>Agrícola</i>	500	705	1000	1580	2400	3600	4300
<i>TOTAL</i>	530	750	1100	1960	3400	5450	7050

(-) Sem dados (\*) Estimativa **Fonte:** REBOUÇAS (2002)

Junto com o crescimento populacional houve um aumento nas atividades industriais e agrícolas o que conduziu na maior demanda por água e conseqüentemente na influência da qualidade desta (CALDAS et al.,2013). Mesmo sendo de grande importância, a água também pode ser veículo para muitas doenças. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de três em cada 10 pessoas não têm acesso a água potável, isso coloca todas as pessoas, especialmente crianças pequenas em risco de contrair doenças. Como resultado, todos os anos, 361 mil crianças com menos de cinco anos morrem devido a saneamento deficiente e água contaminada (OMS, 2017).

Hoje em dia uma variedade de contaminantes podem ser encontrados nas águas. No século 20 foram introduzidos mais de 100 000 produtos químicos para utilização em diferentes

setores, como por exemplo, doméstico, industrial e na agricultura. A inserção desses produtos ocorreu sem a percepção das consequências à saúde humana, tanto em sua forma direta ou indireta (PRIMEL et al., 2012). Dentre esses contaminantes que vem sendo frequentemente detectados nos meios aquáticos estão os PPCPs e os agrotóxicos.

### 3.1.2 Fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs)

PPCPs incluem medicamentos prescritos e não prescritos, suplementos nutricionais, produtos de utilização doméstica, como desinfetantes, uso pessoal como fragrâncias, protetor solar e cosméticos. A maioria dos princípios ativos presentes nos PPCPs possuem característica polar, curto tempo de meia-vida em água e geralmente são encontrados em concentrações traços ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), porém são considerados pseudo-persistentes, devido ao seu uso universal e frequente pela população. Alguns dos princípios ativos dos PPCPs são facilmente excretados pelo corpo humano e degradados rapidamente no meio ambiente, no entanto, outros são dificilmente degradados, atingindo esgotos domésticos. Estes também podem ser lixiviados chegando até as águas subterrâneas (GOEL et al., 2018). Esses compostos vêm sendo tratados como contaminantes emergentes, são de origem antrópica, ou seja, estão presentes em efluentes domésticos, industriais e hospitalares.

Os problemas toxicológicos apresentados por esses compostos criaram uma grande preocupação entre os pesquisadores. Diversos estudos vêm sendo conduzidos para a determinação dos danos causados relacionados à existência destas substâncias e outros contaminantes orgânicos emergentes. Embora suas concentrações encontradas sejam baixas ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e sua ação não seja imediata, seu acúmulo e reciclagem nas águas residuais com o tempo pode trazer sérios problemas ambientais. Já foi observado que organismos aquáticos expostos a estes contaminantes durante seu ciclo de vida sofre influências diretas, como mudanças na densidade dos espermatozoides, tamanho das gônadas, reversão sexual masculina e outros problemas de saúde (KOLPIN et al., 2002). Mesmo verificando que estes compostos podem apresentar algum risco ao ecossistema, não estão ainda incluídos nos programas de monitoramento de rotina, não possuem uma legislação.

Montagner et al. (2018) realizaram um levantamento de dados sobre contaminantes emergentes nas matrizes aquáticas, e para amostras de água tratada do Brasil foi visto que 124 contaminantes de diferentes classes incluindo subprodutos de processos de desinfecção, hormônios, fármacos, cafeína, produtos de higiene pessoal, drogas ilícitas, compostos de uso

industrial e agrotóxicos, foram investigados e deste valor aproximadamente 45% foram quantificados em pelo menos uma amostra em concentrações acima dos limites de quantificação dos métodos analíticos empregados (MONTAGNER et al., 2018).

Caldas et al. (2018) realizaram um estudo monitorando por 4 anos a ocorrência de contaminantes emergentes (Agrotóxicos e PPCPs) em água de superfície e água potável no Sul do Brasil. Trinta compostos foram detectados, 22 pesticidas e 8 PPCPs, e pelo menos quatro compostos foram identificados em mais de 50 % das amostras. Entre os PPCPs, o metilparabeno foi o contaminante mais frequentemente detectado, mas também, a cafeína, glibenclamida e nimesulida, também foram. Para os agrotóxicos, diferentes classes foram detectadas, como as triazinas, triazóis, carbamatos, estrobilurinas e imidazolinonas.

### 3.1.3 Agrotóxicos

A utilização dos agrotóxicos no Brasil iniciou em 1960 com a implantação do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA) e ganhou impulso a partir da década de 1970. Na última década, o Brasil expandiu em 190% o mercado de agrotóxicos, o que colocou o País, desde 2008, em primeiro lugar no ranking mundial de consumo (LOPES et al., 2018). Anualmente, o Brasil tem utilizado quantidade superior a 300 mil toneladas de agrotóxicos (SPADOTTO, 2018).

Os agrotóxicos são substâncias naturais ou sintéticas, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo pragas. São aplicados diretamente no solo ou pulverizados sobre as plantações. Dependendo de suas características podem permanecer em diferentes compartimentos ambientais, tais como a atmosfera, solo, água de superfície e subterrânea (LOPES et al., 2018; SPADOTTO et al., 2004).

Com base em suas propriedades físico-químicas como solubilidade em água, coeficiente de partição com o carbono orgânico do solo ( $K_{oc}$ ), tempo de meia vida, coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) é possível estimar seu comportamento no meio ambiente. Por exemplo, os compostos com alta solubilidade em água, baixo valor de coeficiente de partição com o carbono orgânico do solo e elevado tempo de meia vida apresentam tendência de serem lixiviados para água (ANDREU et al., 2004; CABRERA et al., 2008).

Embora os agrotóxicos sejam de grande auxílio no controle de pragas das plantas e animais, colaborando com o aumento da produção de alimentos, estes devem ser cuidadosamente utilizados e monitorados, pois podem ser tóxicos e perigosos tanto para saúde

humana, como para o animal e até mesmo para o meio ambiente. Alguns destes podem se acumular no organismo, em tecidos lipídicos, fígados, rins, cérebro e coração (BAIRD, 2002).

Os agrotóxicos são sintetizados para afetar determinadas reações bioquímicas de insetos, microrganismos, animais e plantas, que se quer eliminar ou controlar, mas esses processos bioquímicos são naturais e comuns a todos os seres vivos. Dessa forma, o efeito pode atingir não só o organismo que se espera controlar, como também outros seres do ambiente. A inserção destes controladores, pode provocar perturbações ou impactos, alterando a dinâmica bioquímica natural, tendo como consequência mudanças na função do ecossistema. Os efeitos ambientais de um agrotóxico dependem intrinsecamente da sua ecotoxicidade a organismos terrestres e aquáticos, e também da sua toxicidade ao ser humano. Este efeito está diretamente relacionado as concentrações atingidas nos diferentes compartimentos ambientais, solo, água e atmosfera, que por sua vez está relacionado com as condições de aplicação, quantidade utilizada e do comportamento e destino do agrotóxico no meio ambiente (SPADOTTO, 2004).

#### 3.1.3.1 Legislação dos agrotóxicos

A preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos aumenta, principalmente, quando a água é usada para o consumo humano. Como muitos dos mananciais de água são fontes de água potável, muitas agências ambientais têm imposto legislação rigorosa a respeito da qualidade dessas águas (BARBOSA, 2015) sendo a legislação mais rígida a estabelecida pela Comunidade Econômica Européia (EEC, do inglês *European Economic Community*).

De acordo com a Comunidade Europeia (DIRECTIVE 98/83/EC) a concentração máxima admissível de qualquer agrotóxico em águas destinadas para o consumo humano é  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para a soma de agrotóxicos, incluindo seus metabólitos e produtos de degradação tóxicos, este limite é de  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (DIRECTIVE, 1998).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na Resolução nº 357, de março de 2005 estabelece níveis de qualidade para águas ambientais, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar o uso das águas doce, salgada e salobra (BRASIL, 2005). A Portaria nº 2914/2011, do Ministério da Saúde, estabelece limites de agrotóxicos destinados ao consumo humano. Dentre os analitos deste estudo apenas o tebuconazol possui um valor máximo permitido, sendo este de  $180 \mu\text{g L}^{-1}$  (PADILHA, 2011).

### 3.1.4 Triazóis

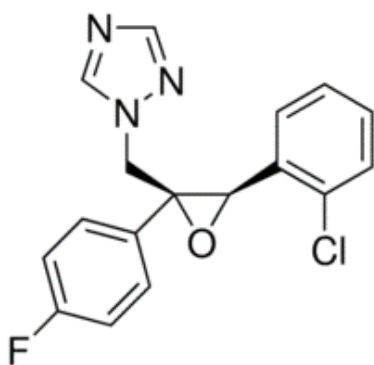
Os triazóis são uma classe de fungicidas sistêmicos comumente utilizados para controle de fungos em plantas, caracterizados pela presença de um anel de 5 membros contendo 3 nitrogênios e 2 carbonos. O log Kow destes compostos está em torno de 3 e 4, o que caracteriza uma alta afinidade pela matéria orgânica e um potencial de bioacumulação. O modo de ação dos triazóis é através da inibição do ergosterol presente na membrana fúngica, influenciando na atividade enzimática do citocromo P450 (EKMAN, 2006).

Os triazóis possuem elevada fungitoxicidade a grande número de patógenos causadores de doenças como ferrugens, oídios e manchas foliares, em olerícolas, frutíferas e cereais. No Brasil, um dos primeiros triazóis utilizados foi o triadimefon, introduzido em 1973, para o controle de ferrugens e oídios (GARCIA, 1999).

Estudos têm sido realizados para avaliar o efeito destes fungicidas em animais, e testes mostram a tendência a causarem tumores, desregulação endócrina e distúrbios nos sistemas reprodutivos de ratos. A persistência destes no solo também ocorre, o que pode levar a intoxicação de plantações se não forem respeitados os tempos de aplicações (BORDAGARAY *et al.*, 2016). O agrotóxico ideal é aquele que ao ser aplicado cumpra seu objetivo e em seguida seja degradado rapidamente a compostos secundários ou mineralizado formando CO<sub>2</sub>, água, produtos orgânicos e inorgânicos mais simples. Vários microrganismos podem utilizar agrotóxicos como substratos para crescimento, promovendo sua decomposição no solo. Segundo Kamrin (2000), a maioria dos fungicidas do grupo dos triazóis são muito estáveis na água, sendo detectados resíduos de triadimefon e flusidasole em águas superficiais após 7 meses e 24 meses de monitoramento, respectivamente.

Alguns dos triazóis mais utilizados são o epoxiconazol, o tebuconazol, o propiconazol e o difenoconazol. Abaixo estão apresentadas as estruturas e algumas informações.

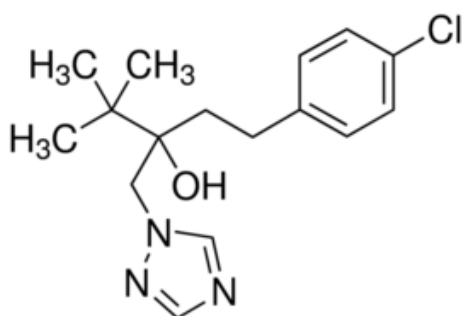
## 3.1.4.1 Epoxiconazol



- ✓ Log  $K_{ow}$ : 3,44
- ✓ Solubilidade em água 20 °C ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 7,1
- ✓ Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ): 329,76
- ✓ Candidato a substituição pela União Européia: persistente/bioacumulativo/tóxico; tóxico para reprodução e desregulador endócrino.
- ✓ Classificação toxicológica (ANVISA): Classe III (medianamente tóxico)

O epoxiconazol é um fungicida de amplo espectro que tem aprovação regulamentar para uso na União Européia. Tem uma baixa solubilidade em água e é relativamente volátil. Pode persistir nos sistemas do solo e da água. Não é altamente tóxico para os mamíferos e não é esperada sua bioacumulação. Esse fungicida é moderadamente tóxico para aves, abelhas, minhocas e a maioria dos organismos aquáticos (HERTFORDSHIRE, 2012). De acordo com a ANVISA, a ingestão diária aceitável (IDA) para este princípio ativo foi estipulada a  $0,003 \text{ mg kg}_{p.c.}^{-1}$  (ANVISA, 2018<sup>a</sup>).

## 3.1.4.2 Tebuconazol

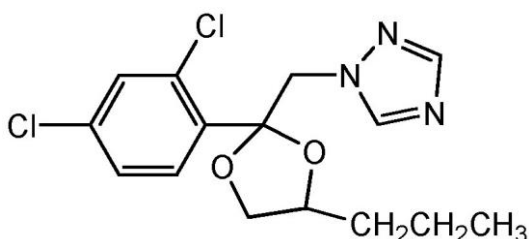




- ✓ Log  $K_{ow}$ : 3,7
- ✓ Solubilidade em água em 20 °C ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 36
- ✓ pKa (25 °C): 5
- ✓ Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ): 307,82
- ✓ Candidato a substituição pela União Européia: persistente/bioacumulativo/tóxico.
- ✓ Classificação toxicológica (ANVISA): Classe IV (pouco tóxico)

O tebuconazol é um fungicida eficaz contra várias doenças foliares em cereais e outras culturas, também usado como regulador de crescimento vegetal. Muito utilizado em plantações de trigo, cevada, aveia, parreiras de uvas, cebolas, bananas (HERTFORDSHIRE, 2012). De acordo com a ANVISA, a IDA para este princípio ativo foi estipulada a  $0,03 \text{ mg kg}_{p.c.}^{-1}$  (ANVISA, 2018<sup>b</sup>). Apesar de ser considerado seguro para humanos dentro das condições de baixo consumo, tem-se uma preocupação quanto ao uso desse agrotóxico já que foi reportada a sua capacidade em causar malformações em células animais, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (MENEGOLA *et al.*, 2013).

#### 3.1.4.3 Propiconazol

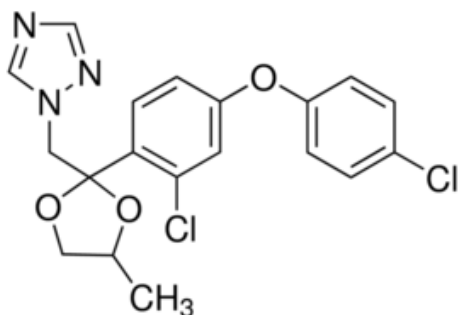


- ✓ Log  $K_{ow}$ : 3,72
- ✓ Solubilidade em água em 20 °C ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 150
- ✓ pKa (25 °C): 1,09
- ✓ Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ): 342,22
- ✓ Candidato a substituição pela União Européia: persistente/bioacumulativo/tóxico.
- ✓ Classificação toxicológica (ANVISA): Classe II (altamente tóxico)

O propiconazol é um fungicida com uma ampla gama de atividades e aplicações agrícolas eficaz contra ferrugens e *septoria*. Muito utilizado em plantações de cogumelo, milho,

arroz selvagem, amendoim, pêssegos (HERTFORDSHIRE, 2012). De acordo com a ANVISA, a IDA para este princípio ativo foi estipulada a  $0,04 \text{ mg kg}_{\text{p.c.}}^{-1}$  (ANVISA, 2018<sup>c</sup>).

