



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA

INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM RIOS DA
RESERVA EXTRATIVISTA ACAÚ-GOIANA

RECIFE
2020

MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA

INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM RIOS DA
RESERVA EXTRATIVISTA ACAÚ-GOIANA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof^o. Dr. Davi Pereira de Santana

Coorientador: Prof^o. Dr. Danilo César Galindo Bedor

Recife

2020

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

S586i Silva, Maria Carolina Silveira Costa
Investigação da ocorrência de resíduos de herbicidas em rios da
Reserva Extrativista Acaú-Goiana / Maria Carolina Silveira Costa
Silva. - 2020.
93 f.: il.

Orientador: Davi Pereira de Santana.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco,
Centro de Ciências da Saúde (CCS). Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas. Recife, 2020.

Inclui referências e anexos

1. Agrotóxicos. 2. Contaminação ambiental. 3. Água superficial.
4. Cana-de-açúcar. 5.UPLC-MS/MS. I. Santana, Davi Pereira de
(Orientador). II. Título.

617.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2021-20)

MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA

**INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM RIOS
DA RESERVA EXTRATIVISTA ACAÚ-GOIANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 19/02/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Danilo César Galindo Bedor (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a. Ivone Antônia de Souza (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a. Karla Patrícia de Sousa Barbosa Teixeira (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Fernando José Malagueño de Santana (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Adriano Nunes Cunha (Examinador Externo)
Instituto de Tecnologia de Pernambuco

Prof^o. Dr. Davi Pereira de Santana (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho aos meus pais, amor incondicional e eterno. À meu irmão, Arthur Costa, minha inspiração e orgulho. Ao meu companheiro Leonardo Rodrigues, meu grande incentivador e meu porto seguro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, luz, proteção e conforto constante.

Aos Professores Davi Pereira, Danilo Bedor e Leila Bastos, pelo acolhimento, pelo tempo e pelos ensinamentos que tão generosamente dividiram.

À CAPES, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE, por incentivar a pesquisa.

Aos meus colegas do NUDFAC, em especial a Wellithom, Maira, Alelia, Thalita, Juliana, Ana Rosa, Aurylanne, Asley, agradeço o apoio nos experimentos e as experiências compartilhadas, mas agradeço principalmente, a amizade que encontrei em vocês nos momentos mais difíceis.

A Henrique Marinho, por acreditar no meu trabalho e me apoiar.

A todos que fizeram parte desta história!

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e vários estudos mostraram danos à saúde e ao meio ambiente devido à exposição e a toxicidade desses agroquímicos. A cultura de cana-de-açúcar apresenta o maior consumo de herbicidas, ficando as margens de grandes bacias hidrográficas. Neste trabalho, foi investigada a ocorrência de herbicidas nas águas superficiais de três áreas de captação diferentes: Rio Tracunhaém, Três Bocas e Rio Capibaribe Mirim, todos localizados no município de Goiana, Pernambuco, em uma região que se destaca pela intensa atividade agroindustrial, pelo seu bioma marinho costeiro e por áreas destinadas à carcinicultura. Estes rios abastecem o consumo doméstico, industrial e agrícola de cerca de 26 municípios da Zona da Mata Norte de Pernambuco, que apresentam uma população de 465.549 habitantes. Foram investigados 7 herbicidas (Glifosato e o seu metabólito (Ácido Aminometilfosfônico) AMPA, Paraquate, Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom) nas águas coletadas em áreas da Resex Acaú-Goiana, utilizando-se a técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massa triploquadrupolo (UPLC-MS/MS), operando com eletronebulização em modo positivo e negativo de ionização e analisador de massa triploquadrupolo operando em monitoramento de reações múltiplas. O limite de detecção foi de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, as amostras foram analisadas por injeção direta de $5 \mu\text{L}$ sem prévio tratamento. O estudo foi realizado nos meses de março a agosto de 2019 com coletas de 1 L de amostras de água com profundidade de 30 cm no leito dos rios. Os resultados obtidos evidenciaram a presença de Ametrina variando de 10 a $60 \mu\text{g L}^{-1}$ (março-maio/2019), Tebutiurom variando de 10 a $40 \mu\text{g L}^{-1}$ (março-maio/2019), Diurom variando de 10 a $140 \mu\text{g L}^{-1}$ (março-abril/2019) e o nível de Atrazina foi de $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (abril/2019). Os resultados indicam a necessidade de realizar o monitoramento da contaminação de águas superficiais, uma vez que as práticas agrícolas atuais tem um impacto sem precedentes na qualidade da água e conseqüentemente nos ecossistemas e na saúde humana.