#### 3.1.4.4 Difenoconazol



- ✓ Log  $K_{ow}$ : 4,20
- ✓ Solubilidade em água em 20 °C ( $\text{mg L}^{-1}$ ): 15
- ✓ pKa (25 °C): 1,07
- ✓ Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ): 406,26
- ✓ Candidato a substituição pela União Européia: persistente/bioacumulativo/tóxico.
- ✓ Classificação toxicológica (ANVISA): Classe I (extremamente tóxico)

O difenoconazol é um fungicida usado no controle de doenças em frutas, vegetais, cereais e outras culturas. Possui baixa solubilidade aquosa, dessa forma não é considerado de fácil lixiviação, porém tem potencial para o transporte de partículas devido a sua tendência de ser uma molécula móvel. É ligeiramente volátil, persistente no solo e no meio aquático. Existem algumas preocupações em relação ao seu potencial para bioacumulação. Moderadamente tóxico para humanos, mamíferos, pássaros e a maioria dos organismos aquáticos (HERTFORDSHIRE, 2012). Seus mecanismos de ação e toxicidade estão associados a sua habilidade de interferir no crescimento do fungo e inibir a germinação do esporo. Além disso, pode se ligar a proteínas por diversas maneiras, como interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, o que leva a toxicidade para os seres humanos (LI et al., 2013). De acordo com a ANVISA, a IDA para este princípio ativo foi estipulada a  $0,6 \text{ mg kg}_{\text{p.c.}}^{-1}$  (ANVISA, 2018<sup>d</sup>).

Por conta das preocupações frente a esses contaminantes, devido a sua toxicidade e possíveis danos aos seres humanos e meio ambiente, torna-se importante o desenvolvimento de

técnicas de preparo de amostra que permitam a determinação e quantificação destes, de forma confiável, segura e que consiga a determinação de níveis baixos de concentração.

### 3.1.5 Preparo de amostra

Na maioria das análises químicas, principalmente em análises de resíduos, nas quais os analitos se encontram em níveis baixos de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) torna-se necessário uma etapa prévia de preparo de amostra. Essa etapa consome cerca de 80% do tempo total de análise, e deve ser cautelosa, pois pode introduzir erros ao processo (JARDIM, 2010). A etapa de preparo tem por finalidade promover a extração, se necessário pré-concentrar a amostra e remover interferentes (PRESTES et al., 2009).

Para a análise de agrotóxicos em água essa etapa geralmente é necessária e considerada de extrema importância, pois estes compostos possuem diferentes propriedades físico-químicas, ocorrem em concentrações a nível traço ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) e na presença de altas concentrações de compostos interferentes que podem interferir na identificação e quantificação do analito (BRONDI et al., 2005).

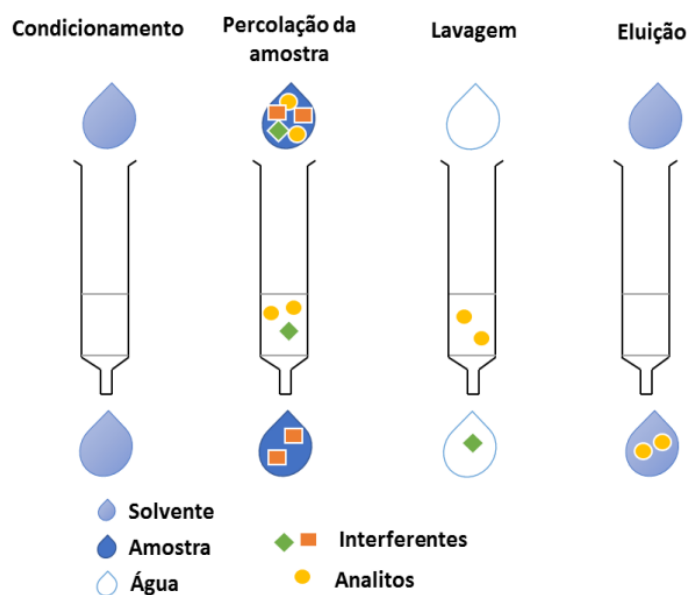
Uma das técnicas tradicionais de preparo de amostra é a Extração líquido-líquido (LLE do inglês *Liquid-Liquid Extraction*), que se baseia na transferência de um soluto de uma fase líquida para outra de acordo com a sua solubilidade. Com essa técnica é possível a separação, porém possui a desvantagem da utilização de grande volume de solventes orgânicos, apresenta custo elevado e é uma técnica morosa. Para suprir as desvantagens dessa técnica, foi introduzida a SPE em 1978, revisada por Hennion em 1999, sendo hoje a técnica de preparo de amostra mais empregada (HENNION, 1999; CALDAS et al., 2011; JARDIM, 2010).

A técnica oficial para a extração dos agrotóxicos é o 1699 proposto pela EPA. No qual é indicado a extração em fase sólida (SPE) em discos ou a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-liquid Extraction*) em funil de separação. Para a SPE, os discos são condicionados com 20 mL de metanol e 20 mL de água. A eluição é realizada com 4-5 mL de acetona, seguido de 2 replicatas com 20 mL de diclorometano. Para a LLE, são empregadas 3 replicatas de 100 mL de diclorometano (ENGLERT, 2007b).

### 3.1.6 Extração em fase sólida (SPE)

A SPE é uma das técnicas de preparo de amostra mais utilizadas para extração, concentração e/ou armazenamento de compostos encontrados em níveis traço ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ), para posterior detecção. Trata-se de uma técnica que utiliza cartuchos ou discos contendo um material sorvente apropriado para reter os analitos que posteriormente são eluídos com um solvente adequado (JARDIM, 2010; MENDES et al., 2016). A SPE foi introduzida para suprir as desvantagens da extração líquido- líquido, como a utilização de grande quantidade de solventes, formação de emulsões, baixas recuperações e redução de resíduos tóxicos. Possui um vasto campo de aplicações como análises ambientais, alimentos e fármacos (LANÇAS, 2004).

A técnica envolve quatro etapas (Figura 1), sendo estas: o condicionamento do sorvente para ativação deste com um solvente com força de eluição adequada; a percolação da amostra para a retenção dos analitos e às vezes de possíveis interferentes; a limpeza quando na etapa anterior ocorre a retenção de interferentes e a etapa de eluição com um solvente adequado.



**Figura 1.** Etapas da extração em fase sólida: Condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção de interferentes e eluição do analito. **Fonte:** Adaptado de CALDAS et al (2011).

Os sorventes são materiais sólidos que possuem uma ampla área superficial, em sua maioria são porosos e possuem a capacidade de adsorver o analito em sua superfície. A escolha do material sorvente utilizado é feita após a avaliação da constituição da matriz, dos analitos e

impurezas a serem eliminadas. O principal mecanismo de extração é a adsorção. Esse processo é espontâneo e ocorre pela transferência de um ou mais constituintes de uma fase fluida, para uma fase sólida, é um fenômeno de superfície ligado à tensão superficial (MEZZARI, 2002; LOUREIRO, 2012; DUTRA, 2014). O processo de adsorção pode ser físico ou químico, sendo o primeiro o mecanismo mais comum, que ocorre em função das forças intermoleculares entre as moléculas do fluido e a superfície do sólido. Na adsorção química ocorrem interações químicas com trocas de elétrons, geralmente irreversíveis (MURANAKA, 2010; COELHO et al., 2014; DO NASCIMENTO, 2014).

Os sorventes convencionais empregados na SPE são em sua maioria formados por um grupo orgânico ligado quimicamente à sílica, como C18, C8, fenil-hexil, cianopropil, diamino. Também existem os sorventes poliméricos, os mistos que possuem tanto uma fase reversa quanto uma trocadora iônica. Alguns estudos mostram o emprego de sorventes alternativos naturais, de baixo custo para a remoção de agrotóxicos de soluções aquosas como a casca de arroz, casca de semente de girassol (ROJAS et al., 2015), em outro pode-se ver a utilização de matérias como a quitina e a quitosana na extração em fase sólida dispersiva (dSPE, do inglês *Dispersive Solid Phase Extraction*) (ARIAS et al., 2014), o uso de biocarvão de aguapé e casca de arroz na SPE (SOUZA, 2017; SCAGLIONI, BADIALE-FURLONG, 2016), entre outros. Estes tem sido cada vez mais estudados tendo em vista os preceitos da Química Analítica Verde. Um dos doze princípios desta é a utilização de substâncias renováveis, sendo estas derivadas de plantas e outras fontes biológicas renováveis ou recicladas, dessa forma são de baixo custo, de fácil obtenção e ambientalmente aceitáveis (LENARDÃO et al., 2003).

Na Tabela 2 pode-se ver uma revisão bibliográfica apresentando diversos trabalhos com agrotóxicos como objeto de estudo, em água, que utilizam a etapa de preparo de amostra SPE.

**Tabela 2.** Exemplos de trabalhos para determinação de agrotóxicos em amostras de água utilizando a SPE

<b>Classe de compostos</b>	<b>Amostra</b>	<b>Preparo</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Referência</b>
3 compostos: cupincida, fungicida, herbicida e inseticida	Água de poço	SPE	LC-DAD E LC-MS	Caldas et al. (2010)
16 compostos: algicidas, cupincidas, fungicidas, herbicidas, inseticidas, praguicidas,	Água de superfície	SPE	LC-DAD	Ribeiro et al. (2013)
21 compostos: herbicidas, pesticidas e inseticidas	Água de Rios	SPE	LC-UV	Noldin et al. (2015)
2 compostos: herbicida, inseticida e fungicida	Água (bacia hidrográfica do rio Camboriú)	SPE	LC-MS	Matias et al. (2016)
70 compostos: herbicidas, acaricidas, inseticidas e fungicidas	Água e sedimento	SPE/QuEChERS	LC-MS	Chiarello et al. (2017)
17 compostos: inseticidas, herbicidas e fungicidas	Águas de Rio	SPE	UPLC- MS/MS	De Melo et al. (2017)
6 compostos: inseticidas, fungicidas e pesticidas	Água de cultivo de arroz	SPE	LC -DAD	Souza (2017)
3 compostos: fungicida, algicida e herbicida, inseticida e acaricida	Águas superficiais	SPE	LC-UV	Junior et al. (2018)

O tebuconazol foi avaliado em 62,5% dos trabalhos (CALDAS et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013; CHIARELLO et al., 2017; DE MELO et al., 2017; SOUZA, 2017). O epoxiconazol foi avaliado em 25% dos trabalhos (RIBEIRO et al., 2013; SOUZA, 2017), o difenoconazol em 12,5% dos trabalhos (CHIARELLO et al., 2017) e o propiconazol não foi visto em nenhum trabalho.

A Tabela 3, apresenta trabalhos encontrados na literatura contendo um ou mais triazóis como objeto de estudo, utilizando etapa de preparo de amostra, em água, vinho e suco de frutas, e a Tabela 4, apresenta trabalhos encontrados na literatura que utilizam diferentes tipos de sorvente na SPE.

**Tabela 3.** Revisão bibliográfica da determinação de triazóis utilizando LC-DAD

<b>Analito</b>	<b>Amostra</b>	<b>Preparo</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Referência</b>
Clomazona, carbofurano, tebuconazol e 2,4 D	Água de poço	SPE	LC-DAD e LC-MS	Caldas et al. (2011)
Imazalil e tebuconazol	Água		LC-DAD	Lv et al. (2016)
Benaxaxil, metalaxil, triadimenol, tebuconazol, diniconazol e epoxiconazol	Vinho	SPE e d-SPE	LC-DAD e LC-MS	Tuzimski et al. (2016)
Triazolol, triadimenol, epoxiconazol, flusilazol, tebuconazol, diniconazol	Suco de fruta	VA-IL-DLLME	LC-DAD	Zhang et al. (2016)
Imidaclopride, carbofurano, tebuconazol	Vinho	QuEChERS	LC-DAD	Dagli et al. (2018)

Como pode ser visto na Tabela 3, os triazóis com maior frequência de estudo são o tebuconazol e o epoxiconazol. Mesmo tendo em vista a toxicidade pela ANVISA do propiconazol e difenoconazol, sendo estas respectivamente, altamente tóxico e extremamente

tóxico, somente o difenoconazol foi avaliado por Chiarello et al.,(2017), em amostras de água e sedimento da bacia hidrográfica de Lajeado Tacongava, Rio Grande do Sul, por LC-MS.

**Tabela 4.** Revisão bibliográfica de diferentes tipos de sorvente alternativos utilizados na SPE

Classe de compostos	Sorvente	Amostra	Preparo	Equipamento	Referência
21 agrotóxicos	Sílica revestida com zircônia	Óleos comestíveis	SPE/ QuEChERS	LC -DAD	Tuzimski, Rejczak (2015)
15 agrotóxicos	TDH-Mg-Al-LDO	Chá verde	SPE	GC-MS	Huo et al. (2016)
Parabenos, esteroides, flavonoides e agrotóxicos	Nanofibras de nylon 6	Água ultrapura + padrão	SPE	LC-UV	Háková et al. (2018)
Agrotóxicos organofosforados	Sílica mesoporosa UVM-7 dopada com Titânio e Ferro	Água	SPE	GC-nitrogênio-fósforo	Pellicer-Castell et al. (2018)

Dentre os sorventes alternativos encontrados na revisão de literatura, destacam-se os polímeros, ou materiais modificados de acordo com a intenção de extração dos compostos. Foram encontrados relatos do uso de nanofibras de nylon 6 para a extração de parabenos, esteroides, flavanóides e agrotóxicos (HÁKOVÁ et al., 2018), e a sílica revestida com metais ou mineral como a zircônia para a extração de agrotóxicos (TUZIMSKI, REJCZAK, 2015; PELLICER-CASTELL et al., 2018). A casca de arroz foi utilizada apenas no trabalho de Scaglioni e Badiale-furlong (2016) para determinação de aflatoxinas em leite. E o único material alternativo proveniente de fontes naturais encontrado em literatura para determinação de agrotóxicos foi o biocarvão de aguapé (SOUZA,2017).

Não foi encontrado nenhum relato sobre o uso de casca de arroz ou material proveniente desta como sorvente na extração em fase sólida para determinação de agrotóxicos.

### 3.1.7 Casca de arroz

O arroz é um dos cereais mais produzidos e consumidos no mundo, sendo a principal fonte de alimentação para mais da metade da população mundial. Este cereal destaca-se pela

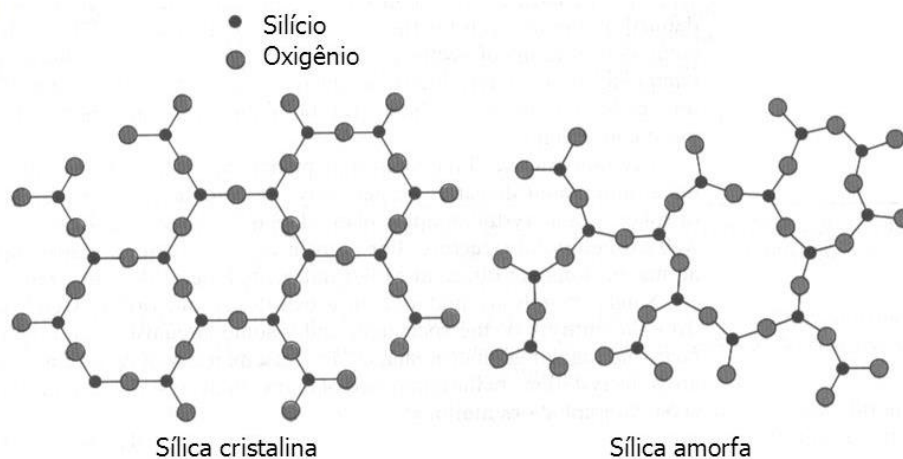


produção e área de cultivo, desempenhando papel estratégico tanto social quanto econômico (WALTER et al., 2008).

A casca de arroz é um resíduo agrícola abundante em países produtores como a China, Índia, Indonésia e Brasil (SILVA, 2014). No Brasil milhões de toneladas de arroz são plantadas e as cascas geradas são geralmente utilizadas como leito para animais ou em sua maioria queimadas nos próprios arrozais ou nas indústrias de processamento para geração de energia. Cerca de 20% do peso do grão equivale a casca, sendo esta constituída por celulose (35%), lignina (31%), hemicelulose (21%) e óxidos, principalmente o de silício (17%). Estes valores podem variar conforme o local de plantio, o clima, e a variedade plantada (POUEY, 2006).

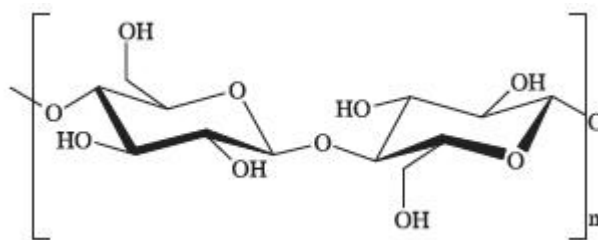
Como pode ser visto, a casca de arroz é pobre em nutrientes, não sendo de interesse como fonte alimentícia, porém em outras aplicações pode ser considerada um material alternativo, devido a sua rica porcentagem de sílica e celulose (POUEY, 2006).

A sílica é a denominação usual para o dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), sendo a forma mais comum do silício em seu estado natural. Em sua formação pode ser encontrada na forma cristalina ou amorfa (Figura 2), dependendo das condições de solidificação ou obtenção. Quando são obtidas a partir da casca de arroz, mediante o emprego de altas temperaturas, a sílica apresenta característica amorfa.



**Figura 2.** Sílica em sua forma cristalina e amorfa. **Fonte:** Adaptado de CALLISTER (2002)

A celulose (Figura 3) é um polímero natural biodegradável que pode ser facilmente modificado a partir de reações envolvendo principalmente as hidroxilas presentes neste polímero (BEZERRA et al., 2015).



**Figura 3.** Monômero da molécula de celulose. **Fonte:** COMA, 2013

Geralmente este polímero pode ser extraído de árvores como acácia, pinheiro e eucaliptos (OLIVEIRA et al., 2017), mas também existem outras fontes, como a casca de arroz. Como este polímero é rico em grupos hidroxilas, a interação mais característica presente neste são as ligações de hidrogênio.

O uso da casca de arroz em preparo de amostra foi observado nos trabalhos de Scaglioni e Badiale-Furlong que utilizaram a casca de arroz como material sorvente para extração de aflatoxinas em amostras de leite (SCAGLIONI, BADIALE-FURLONG, 2016), e no trabalho de Carvalho et al., que utilizaram a casca de arroz como material sorvente na MSPD para determinação de aflatoxinas em cebolas (CARVALHO et al., 2012).

Cabe destacar, que não foram encontrados relatos na literatura da utilização de sílica/celulose ou da casca de arroz para a determinação dos agrotóxicos em estudo, salientando-se assim a inovação do presente trabalho.

### 3.1.8 Técnicas para determinação de resíduos de agrotóxicos em água

As concentrações de agrotóxicos encontradas em água são extremamente baixas, assim como os valores máximos permitidos pelas agências regulamentadoras. Dessa forma são necessários técnicas analíticas com precisão elevada, exatidão, sensibilidade para que seja possível a determinação e quantificação destes. Uma das maiores dificuldades para análise e quantificação destes, são as matrizes complexas com grande número de interferentes presentes (CALDAS, 2009).

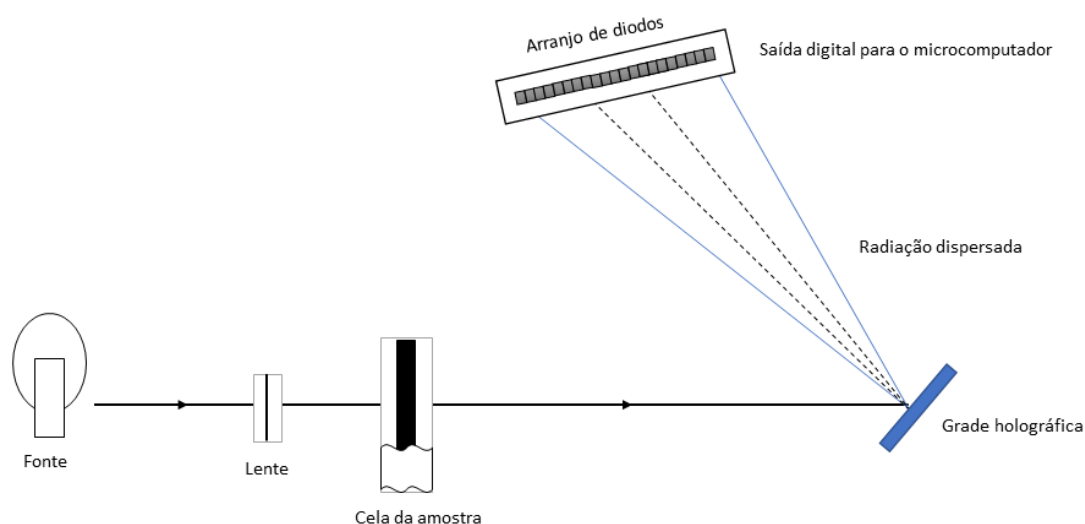
A cromatografia é uma técnica de separação amplamente difundida e muito utilizada, sendo esta acoplada a um detector um excelente método com aplicação em diversas áreas e ramos da ciência. O conceito de separação da cromatografia se dá pela separação físico-química, no qual os constituintes de uma amostra são particionados entre duas fases, uma estacionária (FE) e outra móvel (FM), sendo este último um fluído que não se solubiliza na FE e percola por ela (SKOOG et al., 2002; BRAGA, 2018).

Para resíduos de agrotóxicos em água também é possível a utilização da cromatografia para separação e quantificação quando acoplado a um detector. A cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica analítica mais usada por possuir sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas, ampla aplicabilidade, sendo utilizada em áreas como biológica, ambiental, farmacêutica entre outras (SKOOG et al., 2002; BRAGA et al., 2007).

O parâmetro mais usado para identificação dos compostos, é o tempo de retenção ( $t_R$ ) sendo este o tempo gasto por um composto desde a sua injeção até a saída do ponto máximo do pico do sistema, descobre-se ao injetar um padrão analítico. Vale ressaltar, que este tempo de retenção característico para o composto sob certas condições analíticas, pode coincidir com o tempo de retenção de outro composto, gerando uma identificação equivocada. Portanto, é necessária a otimização das condições cromatográfica, como fase móvel, vazão, modo de eluição, outros, para garantir uma separação eficiente dos compostos (BRAGA, 2018). Um dos principais detectores acoplado a cromatografia líquida é o de arranjo de diodos (DAD) que auxilia na identificação e quantificação dos analitos (BRAGA et al., 2007).

O DAD permite a coleta de dados de um espectro inteiro, na região ultravioleta e do visível (190 nm a 800 nm) em aproximadamente 1 segundo. Os compostos com absorção na região ultravioleta são aqueles que absorvem luz na faixa de 180 nm a 350 nm. Essas substâncias possuem uma ou mais ligações duplas (elétrons  $\pi$ ) ou possuem elétrons não ligantes, como olefinas, aromáticos, compostos com bromo, iodo ou enxofre, grupo carbonila, grupo nitro, íons inorgânicos ( $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) e duas duplas conjugadas ( $>\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}<$ ) (COLLINS et al., 2006).

A Figura 4 apresenta um diagrama do funcionamento do DAD, onde observa-se uma fonte de emissão de luz (lâmpada de deutério ou xenônio), que é colimada através de um sistema de lentes sobre a amostra. A luz total que passa através da célula contendo a amostra incide sobre uma grade holográfica. Essa grade difrata a radiação, separando seus diferentes comprimentos de onda, onde cada um deles incide sobre um diodo do arranjo. Este diodo, ao ser irradiado, produz uma corrente elétrica cuja magnitude está relacionada com a intensidade de emissão. Esta corrente é então transformada em absorbância nos diferentes comprimentos de onda através de um circuito, resultando no espectro de absorção da substância (SCOTT, 2003a, SCOTT, 2003b).



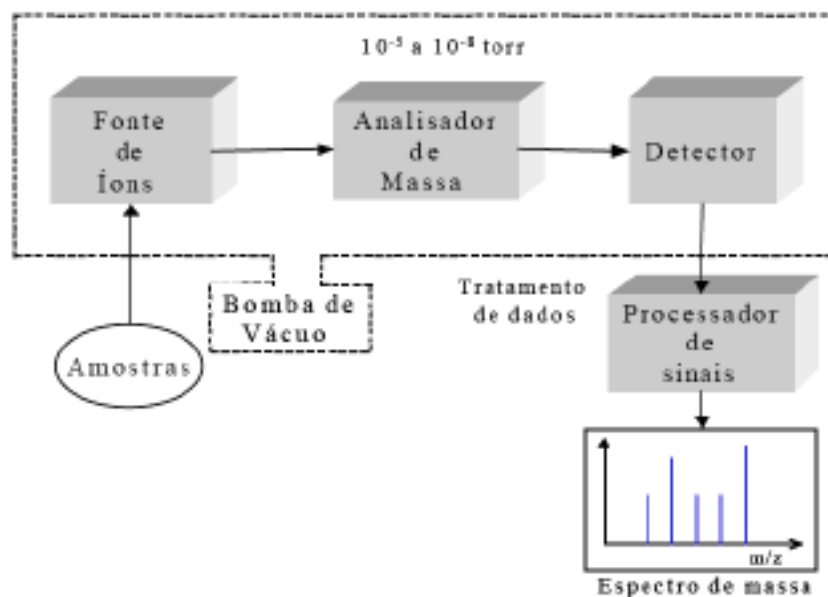
**Figura 4.** Diagrama de um detector de arranjo de diodos. **Fonte:** Adaptado de COLLINS et al., 2006

Em um detector DAD é possível verificar a identidade do composto e a pureza do pico, comparando os espectros em diversos pontos do pico cromatográfico (JAUFMANN, 1998). Se esses espectros se sobrepõem o pico é puro. Dessa forma, é possível confirmar se há ou não interferentes co-eluído com o analito de interesse (COLLINS et al., 2006).

A detecção por arranjo de diodos é bastante utilizada para análises de agrotóxicos, devido a versatilidade, alta seletividade e resolução espectral dos compostos (RIAL-OTERO et al., 2007) e por estes em sua maioria apresentarem absorvância na região UV (SOARES, 2001).

A espectrometria de massas é uma das técnicas mais importantes de análise molecular devido ao seu potencial de fornecer informações de massa molar, assim como a estrutura do analito. O espectrômetro de massas (MS) vem sendo muito utilizado acoplado a cromatografia líquida, pois é um método de alta sensibilidade, possui boa detectabilidade, possibilita a avaliação de pureza do pico, fornece informações qualitativas e quantitativas sobre compostos diferentes que possuem mesmo tempo de retenção (COLLINS et al., 2006; HARRIS, 2003).

Para a obtenção de um espectro de massa, as moléculas no estado gasoso ou as espécies dessorvidas a partir de fases condensadas são ionizadas, uma vez que o MS só detecta espécies carregadas (COLLINS et al., 2006). Os íons obtidos são acelerados por um campo elétrico e separados de acordo com a razão entre a sua massa e sua carga elétrica,  $m/z$  (HARRIS, 2003). O espectrômetro de massas (Figura 5) é constituído por: sistema de injeção de amostra, fonte de ionização (muitas vezes denominada interface), analisador/separador de massas, detector de íons e sistema de aquisição de dados.



**Figura 5.** Componentes de um espectrômetro de massas. **Fonte:** Adaptado de CALDAS, 2009

Como apresentado na Tabela 2, muitos trabalhos utilizam MS e DAD para detecção de agrotóxicos, tais como o de Chiarello et al. que determinou 70 compostos, dentre herbicidas, fungicidas e inseticidas, em águas e sedimentos, através de um LC-MS. O trabalho de Souza, que determinou deltametrina, epoxiconazol, piraclostrobina, piriproxifeno, tebuconazol e tiametoxan em água de cultivo de arroz através de um LC-DAD. Também o trabalho de Ribeiro et al, que determina 16 compostos em água de superfície em LC-DAD.

### 3.1.9 Validação

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, este deve ser validado. Todos os órgãos regulamentadores do Brasil e de outros países exigem a validação de metodologia analítica quando se tem novos produtos. Portanto, a maioria destes órgãos tem estabelecido documentos oficiais sendo diretrizes a serem adotadas nos processos de validação (GIUDICE, 2016).

No Brasil, há duas agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaios, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). A resolução mais recente da ANVISA para procedimento de validação de métodos analíticos é a Resolução ANVISA RE nº 166, de 24 de Julho de 2017 e para o INMETRO o documento DOQ-CGCRE-008 Julho de

2018. As resoluções são documentos com poder de lei e devem ser obedecidas, já os guias possuem caráter orientativo e são flexíveis para adaptação de acordo com o método a ser usado. (ANVISA, 2017; INMETRO, 2018). Também é bastante utilizado o guia da Comissão Europeia de controle de qualidade analítica e procedimento de validação de método para análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos e rações (SANTE, 2017).

Os principais parâmetros de validação de métodos de separação são seletividade, linearidade, intervalo da curva de calibração, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez. A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes interferentes em uma amostra complexa. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (GIUDICE, 2016).

A linearidade corresponde a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação. Essa relação matemática, pode ser expressa como uma equação de reta chamada curva analítica, onde esta curva é montada a partir de uma regressão linear. Além dos coeficientes de regressão  $a$  e  $b$ , a partir de pontos experimentais é possível calcular o coeficiente de correlação  $r$ , onde este maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A faixa linear dinâmica é o intervalo de massa ou concentração no qual pode se construir uma curva analítica linear, descrita pela equação  $y = ax + b$  (SANTE, 2017).

A faixa de aplicação corresponde ao valor superior e inferior da substância em exame que atenda aos requisitos de precisão e exatidão. A precisão representa a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. Deve ser expressa por meio de repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade e pode ser demonstrada através do desvio padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*). Quando se trata de repetibilidade, a avaliação é feita na amostra sob as mesmas condições de operação, mesmo analista e mesma instrumentação, em uma única corrida analítica, utilizando 3 concentrações: baixa, média e alta em réplicas em cada nível (ANVISA, 2017). Os critérios para a SANTE em termos de repetibilidade é  $RSD \leq 20\%$  (SANTE, 2017).

A exatidão de um método analítico é obtida pelo grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Uma das formas de expressar a exatidão é através da relação percentual de recuperação do

analito de concentração conhecida adicionado à amostra, ou pela relação entre a concentração média, determinada experimentalmente, e a concentração teórica correspondente. Em termos de recuperação, um intervalo de 80 – 120% é o recomendado pela ANVISA para fármacos e medicamentos e um intervalo de 60 – 140% para análises de rotina para a SANTE (SANTE, 2017; ANVISA, 2017).

O limite de detecção é demonstrado através da obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, um dos métodos de determinação é o da razão sinal-ruído (s/n), sendo a razão maior ou igual a 3:1 (ANVISA, 2017). Já o limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas, também pode-se utilizar o método do sinal-ruído, sendo a razão deste 10:1. (ANVISA, 2017)

#### 4 Procedimentos experimentais

O estudo foi realizado no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM), da Escola de Química e Alimentos (EQA), na Universidade Federal de Rio Grande (FURG).