Palavras Chaves: Agrotóxicos. Contaminação ambiental. Água superficial. Cana-de-açúcar. UPLC-MS/MS.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest consumer of pesticides and numerous studies have reported damage to both human health and the environment due to exposure and the toxicity of these agrochemicals. Sugarcane crops present the highest herbicide consumption, leaving the margins of large watersheds. In this study, we have investigated the occurrence of herbicides in the surface waters of three different catchment areas, the rivers: Tracunhaém, Três Bocas and Capibaribe Mirim, all located in Goiana, Pernambuco, in a region outstanding for its intense agroindustrial activity, coastal marine biome and areas of shrimp farming. These rivers supply the domestic, industrial and agricultural consumption of around 26 municipalities of the North region of the Zona da Mata in the state of Pernambuco, which has a population of 465,549. Seven herbicides were investigated (Glyphosate and its metabolite (Aminomethylphosphonic Acid) AMPA, Paraquat, Ametryn, Atrazine, Diuron and Tebuthiuron) in the waters of the Goiana River using the ultra-efficient liquid chromatography technique coupled with triploquadropole mass spectrometry (UPLC-MS/MS), operating with electronebulization in positive and negative ionization mode and triploquadropole mass analyzer operating in multiple reaction monitoring. The detection limit was $10 \mu\text{g L}^{-1}$ and the quantification limit was $25 \mu\text{g L}^{-1}$, the samples were analyzed with direct injection of $5 \mu\text{L}$ without previous treatment. The study was carried out from March to August 2019 with collections of 1 L of water samples with depth of 30 cm in the riverbed. The results obtained evidenced the presence of Ametryn ranging from 10 to $60 \mu\text{g L}^{-1}$ (March-May / 2019), Tebuthiuron ranging from 10 to $40 \mu\text{g L}^{-1}$ (March-May / 2019), Diuron ranging from 10 at $140 \mu\text{g L}^{-1}$ (March-April / 2019) and the Atrazine level was $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (April / 2019). The study was conducted from March to August 2019 and detected the presence of residues from the herbicides Ametryn, Atrazine, Diuron and Tebuthiuron during March, April and May, in concentrations ranging from 10 to $150 \mu\text{g L}^{-1}$. The results indicate the need to monitor surface water contamination, as current agricultural practices have an unprecedented impact on water quality and consequently on ecosystems and human health.

Key words: Pesticides. Environmental contamination. Surface water. Sugarcane. UPLC-MS/MS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Número de agrotóxicos liberados entre 2010 e 2019.....	20
Figura 2 –	Tipos de agrotóxicos empregados em 2017 (ton).....	23
Figura 3 –	Estrutura química do Glifosato.....	25
Figura 4 –	Estrutura química do AMPA	26
Figura 5 –	Estrutura química do Paraquate	27
Figura 6 –	Modo de ação do Paraquate	28
Figura 7 –	Estrutura química da Ametrina.....	31
Figura 8 –	Estrutura química da Atrazina	32
Figura 9 –	Estrutura química do Diurom.....	34
Figura 10 –	Estrutura química do Tebutiurom.....	35
Figura 11 –	Introdução da amostra em uma fonte de ESI e formação do íon.....	46
Figura 12 –	Esquema do modo de varredura MRM.....	48
Figura 13 –	Fluxograma de preparação de amostra.....	59
Figura 14 –	Mapa dos pontos de coleta de águas superficiais do Rio Goiana, PE.....	63
Figura 15 –	Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo os analitos Glifosato e do seu metabólito AMPA.....	66
Figura 16 –	Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Ametrina.....	66
Figura 17 –	Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Atrazina.....	67
Figura 18 –	Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Diurom.....	67
Figura 19 –	Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Tebutiurom.....	68
Figura 20 –	Variação das concentrações de Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom na água do Rio Goiana, PE nos meses de março a maio de 2019.....	73

Figura 21 –	Histograma de precipitação pluviométrica de Goiana em	74
	2019.....	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Empreendimentos e suas atividades na região da Resex Acaú-Goiana	37
Tabela 2 –	Herbicidas utilizados para uso na cultura de cana-de-açúcar.....	41
Tabela 3 –	Padrão de potabilidade para agrotóxicos, segundo a portaria MS n° 2914/2011	43
Tabela 4 –	Características químicas dos padrões das substâncias químicas de referência do estudo.....	53
Tabela 5 –	Soluções de trabalho 10x concentrada.....	54
Tabela 6 –	Curva de calibração para análise.....	55
Tabela 7 –	Parâmetros da fonte de ionização sugeridos pelo fabricante.	57
Tabela 8 –	Coluna cromatográfica, característica da cromatografia e substância química.....	58
Tabela 9 –	Localização dos pontos de coleta de águas superficiais do Rio Goiana, PE	64
Tabela 10 –	Dados de aquisição usados para a análise por UPLC-MS/MS	65
Tabela 11 –	Condição de análise no modo de ionização negativo para o sistema SCIEX 3200 QTRAP®	69
Tabela 12 –	Condição de análise no modo de ionização positivo para o sistema SCIEX 3200 QTRAP®.....	69
Tabela 13 –	Condição de análise de Glifosato e seu metabólito AMPA para o sistema Nexera X2.....	70
Tabela 14 –	Condição de análise de Paraquate para o sistema Nexera X2.....	70
Tabela 15 –	Condição de análise de Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom para o sistema Nexera X2.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LMR	Limite Máximo de Resíduo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial de Saúde
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
RESEX	Reserva Extrativista
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
MMA	Ministério do Meio Ambiente
CPRH	Agência Estadual de Meio Ambiente
SINDIVEG	Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
VMP	Valor Máximo Permitido
EUA	Estados Unidos da América
HILIC	Cromatografia com Interação Hidrofílica
LC	Cromatografia Líquida
ESI	Fonte de Electrospray
UPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Ultra Performance Acoplada a Espectrometria de Massa
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa
CG-FID	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama
DLLME	Microextração Líquido Líquido Dispersiva
LLE	Extração Líquido-Líquido

SPE	Extração em Fase Sólida
QuPPE	<i>Quick Method For The Analysis Of Numerous Polar Compounds</i>
CV %	Coeficiente de Variação
DIC	<i>Collision induced dissociation</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
BPA	Boas Práticas Agrícolas
AMPA	Ácido Aminometilfosfônico
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i>
RF	Radiofrequência
m/z	<i>Mass to Charge Ratio</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
PS II	Fotossistema II
UE	União Europeia
PSA	<i>Pressure Swing Adsorption</i>
DP	<i>Declustering Potential</i>
EP	<i>Entrance Potential</i>
CE	<i>Collision Energy</i>
CXP	<i>Collision Cell Exit Potential</i>
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i>
CUR	<i>Curtain Gas</i>
GAS 1	<i>Ion Source Gas 1</i>
GAS 2	<i>Ion Source Gas 2</i>
TEM	<i>Temperature</i>
CAD	Collision Gas
IS	<i>IonSpray Voltage</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
S/N	Sinal/Ruído

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	JUSTIFICATIVA.....	18
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
4.1	AGROTÓXICOS.....	19
4.2	HERBICIDAS.....	22
4.2.1	Glifosato e seu metabólito AMPA.....	24
4.2.2	Paraquate.....	27
4.2.3	Ametrina.....	30
4.2.4	Atrazina.....	32
4.2.5	Diurom.....	33
4.2.6	Tebutiurum.....	35
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA RESEX ACAÚ-GOIANA.....	36
4.4	CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	39
4.5	CULTIVO DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	40
4.6	RISCOS A SAÚDE HUMANA.....	41
4.7	VALORES MÁXIMOS PERMITIDOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	42
4.8	TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	43
4.8.1	Cromatografia em fase líquida.....	44
4.8.2	Espectrometria de massas.....	45
4.8.2.1	Determinação de compostos do estudo por UPLC-MS/MS.....	48
4.9	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	49
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
5.1	SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E REAGENTES.....	53
5.2	SOLUÇÕES PADRÃO.....	53
5.2.1	Soluções das curvas de calibração.....	54
5.3	EQUIPAMENTOS.....	55

5.4	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA.....	55
5.5	MÉTODO DE ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	57
5.6	EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA.....	59
5.7	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	60
5.7.1	Seletividade/especificidade.....	60
5.7.2	Efeito Matriz.....	60
5.7.3	Linearidade.....	61
5.7.4	Limite de detecção e Limite de quantificação.....	61
5.7.5	Exatidão (Recuperação).....	62
5.7.6	Precisão.....	62
5.7.7	Repetitividade.....	62
5.7.8	Reprodutibilidade.....	62
5.8	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	63
6	RESULTADOS.....	65
6.1	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	65
6.1.1	Parâmetros de análise do sistema de espectrometria de massas.....	68
6.1.2	Parâmetros de análise do sistema de cromatografia UPLC-MS/MS.....	69
6.2	VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE.....	71
6.3	DETERMINAÇÃO DE HERBICIDAS EM ÁGUA.....	72
7	CONCLUSÃO.....	77
7.1	PERSPECTIVAS.....	77
	REFERÊNCIAS.....	78
	ANEXO A - AUTORIZAÇÃO PARA A REALIZAÇÃO DE ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA – SISBIO (ICMBIO MMA) N° 69273-1.....	90
	ANEXO B - DECISÃO EDITORIAL DO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA EDIÇÃO DA REVISTA IBEROAMERICANA DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS.....	93

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Isso ocorre devido à extensa área de plantio no país e ao aumento na produção de alimentos. Para manter tal produção, este setor utiliza demasiadamente insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos (PIGNATI et al., 2017).

No entanto, o uso de agrotóxicos é um dos principais problemas ambientais brasileiros, pelo seu forte impacto, que é cada vez mais entendido como uma questão essencial, não apenas para políticas governamentais na área do meio ambiente, como também na área de saúde pública (ASSIS et al., 2006).

Os herbicidas pertencem a classe dos agrotóxicos mais consumidos mundialmente, sendo o glifosato o principal deles. Em 2017, cerca de 173 mil toneladas de produtos com glifosato foram comercializados no Brasil (ANVISA, 2019).

De acordo com Pignati et al. (2017), existe a utilização do glifosato na cultura da cana-de-açúcar. Sendo que esta atividade corresponde a 38% de área plantada no estado de Pernambuco, consolidando-se como uma cultura com alta aplicação de herbicidas, aumentando a contaminação das águas superficiais e subterrâneas.