##### 4.1.1 Instrumentação

- Balança Analítica de precisão modelo FA 2104N, Bioprecisa (Curitiba, Brasil);
- Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (10 µL - 5000 µL) (Labmate, Polônia; Digipet);
- Sistema de filtração em membrana Phenomenex (Torrance, CA, EUA);
- Sistema de purificação de água Milli-Q Direct-Q UV3® Millipore (Millipore, Bedford, MA, USA);
- pHmetro Hanna pH20 pH21 – eletrodo de vidro combinado (São Paulo, SP, Brasil);
- Banho de limpeza Ultrassom Quimis modelo Q335D (Diadema, SP, Brasil);
- Cromatógrafo à líquido Waters (Milford, MA, EUA) equipado com bomba quaternária modelo 600, Detector por Arranjo de Diodos 2996 e sistema de aquisição de dados software Empower PDA;

- Coluna analítica Sinergy C18 4  $\mu\text{m}$  (250 mm x 4,6 mm d.i.) (Phenomenex, Torrance, CA, EUA);
- Cromatógrafo a Líquido Alliance Separations modelo 2695 Waters (Milford, MA, EUA) equipado com amostrador automático, bomba quaternária, sistema de degaseificação, Detector MS, Micromass® Quatro Micro™ API Waters com fonte API, utilizando o modo de ionização por Electrospray, Sistema de aquisição de dados através do software MassLynx 4.0 Waters e coluna analítica XTerra® MS C18 3,5  $\mu\text{m}$  144 Å (50 x 3 mm d.i.) (Waters, Milford, MA, EUA);
- Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics (Instruments Ltda., Escócia);
- Sistema *manifold* para SPE Phenomenex (Torrance, CA, EUA) para a pré-concentração simultânea de até 12 amostras;

#### 4.1.2 Reagentes, solventes e materiais

- Água destilada;
- Água ultrapura purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm);
- Água da torneira;
- Ácido fosfórico P.A. (Merck, RJ, Brasil);
- Seringas de polipropileno para SPE Strata® C18-E 200 mg/3,0 mL (55  $\mu\text{m}$ , 70 Å) (Phenomenex, EUA);
- Extran® neutro (Merck, Brasil);
- Membrana filtrante de acetato de celulose 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro (Sartorius Biolab products, Goettingen, Alemanha);
- Membrana filtrante de nylon 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro (Millipore, SP, Brasil);
- Metanol, acetona e acetonitrila, grau HPLC (J. T Baker, Mallinckrodt, NJ, USA);
- Padrões analíticos (> 99%): epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol, difenoconazol (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil);
- Vidrarias comum de laboratório (balões volumétricos, béquer, bastão de vidro, espátulas);
- Frascos de vidro (vials), capacidade de 2 mL;
- Peneiras de 140 mesh, 200 mesh e 270 mesh;



#### 4.1.3 Preparo das soluções analíticas

Para os testes preliminares de seleção dos analitos foram preparadas soluções analíticas estoque de padrões de agrotóxicos e PPCPs individualmente na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> em metanol partindo da dissolução do padrão sólido. A partir destas, foi preparada uma solução estoque de 100 mg L<sup>-1</sup> da mistura dos 51 compostos, sendo estes, quincloraque, bispiribaque-sódico, bentazona, penoxsulam, 2,4 D, cafeína, metsulfuron-metílico, atenolol, imazapique, imazetapir, 3 hidroxí-carbofurano, carbendazim, carbofurano, metalaxil-M, metilparabeno, furosemida, simazina, Clorpropamida, carbamazepina, tiabendazol, azoxistrobina, clomazona, nimesulida, 3,4 DCA, malationa, mebendazol, diurom, iprodiona, propilparabeno, atrazina, ciproconazol, pirazossulfurom-etílico, benzofenona, molinato, propanil, genfibrozila, epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol, irgarol, fipronil, pirimifos-metílico, difenoconazol, trifloxistrobina, avobenzona, diclofenaco sódico, glibenclamida, triclocarban, eusolex 6300, triclosan, nitrato de miconazol e atrazina deuterada. Da mistura foi preparada uma solução trabalho de 10 mg L<sup>-1</sup> utilizada para fortificação das amostras.

As soluções analíticas estoque, contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> dos quatro agrotóxicos selecionados (epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol) foram preparadas em metanol grau HPLC partindo da dissolução do padrão sólido, armazenado em frasco âmbar e estocado a -18°C. A partir das soluções estoques foram preparadas soluções de cada princípio ativo na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> em metanol. Uma solução trabalho de 10 mg L<sup>-1</sup> foi preparada a partir da mistura dos 4 agrotóxicos. Esta solução foi utilizada para preparar as diluições para a otimização do método, para obtenção da curva analítica e nos ensaios de recuperação. A solução trabalho foi preparada mensalmente, e as diluições feitas diariamente.

#### 4.1.4 Amostras de água

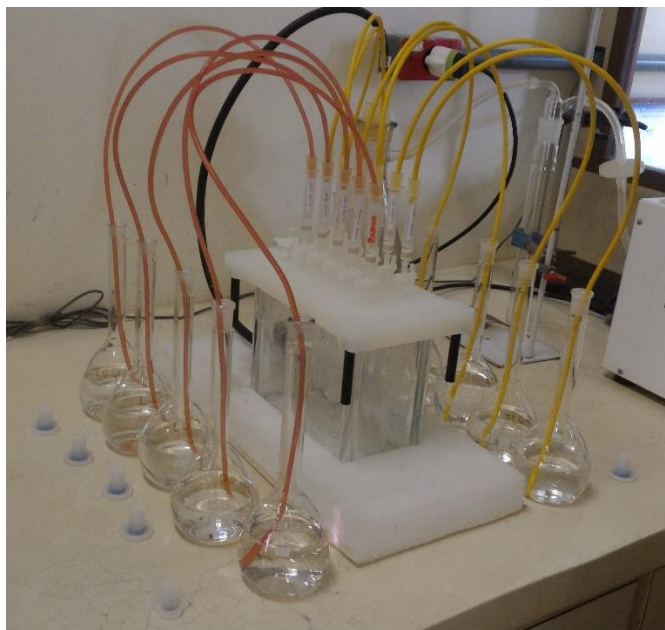
As amostras de água utilizadas na validação do método foram coletadas da torneira do laboratório.

#### 4.1.5 Obtenção do material sorvente

Para a obtenção do sorvente celulose/sílica, primeiramente é necessário um processo de deslignificação, para a remoção da lignina. Este processo utiliza etanol e ácido sulfúrico sob condições de refluxo para a remoção da maior parte de lignina da casca de arroz. Após o processo, o sólido possui celulose, hemicelulose, sílica e baixa quantidade de lignina. O sólido é colocado então em um frasco contendo 100 mL de hipoclorito de sódio (6% cloro ativo) em condições ácidas e aquecido por 2 h para total remoção da lignina residual e da hemicelulose por clareamento oxidativo. Após o branqueamento, o composto é seco, caracterizado e disponibilizado para testes de adsorção (DA ROSA et al., 2018). Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Orgânica do prof. Dr. Paulo Beck pelo doutorando Marcelo Rosa e o material foi cedido ao LACOM para o desenvolvimento deste trabalho de conclusão de curso.

#### 4.1.6 Extração em fase sólida (SPE)

No sistema SPE utiliza-se um dispositivo *manifold*, que é um sistema formado por uma caixa de vácuo (Figura 6), com espaço simultâneo para 12 cartuchos de SPE. Esse sistema é muito utilizado em análises de rotina, já que possibilita a extração de várias amostras simultaneamente. As amostras são colocadas em balões volumétricos de 250 mL e sequencialmente são transferidas para os cartuchos SPE através de tubulações de politetrafluoretileno (PTFE). A transferência ocorre por sucção em função do vácuo aplicado no sistema, controlado em cada cartucho através de válvulas. Para a pré- concentração das amostras o vácuo foi mantido na faixa de 300 – 400 mmHg.



**Figura 6.** Sistema de SPE utilizado para pré-concentração dos agrotóxicos

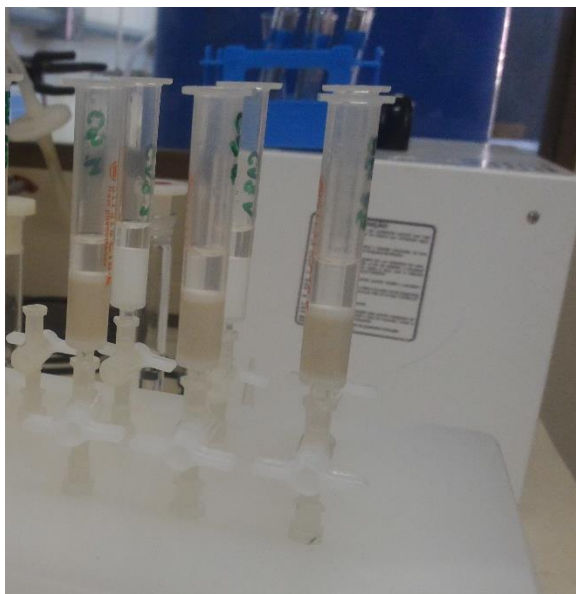
#### 4.1.6.1 Comparação da eficiência de extração de 51 analitos por sílica/celulose com C18 (Teste preliminar)

O primeiro teste foi realizado no sentido de comparar a eficiência de extração do sorvente proposto para utilização na SPE com o mais tradicionalmente empregado (C18). Nas seringas de polipropileno vazias foi acrescentado um filtro (disco de polietileno 20  $\mu\text{m}$ ), e em sequência 500 mg do material sorvente foi adicionado cuidadosamente. Os cartuchos foram empacotados e homogeneizados com o auxílio de um bastão de vidro. Por último outro filtro de polietileno foi acrescentado. Na Figura 7 estão ilustrados os cartuchos contendo o sorvente sílica/celulose utilizados na SPE. Nesta etapa do trabalho, também foram utilizados cartuchos comerciais (Strata® C18-E 200 mg/3,0 mL) contendo C18 para comparação da eficiência do sorvente alternativo.



**Figura 7.** Cartuchos com 500 mg de sílica/celulose preparados e empacotados

Os experimentos foram realizados condicionando (Figura 8) os cartuchos de sílica/celulose e os de C18 com 3 mL de metanol, 3 mL de água ultrapura e 3 mL de água ultrapura acidificada. Um volume de 250 mL de água fortificada em um nível de  $4 \mu\text{g L}^{-1}$  com pH ajustado em 3,0 utilizando uma solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v), foi percolada através dos sorventes (C18 e sílica/celulose) à uma vazão de  $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ , totalizando 4 h. A eluição dos analitos retidos foi feita com 2 mL ( $2 \times 1000 \mu\text{L}$ ) de metanol. O eluato foi recolhido e analisado por LC-MS/MS, conforme descrito por Caldas et al. (2018). Os experimentos foram realizados em triplicata. Um branco foi realizado utilizando água da torneira acidificada à pH 3.



**Figura 8.** Cartuchos com 500 mg de sílica/celulose em condicionamento

Realizada a comparação da eficiência, foi escolhida uma classe de compostos para dar sequência a otimização da SPE com o sorvente sílica/celulose.

#### 4.1.7 Otimização da SPE empregando sorvente alternativo

Para os testes de otimização empregando sorvente alternativo foram utilizadas amostras de torneira fortificadas com uma mistura de triazóis na concentração de  $0,005 \text{ mg L}^{-1}$  para o epoxiconazol, tebuconazol e difenoconazol e  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  para o propiconazol.

##### a. Granulometria da sílica/celulose

Para testar a granulometria, o material sorvente foi peneirado em duas peneiras de diâmetros diferentes, uma de 200 mesh ( $74 \mu\text{m}$  de diâmetro) e uma de 270 mesh ( $53 \mu\text{m}$  de diâmetro), e o material recolhido foi entre esses dois valores, ou seja, partículas entre  $53 \mu\text{m}$  e  $74 \mu\text{m}$  de diâmetro. Outra peneira de 140 mesh foi utilizada para garantir partículas menores ou iguais a  $105 \mu\text{m}$ . Após foram preparados cartuchos contendo 500 mg de sorvente com partículas entre  $53\text{-}74 \mu\text{m}$  e contendo 500 mg de sorvente com partículas  $< 105 \mu\text{m}$  e então submetidos a extração conforme descrito no item 4.1.6.

## b. Avaliação da quantidade de sorvente

Os cartuchos de polipropileno foram preenchidos com massa de 500 mg e de 200 mg de sorvente no tamanho de partícula (<105  $\mu\text{m}$ ) e então submetidos a extração conforme descrito no item 4.1.6.

### 4.1.8 Otimização do sistema cromatográfico LC-DAD

O método cromatográfico de fase reversa foi escolhido por conta da polaridade dos agrotóxicos em estudo, nesse caso polaridade intermediária. Dessa forma na otimização utilizou-se como fase estacionária (FE) uma coluna Sinergy C18 (250 mm x 4,6 mm, 4  $\mu\text{m}$ ) e como fase móvel (FM) diferentes proporções de solventes polares: acetonitrila, metanol e água ultrapura.

Para a otimização das condições cromatográficas primeiramente foram injetadas, individualmente, as soluções padrões dos agrotóxicos (1 mg L<sup>-1</sup>) selecionados para este estudo, onde foram observados o tempo de retenção e o espectro de absorção molecular de cada composto, obtido pelo DAD.

#### 4.1.8.1 Preparo e escolha da fase móvel

Os solventes utilizados foram preparados em frascos individuais rotulados de acordo com sua composição. Foram filtrados à vácuo em membranas de nylon 0,45  $\mu\text{m}$  e degaseificados em ultrassom durante 30 minutos, à temperatura ambiente. A degaseificação foi feita diariamente.

Para a definição da composição da fase móvel na separação cromatográfica foram testadas diferentes proporções, utilizando metanol, acetonitrila e água ultrapura.

#### 4.1.8.2 Determinação do comprimento de onda de máxima absorção

Para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção de cada agrotóxico, foi injetada no LC-DAD a solução padrão individual contendo 1 mg L<sup>-1</sup>, o espectro de absorção molecular foi observado na faixa de 190 a 400 nm, assim determinado o comprimento de onda de máxima absorção para cada agrotóxico. O espectro de absorção foi utilizado para confirmar a identidade dos picos das amostras. O DAD possibilita a verificação da pureza dos picos, comparando os espectros em diversos pontos do pico cromatográfico (JAUFMANN, 1998),

quando iguais em todos os pontos, há garantia de que naquele tempo de retenção apresenta sinal de apenas um composto.

#### 4.1.9 Validação

Uma vez definida as melhores condições para determinação dos agrotóxicos, foi realizada a validação do método. Os parâmetros utilizados neste trabalho para a validação dos métodos analíticos foram: curva analítica, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação) e precisão (ANVISA, 2017; SANTE, 2017).

##### 4.1.9.1 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção e quantificação foram definidos pelo método do sinal/ruído (s/n), no qual foi medido a área do ruído próxima ao tempo de retenção dos analitos e comparada com as áreas destes. Para o LOD foi verificada a concentração correspondente a 3 vezes a área do ruído e para o LOQ a concentração correspondente a 10 vezes o sinal/ruído.

##### 4.1.9.2 Curva analítica e linearidade

A curva analítica para os agrotóxicos foi construída com 5 níveis de concentração, LOQ, 5 LOQ, 10 LOQ, 25 LOQ e 50 LOQ. Cada solução foi injetada três vezes e o gráfico da área do pico *versus* a concentração foi obtido com o auxílio dos softwares dos equipamentos. Com a curva analítica foi possível avaliar a linearidade do método, a partir do coeficiente de correlação linear (r).

##### 4.1.9.3 Exatidão

A recuperação foi determinada em 3 concentrações de acordo com as recomendações da ANVISA, adicionando concentrações conhecidas do padrão analítico na amostra no início do processo. A amostra utilizada foi a água e esta foi fortificada com a adição de pequenos volumes da solução estoque contendo a mistura dos agrotóxicos de interesse, a fim de obter os níveis de fortificação desejados, sendo estes, LOQ, 3LOQ e 5 LOQ.

Os cálculos foram feitos de acordo com a equação (1), onde é expressa a porcentagem de recuperação.

$$R(\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

C<sub>1</sub>= concentração determinada na amostra fortificada

C<sub>2</sub>= concentração determinada na amostra não fortificada

C<sub>3</sub>= Concentração da fortificação

#### 4.1.9.4 Precisão

A precisão do método em termos de repetitividade foi obtida através da extração e análise de amostras fortificadas com 3 níveis de concentração. A extração foi realizada em triplicata e as injeções em duplicata. O valor numérico para avaliar a precisão foi o desvio padrão relativo (RSD%), calculado através da equação (2).

$$RSD(\%) = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

s= estimativa do desvio padrão absoluto;

X<sub>m</sub>=média de uma série de medidas (replicatas)

#### 4.6 Análise estatística dos resultados

A análise estatística dos resultados de otimização das condições do sorvente alternativo (granulometria e massa de sorvente) foi realizada por ANOVA considerando as médias de triplicatas dos ensaios, seguida pelo teste de Tukey a um nível de 5 % (p<0,05), utilizando o programa “Statistica” (versão 7.0, StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

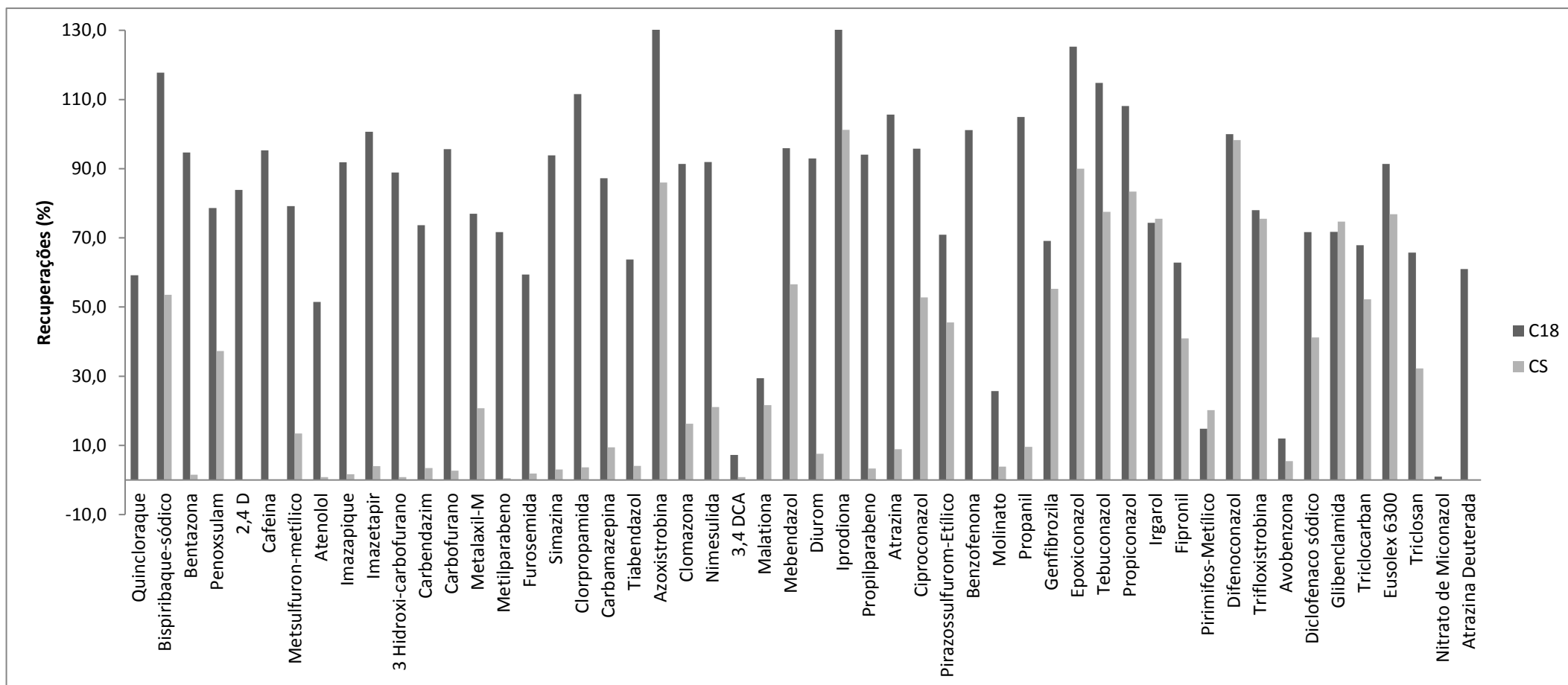
## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Seleção dos analitos

Um estudo preliminar para a seleção dos analitos e comparação da eficiência de extração do sorvente alternativo e o sorvente convencional foi realizado no LC-MS/MS. Neste estudo foram utilizados 51 compostos, dentre eles, agrotóxicos e PPCPs, com log de K<sub>ow</sub> variando de -1,15 a 6,1, ou seja, compostos de baixa lipofilicidade a alta.

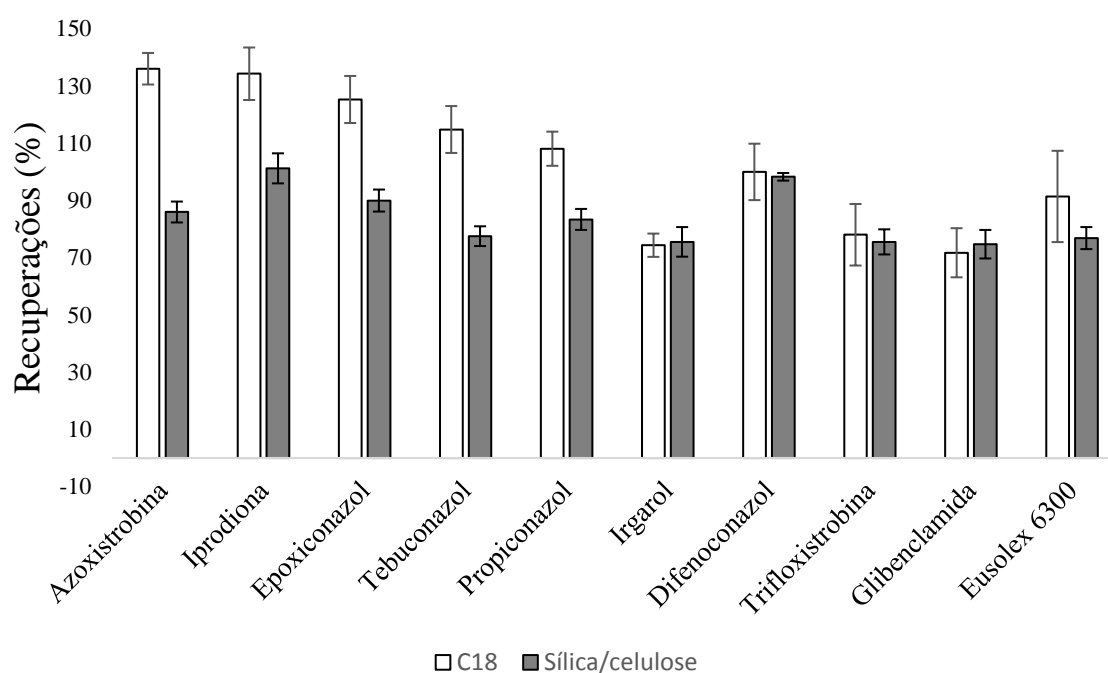


Ao ser utilizado o sorvente convencional C18, foram detectados os 51 compostos, enquanto para o alternativo 44 compostos foram detectados. Como pode ser visto na Figura 9 as recuperações encontradas variaram de 1- 101% para o sorvente alternativo, enquanto que para o C18 as recuperações foram maiores (1-136%), porém alguns valores estavam abaixo da faixa permitida pela SANTE (SANTE, 2017).



**Figura 9.** Recuperações utilizando 500 mg de sílica/celulose e cartuchos de 500 mg de C18. Resultados apresentados em ordem crescente de log de Kow

Os compostos que tiveram melhores recuperações utilizando o sorvente alternativo (faixa de 75 – 101%), são: a azoxistrobina, iprodiona, irgarol, epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol, difenoconazol, trifloxistrobina, glibenclamida e eusolex 6300. Para o C18 esses compostos tiveram recuperações na faixa de 72 - 136%. Portanto, para esses 10 compostos o uso do compósito sílica/celulose foi mais eficiente que o C18. Esse resultado é promissor, tendo em vista que o compósito é proveniente de um resíduo agrícola, contribuindo para diminuição do impacto ambiental de sua incorreta deposição. A Figura 10 apresenta as recuperações e os RSD para os dez compostos extraídos com recuperações superiores a 70% tanto utilizando a sílica/celulose quanto o C18.



**Figura 10.** Recuperações (%) referentes à utilização de 500 mg de C18 e 500 mg de sílica/celulose como sorvente na SPE

A azoxistrobina é um fungicida sistêmico, do grupo químico estrobilurina e classificação toxicológica (III), com ação predominantemente preventiva, mas também curativa. Iprodiona é um fungicida de contato, do grupo químico dicarboximida e classificação toxicológica (II). Irgarol é um biocida da família das triazinas, utilizado em tintas anti-incrustantes. Trifloxistrobina é um fungicida sistêmico, do grupo químico estrobilurina, com ação predominantemente preventiva, mas também curativa e classificação toxicológica (II) (AGROFIT,2012). Glibenclamida é um medicamento destinado ao tratamento oral do diabetes mellitus não insulino-dependente (tipo 2), quando os níveis sanguíneos de glicose não podem

ser controlados apenas por dieta, exercício físico e redução de peso (ANVISA, 2018<sup>o</sup>). Eusolex 6300 é um filtro solar com nome químico Metilbenzilideno Cânfora, com alto grau de absorção da radiação ultravioleta B, com pico de absorção em 300 nm.

Foi observado que para a sílica/celulose, os analitos com melhor recuperação foram os com característica mais apolar. Os compostos mais polares possivelmente tiveram uma maior interação com o compósito, visto sua característica extremamente polar, não sendo eluídos com o metanol. Os dez compostos apresentaram resultados dentro da faixa preconizada pela legislação (60% - 140%) (SANTE,2017).

Dentre esses compostos, quatro deles são da classe dos triazóis: epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol. Uma vez que estes compostos são fungicidas sistêmicos muito utilizados em diversos tipos de culturas, de cereais à frutíferas, e que possuem propensão a serem persistentes e bioacumuladores, optou-se para o estudo específico destes.

Foi realizado uma revisão dos métodos de determinações desses compostos (Tabela 3) onde verifica-se que vários trabalhos utilizam o DAD. Uma vez que esses compostos possuem máxima absorção na região do UV 190nm – 400 nm, optou-se trabalhar com o LC-DAD.

## 5.2 Separação cromatográfica por LC-DAD

### 5.2.1 Composição da fase móvel

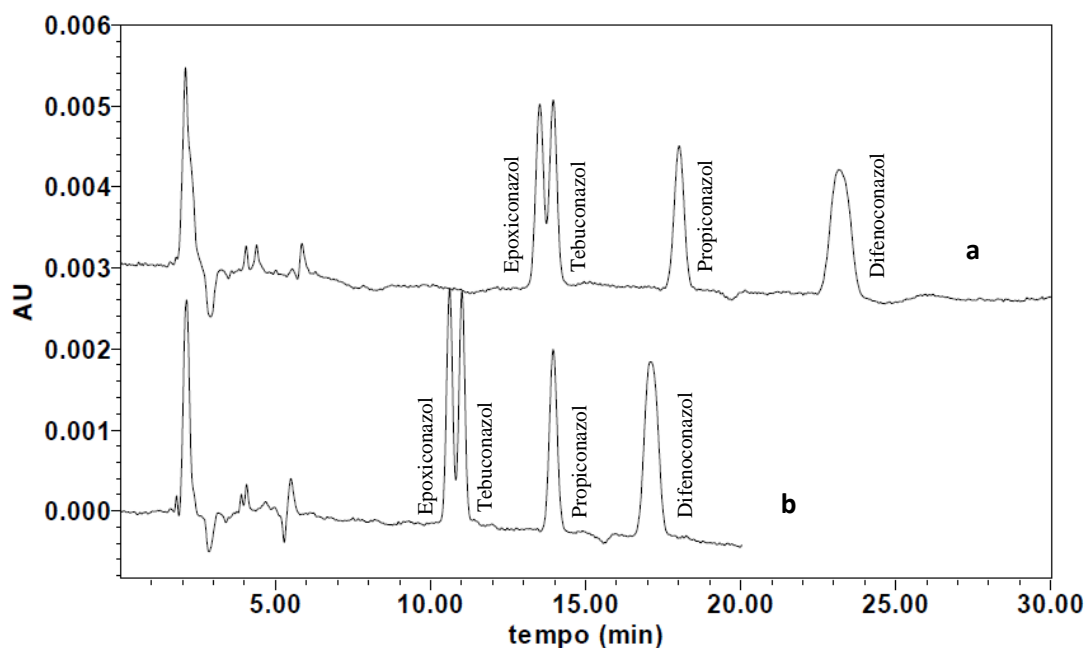
Na Tabela 5, pode-se observar as diferentes proporções de fase móvel testadas e as influências no tempo de retenção dos compostos. Dentre as composições apresentadas na tabela a que forneceu melhor separação dos analitos foi a mistura água:acetonitrila:metanol (22:44:34, v/v/v). Após a escolha da fase móvel foi feito testes com a vazão para melhorar a resolução dos picos e o tempo de análise, onde a final foi de 1,2 mL min<sup>-1</sup> e um tempo de análise de 10 min. Todas as análises foram feitas em modo de eluição isocrático.