Os herbicidas podem ser dispersos no meio ambiente devido ao escoamento superficial causado pela ação da chuva, uma vez que, inibem a fotossíntese nos ecossistemas marinhos, acarretando diversos efeitos ecotoxicológicos (MASTERS et al., 2013).

Outra importante fonte de poluição é a retirada da mata ciliar e o manejo impróprio do solo, intensificando o transporte de agrotóxicos do solo para os corpos aquáticos. Dessa forma, faz-se necessário estudos sobre o comportamento desses herbicidas no meio ambiente, das alterações que causam nos ecossistemas, além dos agravos à saúde pública (DELLAMATRICE; MONTEIRO, 2014).

O município de Goiana sedia indústrias de grande porte como hemoderivados, automotiva, pólo vidreiro, cimenteiro, carcinicultura e é uma região que predomina a cultura de cana-de-açúcar (ARAÚJO; NASCIMENTO; OLIVEIRA, 2016). Além disso, faz parte da Reserva Extrativista (Resex) Acaú-Goiana, área sob proteção do órgão ambiental Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/IBAMA) (MMA, CPRH, 2018).

Os recursos hídricos encontram-se em um cenário de impactos negativos decorrentes da usina sucroalcooleira, que domina a região, e também pelas indústrias em seu entorno (ARAÚJO; NASCIMENTO; OLIVEIRA, 2016).

Dentre as técnicas empregadas para realizar o monitoramento, destaca-se a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas, por apresentar alta seletividade e detectabilidade, garantindo a confiabilidade dos resultados analíticos.

Considerando a importância da Resex Acaú-Goiana para a população local e para o meio ambiente, faz-se necessário o monitoramento de herbicidas nas águas dos rios, gerando dados confiáveis para que os órgãos competentes possam avaliar os riscos ao meio ambiente e à saúde humana. Dessa forma, este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de herbicidas em águas superficiais do Rio Goiana, provenientes do cultivo da cana-de-açúcar na Resex.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a ocorrência de herbicidas em águas superficiais de três áreas de captação diferentes: Rio Tracunhaém, Três Bocas e Rio Capibaribe Mirim na Resex Acaú-Goiana, provenientes do cultivo da cana-de-açúcar, utilizando técnicas analíticas de alta precisão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Desenvolver e validar um método analítico para determinação dos herbicidas: Glifosato e o seu metabólito (Ácido Aminometilfosfônico) AMPA, Paraquate, Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom em água;

Identificar os níveis de herbicidas em água proveniente de três áreas de captação diferentes: Rio Tracunhaém, Três Bocas e Rio Capibaribe Mirim;

Realizar avaliação mensal da água do sistema Acaú-Goiana, quanto a presença de herbicidas;

Avaliar a necessidade de monitoramento da contaminação de águas superficiais.

3 JUSTIFICATIVA

Os recursos hídricos do Nordeste brasileiro vêm sofrendo inúmeros impactos, sendo os resíduos industriais e os agrotóxicos os principais fatores que contribuem para a contaminação do meio ambiente.

Os impactos ambientais referente aos contaminantes, tais como lixos, efluentes agrícolas, uso intensivo do solo, desmatamento, vêm afetando de forma negativa o uso e a qualidade da água para o consumo humano.

A contaminação por agrotóxicos em água ocorre de forma que esses compostos químicos, em época de chuva, penetram no solo e alcançam os lençóis freáticos e leitos de rios e, conseqüentemente, afetam a vida animal e o meio ambiente.

Sendo assim, o Brasil necessita de monitoramento de agrotóxicos nas águas dos rios, demandando de estudos, avaliações e análises tornando possível o monitoramento e a fiscalização da qualidade das águas por órgão competentes e avaliando o impacto que isso pode causar ao meio ambiente.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 AGROTÓXICOS

Na agricultura, os defensivos agrícolas, também conhecidos como agroquímicos, agrotóxicos, pesticidas, praguicidas ou produtos fitossanitários, são substâncias químicas ou biológicas que estão entre os produtos usados na lavouras. Eles existem para proteger as lavouras do ataque e da proliferação de fungos, bactérias, parasitas, plantas daninhas e insetos considerados pragas ou causadoras de doenças, garantindo o alimento saudável à mesa da população e tornando a produção agrícola cada vez mais dependente (SINDIVEG, 2017).

A Lei 7802 de 11 de julho de 1989, conhecida como Lei de Agrotóxicos e o decreto que a regulamenta (BRASIL, 2002) define que essas substâncias são:

Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.

O aumento do uso de agrotóxicos no Brasil teve início em 1950 com a “Revolução Verde” que tinha como interesse aumentar a produção agrícola dos países menos desenvolvidos utilizando tecnologias para o melhoramento genético, o uso extensivo de produtos químicos e a automação na agricultura por meio de maquinário (MOREIRA et al., 2002).