**Tabela 5.** Composições de fase móvel e vazões testadas na otimização da separação dos agrotóxicos no LC-DAD

Proporções dos solventes (%)			Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	Tempos de retenção (min) para diferentes proporções de FM			
Água ultrapura	Acetonitrila	Metanol		Epoxiconazol	Tebuconazol	Propiconazol	Difenoconazol
48	52	0	1,0	15,53	16,20	15,21	27,67
40	60	0	1,0	9,53	9,90	12,43	14,90
42	58	0	1,0	10,62	11,01	13,96	17,11
46	54	0	1,0	13,52	13,95	18,02	23,19
30	0	70	1,0	13,31	16,64	17,58	24,42
20	0	80	1,0	6,56	7,54	7,90	9,07
25	0	75	1,0	9,04	10,80	11,40	14,30
32	0	68	1,0	16,29	20,74	21,95	31,93
35	0	65	1,0	23,18	30,27	31,86	50,62
42	35	23	1,0	22,06	25,32	30,61	-
37	35	28	1,0	15,92	18,48	21,86	31,50
34	38	28	1,0	12,45	14,30	16,80	22,84
32	40	28	1,0	10,75	12,27	14,35	18,84
28	44	28	1,2	6,88	7,77	8,96	11,01
25	44	31	1,2	6,02	6,77	7,70	9,10
22	44	34	1,2	5,30	5,94	6,65	7,59

(-) O analito não eluiu no tempo de análise

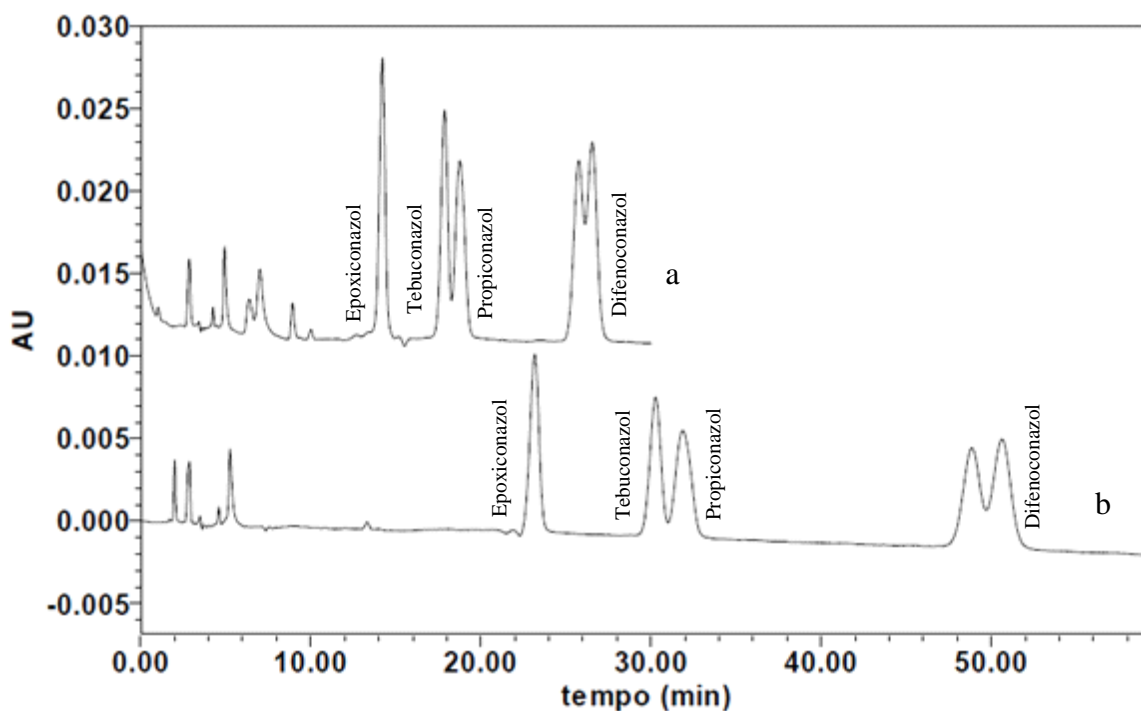
Para as condições envolvendo acetonitrila e água ultrapura como fase móvel, observou-se que independente das proporções, aumentando a força de eluição, ou seja, aumentando a porcentagem de acetonitrila, dois compostos co-eluíram, sendo estes o epoxiconazol e o tebuconazol. A Figura 11, apresenta dois cromatogramas para ilustrar o ocorrido.



**Figura 11.** Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , **a.** Água: MeCN (48:52, v/v) **b.** Água: MeCN (46:54, v/v), vazão:  $1 \text{ mL min}^{-1}$

Foram testados então água ultrapura e metanol, em diversas proporções como apresentado na Tabela 5, porém em todas as condições houve co-eluição dos compostos tebuconazol e propiconazol, como ilustra a Figura 12.

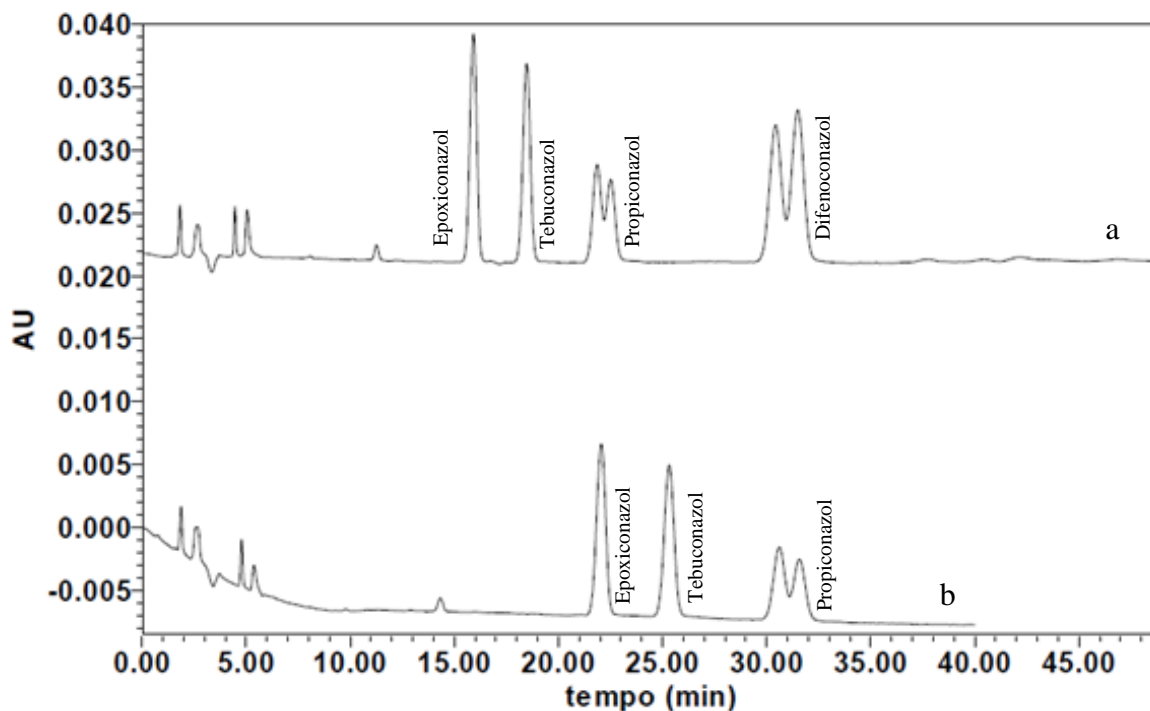
No caso dessas duas condições apresentadas na Figura 12, primeiramente foi feita a condição água:MeOH (30:70, v/v) e observou-se que a força de eluição estava muito forte, o que impossibilitou a separação dos compostos tebuconazol e propiconazol (Figura 12a). Dessa forma, com o intuito de diminuir essa força, aumentou-se 5% de água na fase móvel, porém ainda não foi possível a separação dos compostos tebuconazol e propiconazol e o tempo de análise se estendeu para 50 minutos (Figura 12b). Também, foi avaliada a fase móvel acidificada a pH 3, para verificar se ocorria mudança nos tempos de retenção, porém não houve diferença, visto que os triazóis são estáveis a mudança de pH.



**Figura 12.** Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , **a.** Água: MeOH (30:70, v/v) **b.** Água: MeOH (35:65, v/v), vazão:  $1 \text{ mL min}^{-1}$

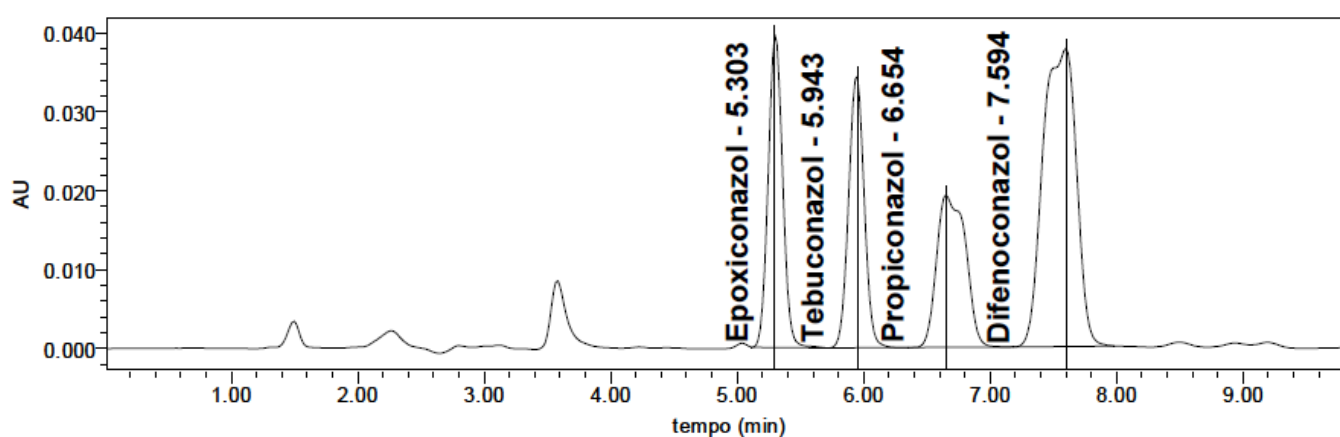
Para as composições de fase móvel acetonitrila e água houve a co-eluição do primeiro e segundo composto (epoxiconazol e tebuconazol, respectivamente) e para as composições de fase móvel metanol e água houve a co-eluição do segundo e terceiro composto (tebuconazol e propiconazol, respectivamente). Portanto foi avaliada uma mistura dos três componentes, água ultrapura, acetonitrila e metanol, com o intuito de mudar as forças de interação. Na Figura 13, duas condições que não possibilitaram separação são apresentadas.

A primeira condição ternária testada entre as duas apresentadas na Figura 13, foi a ilustrada na Figura 13b, onde verifica-se que em um tempo de análise de 40 minutos o difenoconazol não eluiu. A condição da Figura 13a foi então testada e pelo cromatograma é possível verificar que houve a separação dos 4 triazóis. Porém o formato dos picos está alargado e não satisfatório. Dessa forma, para que esse aspecto fosse melhorado algumas alterações nas proporções da fase móvel foram feitas e também na vazão como foi apresentado na Tabela 5.



**Figura 13.** Cromatogramas referentes a mistura de triazóis de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , **a.** Água:MeCN: MeOH (37:35:28, v/v/v) **b.** Água: MeCN: MeOH (42:35:23, v/v/v), vazão:  $1 \text{ mL min}^{-1}$

As condições ideais encontradas para separação dos triazóis em estudo foi a utilização de solvente ternário, sendo água, acetonitrila e metanol, nas proporções 22:44:34, com uma vazão de  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$  e modo de eluição isocrático, com um tempo de análise de 10 minutos. A Figura 14 apresenta o cromatograma referente a essa condição.



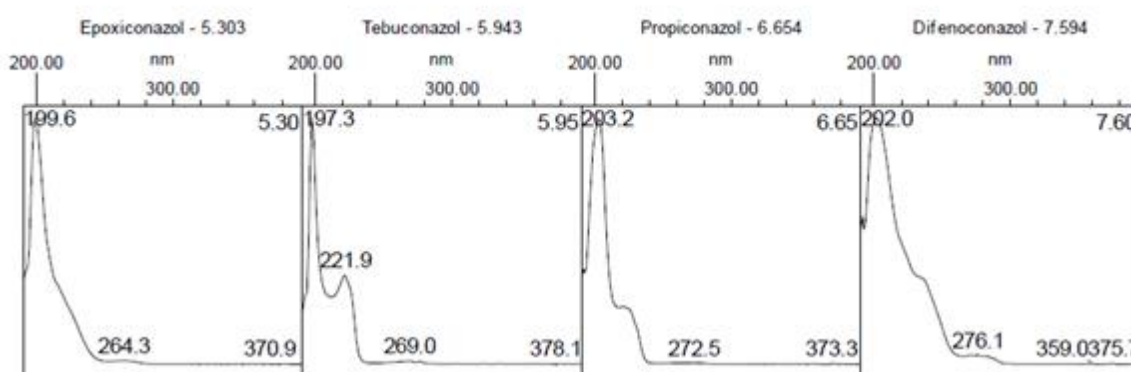
**Figura 14.** Cromatogramas referentes a mix de triazóis  $10 \text{ mg L}^{-1}$  sob as condições de fase móvel de Água:MeCN:MeOH (22:44:34, v/v/v), vazão  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$



Com o detector de arranjo de diodos é possível a comparação do espectro do pico obtido na separação cromatográfica com o espectro de um padrão, confirmando a presença de um determinado composto puro e garantindo a seletividade do método (CALDAS, 2009). Dessa forma, os espectros obtidos na separação cromatográfica para os analitos em estudo demonstraram a seletividade do método, uma vez que, garantiu-se que o pico de resposta é referente ao composto de interesse puro.

### 5.2.2 Determinação do comprimento de onda de máxima absorção

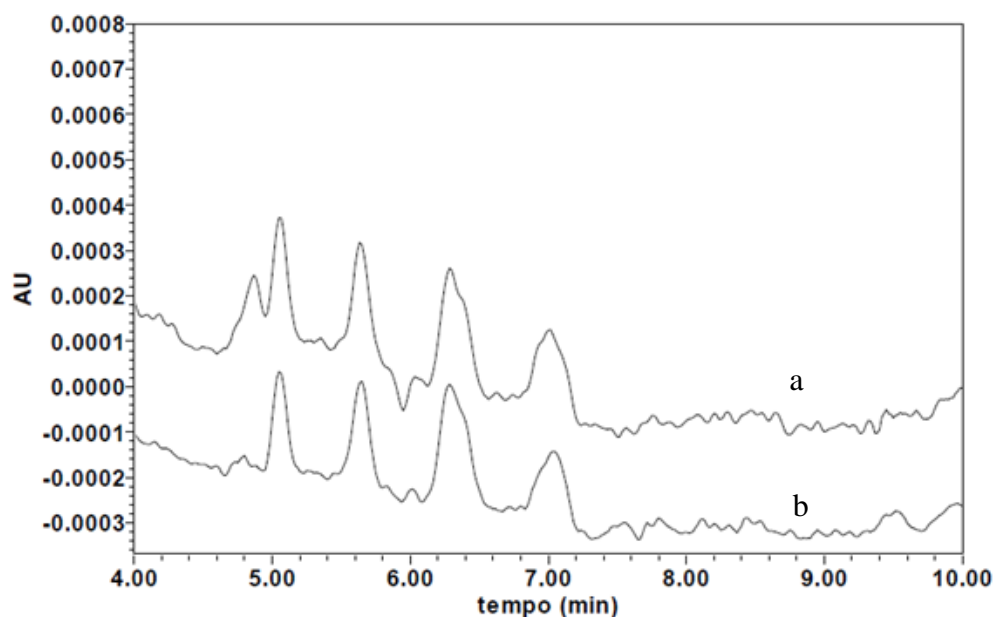
Nas condições cromatográficas otimizadas, padrões individuais  $10 \text{ mg L}^{-1}$  dos quatro triazóis: epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol foram injetados no LC-DAD, para obtenção dos espectros e seus respectivos  $t_R$  (Figura 15).



**Figura 15.** Espectros referentes aos padrões individuais de concentração  $10 \text{ mg L}^{-1}$ .

Pela Figura 15 observa-se que os compostos absorvem com alta intensidade em torno do comprimento de onda de 200 nm, porém nesse comprimento de onda o ruído é muito intenso o que dificulta a quantificação ou até mesmo a verificação dos sinais.

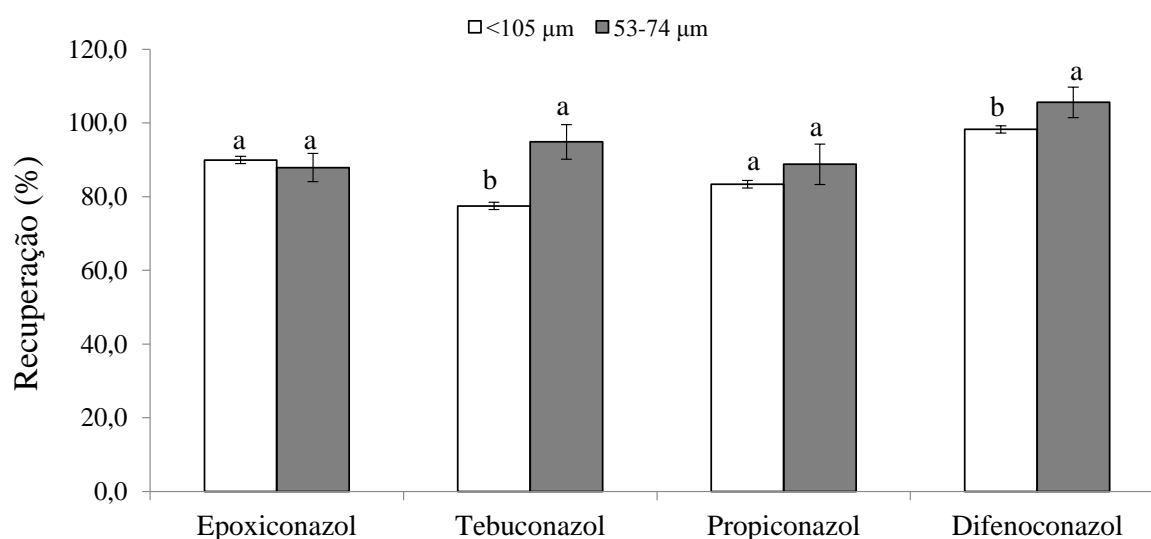
Testou-se então em outros comprimentos de onda próximo a 220 nm (Figura 16a), onde todos os compostos absorvessem e que houvesse diminuição do ruído possibilitando a quantificação dos analitos, sendo o melhor escolhido 225 nm (Figura 16b).



**Figura 16.** Cromatogramas referentes aos triazóis na concentração referente ao LOQ em 220 nm (a) e 225 nm (b).

### 5.3 Otimização SPE

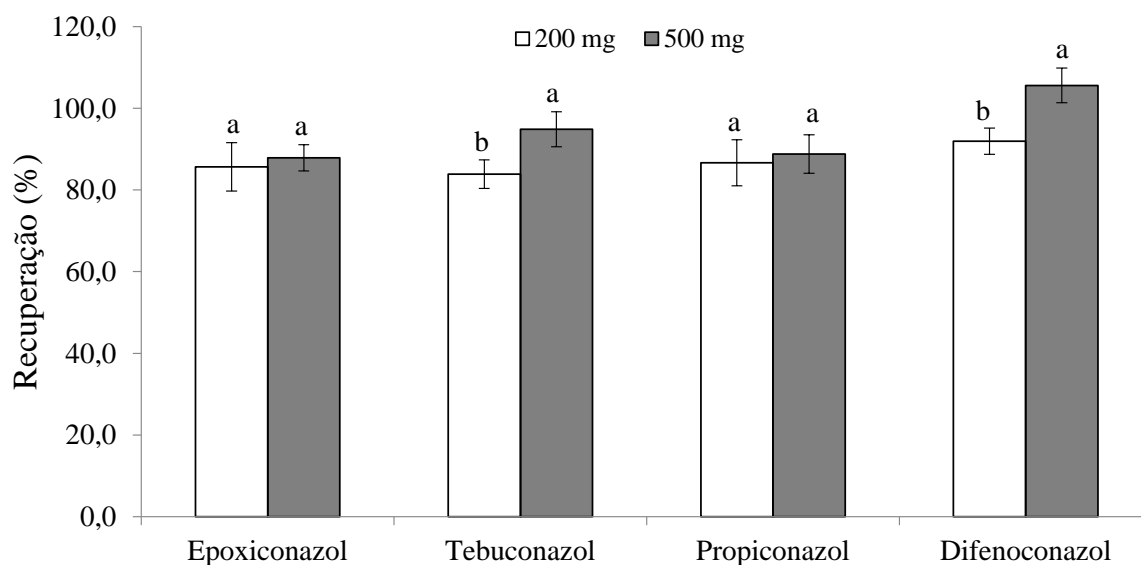
Após encontrar as condições cromatográficas ideais foi feita a otimização da SPE. O primeiro teste realizado foi a influência da granulometria na recuperação dos 4 triazóis selecionados. Foram testadas a granulometria  $< 105 \mu\text{m}$  e a peneirada ( $53\text{-}74 \mu\text{m}$ ) próxima da faixa de  $55 \mu\text{m}$ , valor este da granulometria do C18 em um cartucho comercial (Figura 17).



**Figura 17.** Recuperações para o cartucho preenchido com 500 mg de material sorvente com partículas  $< 105 \mu\text{m}$  e partículas de  $53\text{-}74 \mu\text{m}$ . Letras diferentes indicam diferença estatística para cada analito ( $p < 0,05$ ).

As recuperações obtidas ficaram entre 77- 98% para o sorvente com partículas < 105  $\mu\text{m}$  e de 87 – 105% para o sorvente com partículas aproximada de 55  $\mu\text{m}$ . Para verificar a necessidade de padronizar o tamanho de partícula (~55  $\mu\text{m}$ ) foi realizada uma análise estatística dos dados e observa-se que para o epoxiconazol e propiconazol não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os sorventes utilizados. Para o tebuconazol e o difenoconazol houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os sorventes empregados, obtendo-se maiores resultados para o uso de sorvente com partículas de ~55  $\mu\text{m}$ . Apesar dessa diferença foi selecionado para a continuidade do trabalho o uso de sorvente com partículas < 105  $\mu\text{m}$ , uma vez que o rendimento obtido na fração peneirada foi de 20%.

Após a definição da granulometria do sorvente foi avaliada a quantidade de massa do sorvente (Figura 18), onde as recuperações obtidas ficaram entre 87 – 105% para a quantidade de 500 mg de sorvente no cartucho e de 83 – 91 % para a quantidade de 200 mg de sorvente no cartucho. Para verificar a significância da quantidade de massa na extração, foi realizada uma análise estatística dos dados e observa-se que para o epoxiconazol e propiconazol não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os sorventes utilizados. Para o tebuconazol e o difenoconazol houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os sorventes empregados, obtendo-se maiores resultados para o uso de sorvente com massa de 500 mg.



**Figura 18.** Recuperações empregando diferentes massas no empacotamento do cartucho (200 mg e 500 mg de material sorvente). Letras diferentes indicam diferença estatística ( $p<0,05$ ).

Apesar dessa diferença foi selecionado para a continuidade do trabalho o uso de massa reduzida do sorvente, já que a faixa encontrada se apresenta dentro da considerada ideal pela legislação, 70 – 120% (SANTE, 2017) e também pela vantagem de que com a redução de massa houve a diminuição em 2 h do tempo de percolação, o que é uma vantagem já que as análises de agrotóxico devem ser rotineiras para controle e precaução.

No trabalho de Souza (2017) foi avaliado as massas de 250 mg e 150 mg do biocarvão de aguapé, ocorrendo um aumento nas recuperações com a diminuição da massa de sorvente, comportamento similar ao encontrado no presente estudo.

Portanto, ficou definido como condição ideal a utilização de 200 mg de sorvente com granulometria <105  $\mu\text{m}$ .

#### 5.4 Validação do método por LC-DAD

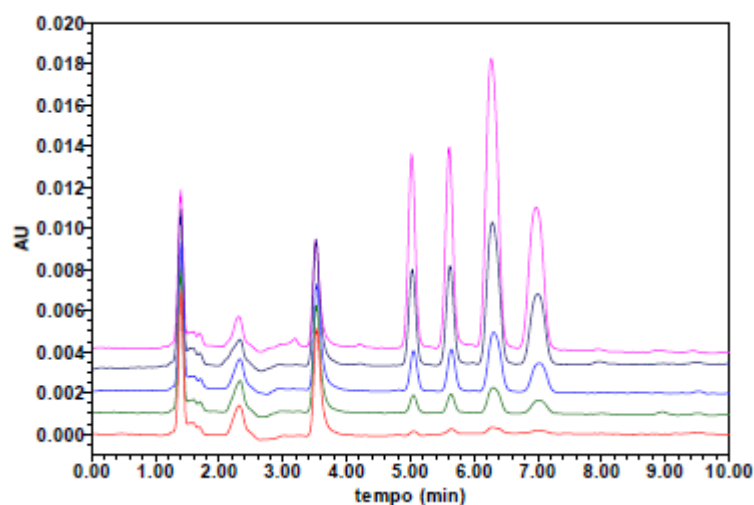
Primeiramente, definiram-se os limites de detecção e quantificação do instrumento e do método para cada analito. Após, realizou-se o preparo e a injeção das curvas no solvente. A Tabela 6 apresenta os valores de LOD e LOQ instrumentais e do método para os analitos em estudo.

**Tabela 6.** LOD e LOQ instrumentais (LOD<sub>i</sub> e LOQ<sub>i</sub>) e do método (LOD<sub>m</sub> e LOQ<sub>m</sub>) para determinação de triazóis por SPE e LC-DAD

<b>Analito</b>	<b>LOD<sub>i</sub></b> <b>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LOQ<sub>i</sub></b> <b>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LOD<sub>m</sub></b> <b>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LOQ<sub>m</sub></b> <b>(<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
Epoxiconazol	15	50	0,06	0,2
Tebuconazol	15	50	0,06	0,2
Propiconazol	30	100	0,12	0,4
Difenoconazol	15	50	0,06	0,2

Os valores de LOQ obtidos no LC-DAD para os agrotóxicos atendem a legislação Brasileira para o tebuconazol, sendo o valor máximo permitido o de 180  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Para os outros triazóis em estudo, ainda não há legislação no Brasil. O valor máximo de agrotóxicos permitidos pela União Européia em águas para consumo humano é de 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  (agrotóxico individual), dessa forma poderia ser feita uma pré-concentração maior do extrato atingindo esse valor como limite de quantificação do método. Os limites de quantificação para o método desenvolvido atendem as exigências encontradas na legislação Brasileira, podendo ser empregada para o monitoramento de águas e controle de possíveis contaminações pelos analitos em estudo.

Após a definição dos limites de detecção e quantificação foi construída a curva analítica dos 4 triazóis (Figura 19) e na Tabela 7 estão descritas as equações obtidas para curva analítica preparada no solvente seguida de seus respectivos  $r$ , obtidos na validação do método



**Figura 19.** Cromatogramas referentes a diferentes concentrações da mistura de triazóis: - LOQ, - 5 LOQ, - 10 LOQ, - 25 LOQ, - 50 LOQ

**Tabela 7.** Curva analítica para determinação de triazóis por LC-DAD

<i>Analito</i>	<b>Equação</b>	<b>r</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
<i>Epoxiconazol</i>	$y=2,80 \cdot 10^4 x - 3,17 \cdot 10^2$	0,9987	0,9973
<i>Tebuconazol</i>	$y=3,22 \cdot 10^4 x + 6,74 \cdot 10^2$	0,9996	0,9992
<i>Propiconazol</i>	$y=3,66 \cdot 10^4 x + 3,41 \cdot 10^2$	0,9994	0,9988
<i>Difenoconazol</i>	$y=4,25 \cdot 10^4 x + 3,37 \cdot 10^2$	0,9995	0,9990

Através dos parâmetros obtidos para a construção da curva analítica, foi concluído que o modelo de regressão linear é adequado para as determinações analíticas em estudo, já que os coeficientes de correlação  $r$  foram maiores que 0,998. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação de no mínimo 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90 (ANVISA, 2017; INMETRO, 2018).

Com relação à exatidão e precisão, foram obtidas recuperações e desvios relativos padrões, expressos na Tabela 8.

**Tabela 8.** Precisão em termos de repetibilidade e precisão intermediária e recuperações dos compostos de estudo, epoxiconazol, tebuconazol, propiconazol e difenoconazol em diferentes níveis de concentração

Agrotóxicos	Repetibilidade						Precisão intermediária			
	LOQ		3LOQ		5LOQ		LOQ		5LOQ	
	R%	RSD%	R%	RSD%	R%	RSD%	R%	RSD%	R%	RSD%
Epoxiconazol	53,3	31,6	120,2	15,8	107,4	16,6	99,2	18,1	116,5	3,7
Tebuconazol	86,9	16,1	92,2	7,1	76,4	15,1	105,4	14,2	80,2	4,4
Propiconazol	68,2	25,7	98,7	14,2	100,9	20,2	172,5	11,3	144,6	1,7
Difenoconazol	150,3	11,8	129,5	14,7	87,4	15,3	118,1	7,0	129,4	4,2

(LOQ) Limite de quantificação do método, (R) Recuperação, (RSD) Desvio padrão relativo

De acordo com a SANTE, a faixa aceitável de recuperação deve ser entre 70 – 120%, uma faixa fora dessa pode ser aceita se for consistente, porém a média de recuperação não pode estar abaixo de 30% e nem acima de 140%. Neste caso, deve ser corrigido ou utilizado um outro método (SANTE, 2017). Dentre as recuperações obtidas, apenas o difenoconazol em concentração LOQ teve uma recuperação fora da faixa, e o propiconazol nas concentrações LOQ e 5LOQ. O resultado encontrado é promissor visto que o sorvente sílica/celulose foi extraído diretamente da casca de arroz, um resíduo agrícola sem custo e de fácil obtenção. A aplicabilidade de fontes oriundas da casca de arroz é de interesse ambiental visto que esta geralmente é queimada e suas cinzas direcionadas para aterros sanitários, poluindo mananciais de água, solo ou até mesmo o ar (POUEY, 2006).

Em relação a precisão, os valores de RSD encontrados variaram de 1,7 a 31,6 %, sendo os maiores valores de desvio os pertencentes a concentração LOQ. A SANTE indica  $RSD \leq 20\%$  ideais para confiabilizar o método, sendo assim, todos os valores com exceção do epoxiconazol e propiconazol na concentração LOQ, estão dentro do valor indicado pela SANTE (SANTE, 2017). Os resultados de precisão foram satisfatórios, visto que o LOQ é o limite de quantificação do método, sendo uma margem de difícil trabalho, e frente a um material novo onde o empacotamento foi de forma manual, o que pode causar uma grande variabilidade entre um cartucho e outro.

Apesar de alguns resultados estarem fora da faixa estipulada pela SANTE, o material usado é novo, não tendo visto na literatura sua utilização na SPE, também é notada sua fácil obtenção, sendo proveniente de fonte natural, baixo custo, sendo um avanço para a área da química analítica e química analítica verde.

## 6 CONCLUSÕES

A utilização do compósito de sílica/celulose extraída da casca de arroz como material alternativo na SPE teve excelente resultado, efetivando seu potencial de extração frente aos quatro triazóis em estudo (recuperações de 53,3 – 172,5% e RSD de 1,7 - 31,6%). O método utilizado possibilita a extração e quantificação de agrotóxicos em níveis menores de concentração que os valores máximos permitidos pela legislação da Comunidade Europeia, tornando um método atraente para o controle destes em água.

As condições cromatográficas otimizadas para o LC-DAD, permitiram a identificação e quantificação dos compostos em estudo, em um tempo de análise de 10 minutos. O comprimento de onda utilizado para a quantificação simultânea dos quatro agrotóxicos foi de 225 nm determinado após análise dos espectros de absorção e avaliando o menor ruído.

Este trabalho além de ser aplicável para os quatro agrotóxicos selecionados, também abre um leque de possibilidades para estudo dos outros seis compostos que obtiveram boas recuperações (75 – 101%), agrotóxicos (azoxistrobina, iprodiona, irgarol, , trifloxistrobina) princípio ativo de medicamento para controle de diabetes (glibenclamida) e protetor solar (eusolex 6300) .