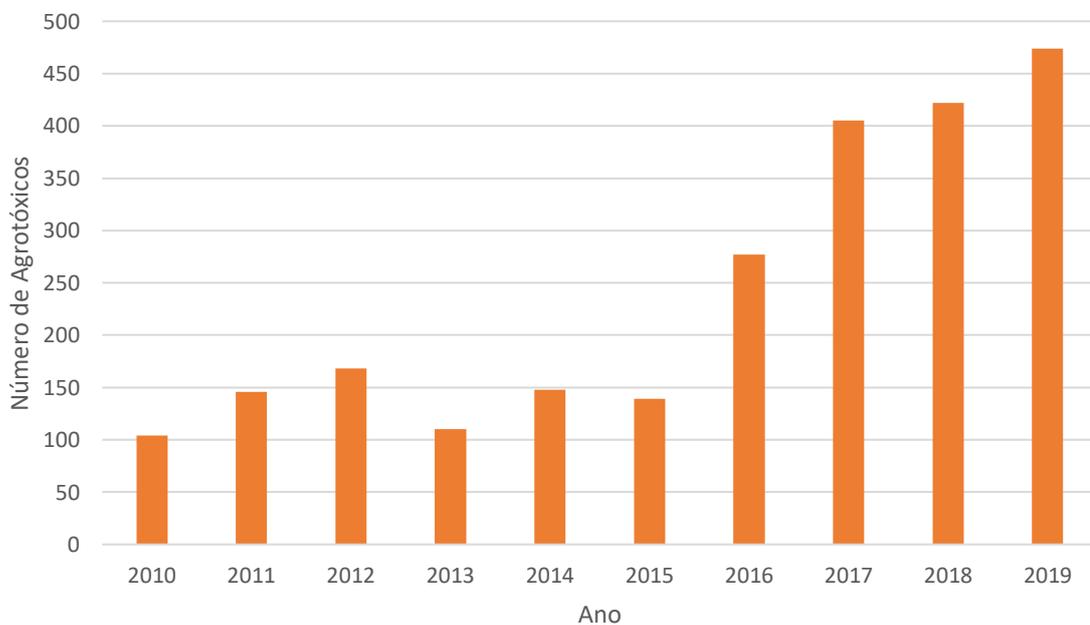
O Brasil consome cerca de 20 % de todo agrotóxico comercializado mundialmente (PEALEZ et al., 2015). E podemos destacar que este consumo tem aumentado de forma significativa nos últimos anos. A soja, ocupa o primeiro lugar como destino do total das vendas de agrotóxicos no país com 52,2 %, a cana-de-açúcar ocupa o segundo lugar com 11,7 % e em terceiro lugar, o milho com 10,6 % no total (SINDIVEG, 2017).

Os estados brasileiros que apresentam maior consumo de agrotóxicos estão em regiões com elevada intensidade de monoculturas. Nesse cenário, o Mato Grosso,

o Paraná e o Rio Grande do Sul destacam-se como sendo os principais consumidores de agrotóxicos do país. No ano de 2015, os três cultivos que mais consumiram agrotóxicos foram a soja, o milho e a cana-de-açúcar, representando 76 % de toda a área plantada do Brasil. (PIGNATI et al., 2017).

É alarmante o crescimento acelerado de substâncias químicas no campo. Foram registrados em 2019 cerca de 474 defensivos agrícolas, acima dos 422 de 2018, sendo o maior desde 2010. O crescimento foi de 356 % entre 2010 e 2019 como mostra a figura 1. Destes, 448 defensivos agrícolas registrados (94,5 %) são substâncias químicas que já estavam presentes em outros produtos existentes no mercado (MAPA, 2019).

Figura 1 – Número de agrotóxicos liberados entre 2010 e 2019



Fonte: Greenpeace com informações do Diário Oficial da União (MAPA, 2019).

O crescimento da população mundial, industrial e a alta demanda por alimentos, assim como o aumento na utilização dos defensivos agrícolas e da pecuária, têm sido fatores determinantes para contribuir com a aplicação de agrotóxicos durante o cultivo, transporte e armazenamento de produtos agrícolas e vêm causando danos ao meio ambiente, principalmente aos recursos hídricos. O principal fator para a contaminação por agrotóxicos, se dá pela utilização incorreta dos agrotóxicos ou uso indevido em culturas para quais não são permitidos. Assim como as atividades antrópicas em uma bacia hidrográfica, que vêm promovendo contaminação e alteração na qualidade e quantidade nos recursos hídricos disponíveis, causando o empobrecimento dos ecossistemas (BUCCI, 2015; LAWAL et al., 2018).

Segundo a Organização Mundial de Saúde - WHO (2017), a influência do uso da terra na qualidade da água está relacionada com o desenvolvimento da agricultura no país, estimulando o aumento da área cultivada e da produtividade. Algumas práticas de cultivo do solo agrícola podem causar contaminação difusa nos recursos hídricos, sobretudo por fertilizantes, corretivos e agrotóxicos (FOSTER et al., 2002).