O método é inovador e engloba alguns princípios da química analítica verde, a utilização de substância renovável e de fácil obtenção. Também, ressalta-se a aplicabilidade de um resíduo agrícola em uma das técnicas (SPE) mais empregadas em extração e pré-concentração de analitos encontrados em níveis traço, como os agrotóxicos e PPCPs, utilizada por muitos laboratórios rotineiramente. Além disso, o presente estudo servirá como base para o uso desse material em outras técnicas de preparo de amostra.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT–SISTEMAS, DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento–Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. 2012. 2012.

ANDREU, V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 772-789, 2004. ISSN 0165-9936.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RE no 166/2017 Seção VI, Art 43, 2017.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)<sup>a</sup>. Agrotóxicos. Monografias autorizadas. E-22 - Epoxiconazol. 2018<sup>a</sup>.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)<sup>a</sup>. Agrotóxicos. Monografias autorizadas. T-32 - Tebuconazol. 2018<sup>b</sup>.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)<sup>a</sup>. Agrotóxicos. Monografias autorizadas. P-21 - Propiconazol. 2018<sup>c</sup>.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)<sup>a</sup>. Agrotóxicos. Monografias autorizadas. D-36 - Difenoconazol. 2018<sup>d</sup>.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Bula: Glibenclamida. <[http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=12021412017&pIdAnexo=7466383](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=12021412017&pIdAnexo=7466383)> Acesso em: 27 nov. 2018.

ARIAS, J. L. O. et al. Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, n. 1360, p. 66-75, 2014.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2. ed. 2002. p. 313-400.

BARBOSA, S. C. Desenvolvimento de métodos baseados na DLLME com demulsificante água para determinação multiresíduo de agrotóxicos e fármacos e produtos de cuida pessoal em amostras de água. **2015.f.84. Tese (Doutorado em Química) - FURG, Rio Grande, RS, 2015.**

BEZERRA, R. D.S. et al. Chemical Functionalization of Cellulosic Materials Main Reactions and Applications in the Contaminants Removal of Aqueous Medium. In: POLETTO, M. HORNAGHI JUNIOR, H. L. (Org.) *Cellulose - Fundamental Aspects and Current Trends*. 1ed.: InTech, p. 93-113, 2015

BORDAGARAY, A.; MILLÁN, E.; GARCIA-ARRONA, R. A Review on Microextraction Techniques for Selected Triazole Fungicides Determination in Water and Food Samples. **J Food Chem Nanotechnol**, v. 2, n. 3, p. 128-137, 2016.



BRAGA, J. W. B. et al. Determination of pesticides and metabolites in wine by high performance liquid chromatography and second-order calibration methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, p. 200 – 210, 2007.

BRAGA, S. L. Guia para desenvolvimento e otimização de métodos por cromatografia a líquido de alta eficiência para quantificação de fármacos. 2018.

BRONDI, S. H. G.; Lanças, F. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**,16,650.

BUSZEWSKI, B.; SZULTKA, M. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 42:198, 2012.

CABRERA, L. D. C.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. **Química Nova**, v. 31, p. 1982-1986, 2008. ISSN 0100-4042.

CALDAS, S. S. et al. Occurrence of Pesticides and PPCPs in Surface and Drinking Water in Southern Brazil: Data on 4-Year Monitoring. **environment**, v. 3, p. 5, 2018

CALDAS, S. S. et al. Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. 2011.

CALDAS, S. S. et al. Pesticide residue determination in groundwater using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detector and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 4, p. 642-650, 2010

CALDAS, Sergiane Souza. Otimização e validação de métodos empregando DLLME, SPE, HPLC-DAD e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em água subterrânea. 2009. Dissertação de Mestrado.

CARVALHO, A. P. M. G. et al. Emprego de casca de arroz como adsorvente para execução de técnica de MSPD para determinar aflatoxinas em cebolas. 2012.

CEREJEIRA, M. et al. Pesticides in Portuguese surface and group Waters. **Water Research**, v.37,p.1055-1063,2003.

CHIARELLO, M. et al. Determinação de agrotóxicos na água e sedimentos por HPLC-HRMS e sua relação com o uso e ocupação do solo. **Quim. Nova**, v. 40, n. 2, p. 158-65, 2017.

COELHO, G. F. et al. Uso de Técnicas de adsorção utilizando resíduos agroindustriais na remoção de contaminantes em águas. *Journal of Agronomic Sciences*, v. 3, n. especial, p. 291-317, 2014.

COLLINS, C. H.;BRAGA, G. L.;BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. 456p.

COMA, V. Polysaccharide-based biomaterials with antimicrobial and antioxidant properties. **Polímeros**, São Carlos, v. 23, n. 3, p. 287-297, 2013.

DA ROSA, M. P. et al. New method to obtain a natural and versatile “cellulose/silica hybrid composites” from rice husk waste and your application for absorptive processes, 2018

DAGLI, F. J. G. et al. Desenvolvimento de um procedimento Micro-QuEChERS para determinação de pesticidas em vinhos. 2018.

DE MELO, T. B. et al. IV-193-Monitoramento de agrotóxicos em águas superficiais de regiões agropecuárias do paran, 2017

DEMOLINER, A. et al. Development and validation of a method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the determination of multiple classes of pesticides and metabolites in water samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1424-1433, 2010.

DIRECTIVE, Council. 98/83/EC of 3 November 1998 on the Quality of Water Intended for Human Consumption as Amended by Regulations 1882/2003/EC and 596/2009/EC.

DO NASCIMENTO, R. F. et al. Adsorção: aspectos teoricos e aplicações ambientais. **Biblioteca de Ciências e Tecnologia**, 2014.

DUTRA, F. V. A. Materiais solventes empregados em diferentes métodos de preparo de amostras. **Monografia-Coordenadoria do Curso de Química, Universidade Federal de São João del-Rei, São João del-Rei**, 2014.

EKMAN, DR, Keun, HC, Eads, CD et al. *Metabolômica* (2006) 2: 63. <https://doi.org/10.1007/s11306-006-0020-8>

ENGLERT, B. Method 1699: Pesticides in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. **US Environmental Protection Agency (EPA)**:, p. 1- 96 2007b.

GARCIA, A. Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos. **Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA-E)**, 1999.

GIUDICE, G H. Parâmetros de uma validação analítica: uma revisão bibliográfica. **Acta de Ciências e Saúde**, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2016.

GOEL, Mukesh; DAS, Ashutosh. Uma revisão sobre o tratamento de produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs) em água e efluentes. **Manual de Gestão Ambiental de Materiais**, p. 1-12, 2018.

HENNION, M. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of chromatography A**, v. 856, n. 1-2, p. 3-54, 1999.

HERTFORDSHIRE, AERUAatUo. PPDB: Pesticide Properties DataBase. 2012.

HUO, F. et al. Utilizing a novel sorbent in the solid phase extraction for simultaneous determination of 15 pesticide residues in green tea by GC/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 1023, p. 44-54, 2016.

IBGE. Indicadores de Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: <[ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos\\_naturais/indicadores\\_desenvolvimento\\_sustentavel/2012/ids2012.pdf](ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/indicadores_desenvolvimento_sustentavel/2012/ids2012.pdf)>. Acesso em: 25 out. 2018., 2018.

INMETRO -DOQ-CGCRE-008: Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Inmetro. Rio de Janeiro, Março 2018. <[http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa\\_link.asp?seq\\_tipo\\_documento=5&cod\\_uo\\_numero=00581&num\\_documento=008](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_uo_numero=00581&num_documento=008)>

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

JAUFMANN, L. Validation of analysis results using diode array detection combined with a chromatography data system. **Analisis**, v. 26, n. 2, p. 22-24, 1998.

JUNIOR, C. A. S. et al. Extração em fase sólida de resíduos de agrotóxicos de água superficial, empregando um sorvente de menor retenção. *Quim. Nova* [online]. 2018, vol.41, n.6, pp.641-647. ISSN 0100-4042. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170223>.

KAMRIN, M. A. Triazines and triazoles. **Pesticide profiles toxicity, environmental impact, and fate**, 1997.

KEGLEY, SE, Hill, BR, Orme S., Choi AH, *Banco de Dados de Pesticidas da PAN*, Rede de Ação contra Pesticidas, América do Norte (Oakland, CA, 2016). <<http://www.pesticideinfo.org>> Acesso em: 28 nov. 2018.

KOLPIN DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, (1999–2000) a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 36(6):1202–1211

LANÇAS, F. M.; *Extração em Fase Sólida (SPE)*, RiMa: São Carlos, 2004.

LENARDÃO, E. J. et al. Green chemistry: the 12 principles of green chemistry and its insertion in the teach and research activities. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

LI, Ying; MA, Xueru; LU, Guanghua. Systematic investigation of the toxic mechanism of difenoconazole on protein by spectroscopic and molecular modeling. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 105, n. 3, p. 155-160, 2013.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LOUREIRO, L. F.; Avaliação da adsorção do pesticida 2,4-D em carvão em pó e granular por meio de análise de isotermas de adsorção utilizando diferentes qualidades de água. Tese (Mestrado) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Espírito Santo, Vitória, 2012.

LV, Tao et al. Phytoremediation of imazalil and tebuconazole by four emergente wetland plant species in hydroponic medium. **Chemosphere**, v. 148, p. 459 – 466, 2016.

MATIAS, V. A.; DA SILVA, M. Monitoramento dos agrotóxicos quinclorac e carbofuran no Rio Camboriú, município de Camboriu, Santa Catarina. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 18, n. 1, p. 30 – 45, 2016.

MENDES, M. F., FREITAS, S. S. Estudo de Materiais Vegetais como Adsorventes para a Remoção dos Agrotóxicos Trifluralina, Clorpirifós e  $\alpha$ -Endossulfam de Solução Aquosa. Cap 4, p.57-70, 2016.

MENEGOLA, E. et al. Effects of mixtures of azole fungicides in postimplantation rat whole-embryo cultures. **Archives of toxicology**, v. 87, n. 11, p. 1989-1997, 2013.

MEZZARI, I. A. Utilização de carvões adsorventes para o tratamento de efluentes contendo pesticidas. Tese (Mestrado) – Departamento de Engenharia Química e Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2018.

MURANAKA, C. T. Combinação de adsorção por carvão ativado com Processo Oxidativo Avançado (POA) para tratamento de efluentes contendo fenol. Tese (Doutorado) – Departamento de Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

NOLDIN, J. A. et al. Resíduos de agrotóxicos em bacias hidrográficas catarinenses adjacentes a áreas de produção de arroz irrigado. In: **IX Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, Pelotas, RS. Anais do IX Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado. Embrapa/Sosbai, Pelotas, RS. 2015. p. 970-973.**

OLIVEIRA, J. P. et al. Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. *Food Chemistry*, v. 221, p. 153–160, 2017.

On-line trace-enrichment liquid and gas chromatographic systems with ultraviolet diode-array and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 768, p. 239-258, 1997.

Organização Mundial da Saúde. OMS: 2,1 bilhões de pessoas não têm água potável em casa e mais do dobro não dispõem de saneamento seguro, 2017. Disponível em: <[https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5458:oms-2-1-bilhoes-de-pessoas-nao-tem-agua-potavel-em-casa-e-mais-do-dobro-nao-dispoem-de-saneamento-seguro&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5458:oms-2-1-bilhoes-de-pessoas-nao-tem-agua-potavel-em-casa-e-mais-do-dobro-nao-dispoem-de-saneamento-seguro&Itemid=839)>. Acesso em: 01 Dez. 2018

PADILHA, A. R. S. Portaria N° 2.914, De 12 De Dezembro De 2011. **Diário Oficial**, 2011.

PELLICER-CASTELL, Enric et al. Study of silica-structured materials as sorbents for organophosphorus pesticides determination in environmental water samples. **Talanta**, v. 189, p. 560-567, 2018.

POUEY, M. T. F. Beneficiamentos da cinza de casca de arroz residual com vistas à produção de cimento composto e/ou pozolânico. 2006.

PRESTES O. D, FRIGGI C.A, ADAIME M.B., ZANELLA R.. *Quim. Nova*, 32, no 6, 1620 (2009).

PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; ESCARRONE, A. L. Multi-residue analytical methods for the determination of pesticides and PPCPs in water by LC-MS/MS: a review. **Central European Journal of Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 876-899, 2012.

HÁKOVÁ, M. et al. Testing of nylon 6 nanofibers with different surface densities as sorbents for solid phase extraction and their selectivity comparison with commercial sorbent. **Talanta**, v. 181, p. 326-332, 2018.

REBOUÇAS, A., BRAGA, B., TUNDISI, J. G., **Águas Doces no Brasil – Capital Ecológico Uso e Conservação**, São Paulo, Escritura Editora e Distribuidora de Livros, 2002.

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

RODRIGUES, M. F. Nova estratégia para análise de contaminantes emergentes em águas residuais industriais por espectrometria de massas ambiente (PSI-MS). 2018. 75 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

ROJAS, R. et al. Adsorption study of low-cost and locally available organic substances and a soil to remove pesticides from aqueous solutions. *Journal of Hydrology*, n. 520, p. 461-472, 2015.

RIAL-OTERO, R. et al. Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview. **Talanta**, v. 71, n. 2, p. 503-514, 2007.

SANTE-11813. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. 2017.

SEHNEM, N. T. Avaliação da capacidade de biodegradação de tebuconazole por isolados microbianos de solos contaminados e de ambientes amazônicos. 2009.

SCAGLIONI, P. T.; BADIALE-FURLONG, E. Rice husk as an adsorbent: A new analytical approach to determine aflatoxins in milk. **Talanta**, v. 152, p. 423-431, 2016.

SCOTT, R. P. W. **Liquid Chromatography**. Chrom-Ed Book Series-library4science, LLC, 2003a. Disponível em: <<http://www.library4science.com/>>. Acesso em: 19 nov 2018.

SCOTT, R. P. W. **Liquid Chromatography**. Chrom-Ed Book Series-library4science, LLC, 2003b. Disponível em: <<http://www.library4science.com/>>. Acesso em: 19 nov 2018.

SILVA, O. F. **Estatísticas de produção do Arroz**. 2014. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fe7457q102wx5eo07qw4xezy8czjj.html>>. Acesso em: 15 out. 2018.

SOUZA, A. J. C. Desenvolvimento de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em água de cultivo de arroz irrigado. 2017. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2017.

SPADOTTO, C. A. et al. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. **Embrapa Meio Ambiente. Documentos**, 2004.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.. **Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/CONTA\\_G01\\_40\\_210200792814.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTA_G01_40_210200792814.html)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

SLOBODNÍK, J. et al. Monitoring of organic micropollutants in surface water by automated

SOSBAI. Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado (31. 2016: Bento Gonçalves, RS) Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / Sociedade Sul- Brasileira de Arroz Irrigado. - Pelotas: SOSBAI, 2016. 200 p., il.

SKOOG, D. A. et al. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

TUZIMSKI, T.; REJCZAK, T.. Application of HPLC–DAD after SPE/QuEChERS with ZrO<sub>2</sub>-based sorbent in d-SPE clean-up step for pesticide analysis in edible oils. **Food chemistry**, v. 190, p. 71-79, 2016.

TUZIMSKI, T. et al. Comparison of SPE/d-SPE and QuEChERS-Based Extraction Procedures in Terms of Fungicide Residue Analysis in Wine Samples by HPLC–DAD and LC-QqQ-MS. **Journal of AOAC International**, v. 99, n. 6, p. 1436-1443, 2016.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, 2008.

WHO. Guidelines for drinking water quality. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf)>. Acesso em: 24 set. 2018., 2017. ISSN 1413-4152.

ZHANG, Y. et al. Vortex-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of triazole fungicides in fruit juices. **Food analytical methods**, v. 9, n. 3, p. 596-604, 2016.