Um dado preocupante é que no Brasil 504 agrotóxicos têm registro autorizado, ou seja, de uso permitido, sendo que 149 são proibidos na União Européia. Portanto, 30 % de todos os agrotóxicos utilizados no Brasil são proibidos na União Européia. Ressalta-se ainda, que dentre os dez agrotóxicos mais vendidos no Brasil, dois são proibidos na União Européia (AGROFIT, 2017; ANVISA, 2017; GONÇALVES, 2016).

Nesse sentido, podemos observar que a Legislação Brasileira tem princípios bem diferentes quando comparada com a Legislação da União Européia, que leva em consideração ao registro e a revalidação dos agrotóxicos, além dos efeitos carcinogênicos e mutagênicos que essas substâncias podem causar a saúde humana (BOMBARDI, 2017).

Dessa forma, agências reguladoras do Governo Federal vêm discutindo a importância do aumento da produtividade na agricultura, como também em desenvolver práticas de responsabilidade ambiental, visando preservar de forma sustentável áreas da agricultura, aquicultura e florestas plantadas, bem como a redução do uso de agroquímicos para não afetar a biodiversidade (FAO, 2018).

No Brasil existem dois importantes programas de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Um deles é o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA) feito pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e

criado em 2001. O outro é realizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) desde 2006: o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal). Tanto o PARA quanto o PNCRC aferem o cumprimento das boas práticas de aplicação de defensivos agrícolas no campo (SINDIVEG, 2017).

A metodologia adotada pelos dois programas segue o Codex Alimentarius, que é programa conjunto da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) para estabelecer normas internacionais na área de alimentos, incluindo padrões, diretrizes e guias sobre Boas Práticas e de Avaliação de Segurança e Eficácia (SINDIVEG, 2017).

Os programas visam adequar os processos produtivos para a obtenção de produtos de origem vegetal de qualidade e com níveis de resíduos de agrotóxicos e contaminantes em conformidade com o que estabelece a legislação sanitária, mediante a aplicação de Boas Práticas Agrícolas (BPA), contribuindo com o uso de recursos naturais e a substituição de insumos poluentes, garantindo com isso a sustentabilidade e rastreabilidade da produção agrícola. Seus principais objetivos são proteger a saúde dos consumidores e garantir práticas legais de comércio entre os países (MAPA, 2017).

Nesse sentido, é fundamental desenvolver uma agricultura sustentável, contribuindo com ações no sentido de reduzir o uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos, além de implementar ações que promovam a prevenção e possam minimizar os agravos à saúde e os danos ambientais.

4.2 HERBICIDAS

Os herbicidas são produtos fitossanitários utilizados para prevenir o aparecimento, reduzir ou eliminar as plantas daninhas, sejam essas aquáticas ou terrestres (SANTOS et al., 2013).

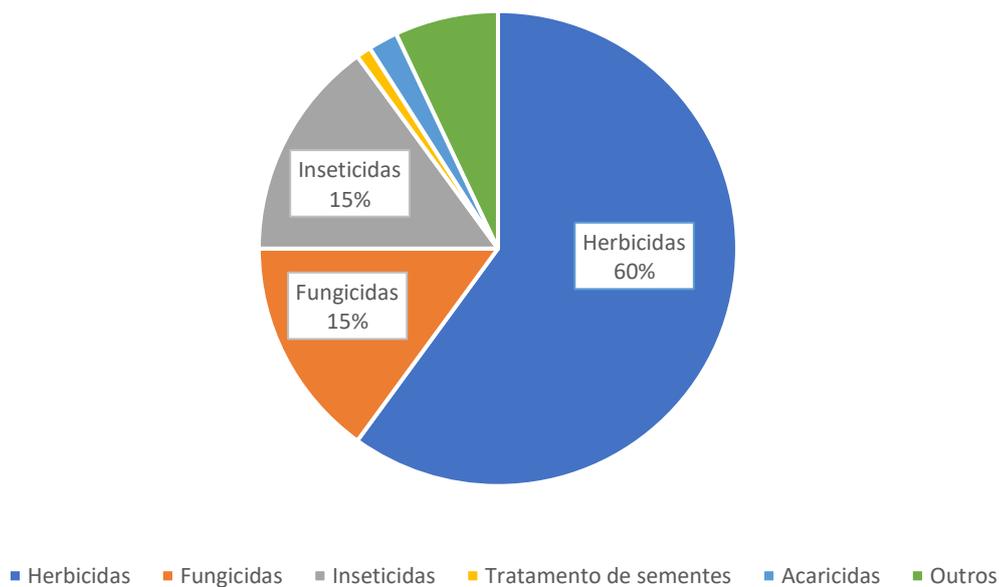
As plantas daninhas surgiram com a agricultura através de um processo em evolução e ao longo dos anos adquiriram alterações nas características biológicas, principalmente com alta capacidade competitiva por água, luz e nutrientes (GALLI e MONTEZUMA, 2005).

O controle das plantas daninhas torna-se importante em função dos prejuízos que causam e conforme a demanda crescente de alimentos, fibras e energia por parte

da população (AMARANTE JUNIOR et al., 2002). Em relação aos métodos de controle, o uso de herbicidas apresenta inúmeras vantagens devido ao seu modo de ação (SANTOS et al., 2013).

Os herbicidas representam 60% do total de agrotóxicos comercializados, os fungicidas e inseticidas correspondem cada um a 15 % e as demais classes de agrotóxicos a 10 %, conforme apresentado na figura 2 (SINDIVEG, 2017).

Figura 2 – Tipos de agrotóxicos empregados em 2017 (ton)



Fonte: Sindiveg, 2017.

O principal agrotóxico comercializado no Brasil é o herbicida Glifosato, devido a grande expansão dos cultivos de sementes transgênicas, sendo 96,5 % da produção de soja, 88,4 % da produção de milho e 78,4 % da produção de algodão. Sua venda supera a soma dos demais ingredientes ativos (IBAMA, 2016).

Os agrotóxicos podem contaminar os alimentos, a água e o solo e por isso, devem ser constantemente pesquisados nessas matrizes. Para o presente trabalho foram realizadas determinações em águas superficiais na RESEX Acaú-Goiana dos herbicidas Glifosato e do seu metabólito AMPA, Ametrina, Atrazina, Diurom, Tebutiurrom e Paraquate.

4.2.1 Glifosato e seu metabólito AMPA

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados na agricultura e isso se deve à sua elevada eficiência no controle de plantas invasoras. Pertencente ao grupo químico das glicinas e possui atividade limitada no solo. Devido à sua adsorção rápida e quase completa, ele é classificado como não seletivo, sistêmico, pós-emergente, altamente polar e de amplo espectro, sendo seu metabólito o ácido aminometilfosfônico (AMPA) (POIGER et al., 2016).

O glifosato foi descoberto e patenteado em 1971 pela *Monsanto Chemical Co.* e foi lançado no mercado com o nome comercial de Roundup® (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

Embora seja amplamente utilizado na agricultura, o glifosato também pode ser utilizado no controle de plantas daninhas aquáticas emergentes e águas superficiais ou margens de corpos d'água (SOLOMON & THOMPSON, 2003).

O modo de emprego dos herbicidas na agricultura deve seguir as normas da ANVISA (2017), onde definem-se critérios como modo de aplicação, os limites máximos de resíduos (LMR) e intervalos de segurança para cada cultura, podendo esse intervalo chegar a 30 dias para algumas culturas. A importância de uma correta aplicação para o desenvolvimento e produção dessas culturas se dá por esse herbicida ter ação não-seletiva, com uma elevada eficiência. Quando aplicado incorretamente, pode ocasionar fitotoxicidade ou morte das plantas de interesse econômico (GALLI e MONTEZUMA, 2005).

As principais aplicações desse herbicida são em pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de algodão, ameixa, arroz, banana, cacau, café, cana-de-açúcar, citros, coco, feijão, fumo, maçã, mamão, milho, nectarina, pastagem, pêra, pêssego, seringueira, soja, trigo e uva. Emprega-se também como dessecante nas culturas de aveia preta, azevém e soja (MATOS, 2014).

A modalidade de aplicação aérea é uma das tecnologias indicadas por ser um meio eficiente e seguro para os trabalhadores na agricultura e para o meio ambiente, desde que os protocolos e as recomendações técnicas sejam cumpridas. As culturas que normalmente demandam aplicação aérea de defensivos são: algodão (36 %), arroz (33 %), soja (27 %) e cana-de-açúcar (25 %) (SINDAG, 2012).

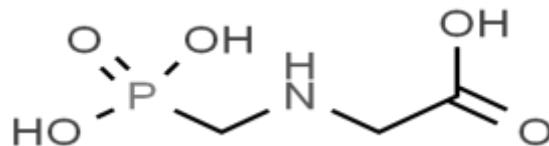
Segundo, Pignati et al. (2017) foram pulverizados cerca de 1,05 bilhões de litros de herbicidas, inseticidas e fungicidas nas lavouras brasileiras, e essas

aplicações tendem a se deslocar principalmente para as águas superficiais, subterrâneas e também para a atmosfera.

A aplicação do glifosato no cultivo da cana-de-açúcar, as margens dos rios Capibaribe Mirim e Tracunhaém pode gerar riscos ao meio ambiente, contaminando o solo e as zonas aquíferas e principalmente a saúde dos trabalhadores agrícolas e moradores do entorno (CARNEIRO, et al., 2015), sendo necessário esforços na avaliação dos perigos que essa prática representa.

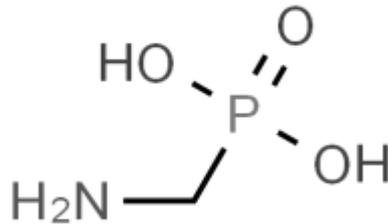
As figuras 3 e 4 apresentam as estruturas do glifosato e seu metabólito o ácido aminometilfosfônico (AMPA). Ambos são substâncias hidrofílicas altamente solúveis em água e insolúvel em solventes orgânicos. O glifosato é estável na presença de luz, mesmo quando submetido a temperaturas acima de 60 °C (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

Figura 3 – Estrutura química do Glifosato



Fonte: Chemsyder (2017).

Figura 4 – Estrutura química do AMPA



Fonte: Chemspyder (2017).

O glifosato e os ingredientes surfactantes ativos, quando adicionados em sua formulação, apresentam uma maior toxicidade, causando irritações nos olhos, sistema respiratório e pele. O glifosato é considerado de baixa toxicidade aguda com LD_{50} 4,23 $mg.kg^{-1}$ de massa corpórea para ratos. (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

O AMPA apresenta também baixa toxicidade aguda, com LD_{50} 8,3 $mg.kg^{-1}$ de massa corpórea para ratos, e é pouco irritante para os olhos, contudo estudos indicam que podem causar problemas toxicológicos em mamíferos (TEÓFILO et al., 2003). Estes autores, citam em seu trabalho que a toxicidade do glifosato e do seu metabólito AMPA, que embora seja considerada relativamente baixa, pode causar mal formação congênita em determinadas espécies de animais, se administrado em doses elevadas e por um período prolongado.

Em seres humanos, estudos crônicos de alimentação não mostraram perda de peso, efeitos ao sangue e pâncreas ou, ainda, evidência de carcinogenicidade. No entanto, estudos feitos em ratos demonstraram perda de peso, descarga nasal e morte de matrizes grávidas, além de desordens digestivas (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

Em plantas, o glifosato apresenta grande toxicidade, exceto em caules suberizados (aparência de cortiça, típico da vegetação do cerrado). Os efeitos agudo e crônico em seres humanos, são: dermatite de contato e síndrome tóxica após a ingestão de doses elevadas. Em mamíferos e pássaros a toxicidade é relativamente

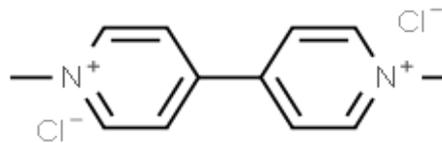
baixa, no entanto, conduz à destruição de ambientes naturais e de fontes de alimento de alguns pássaros e anfíbios, levando à redução das populações. Em ambientes aquáticos, a toxicidade do glifosato é acentuada com o aumento da temperatura e do pH (AMARANTE JUNIOR et al., 2002).

Desses agrotóxicos, os herbicidas formulados a base de glifosato têm ganhado expressão e importância em virtude do crescimento das áreas semeadas com culturas geneticamente modificadas e também por se tratar de um herbicida sistêmico com amplo espectro de ação (MORAES, 2010).

4.2.2 Paraquate

O paraquate é um herbicida do grupo bipiridílos e consiste em um sal solúvel em água que ao entrar em contato desseca todo o tecido verde, bastante utilizado na agricultura, não é volátil, explosivo ou inflamável em solução aquosa. (PERON et al., 2003). Geralmente é comercializado como Gramaxone®. Os seus sais são eletrólitos fortes que, em solução, dissociam-se em uma grande quantidade de íons positivos e negativos (SERRA et al., 2003). A figura 5 representa a estrutura química do paraquate.

Figura 5 – Estrutura química do Paraquate

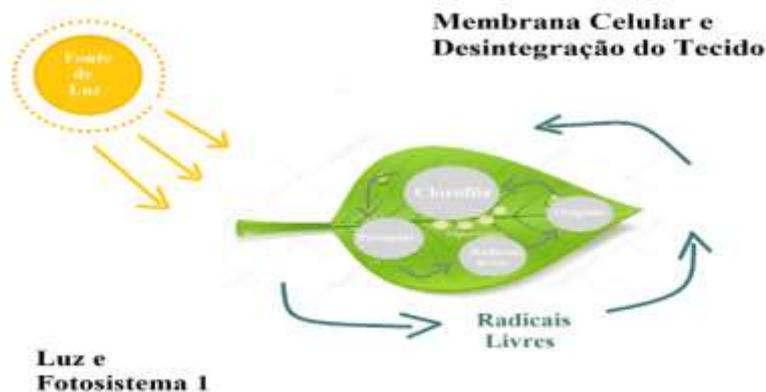


Fonte: Chemspyder (2017).

Sua nomenclatura química é 1,1-dimetil 4,4-bipiridilo-dicloreto e sua atividade está relacionada com a formação de radicais superóxidos (O_2), cuja detoxificação pela enzima superóxido dismutase, resulta na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que peroxida lipídios e danifica membranas dos cloroplastos e das células (VIDAL, 1997).

O local de ação do paraquate é o cloroplasto, contendo os sistemas fotossintéticos das plantas que absorvem a energia luminosa usada para produzir açúcares. É conhecido por agir no sistema da membrana fotossintética, chamado fotossistema I. Os elétrons livres do fotossistema I reagem com o íon do paraquate resultando na forma de radical livre. Ocorre a formação de radicais superóxidos pela reação do herbicida com os elétrons livres desse sistema. Por ser altamente reativo o superóxido ataca o ácido graxo insaturado da membrana, esse processo se recicla produzindo maiores quantidades de radicais superóxidos, até que não existam mais radicais livres, como mostra a figura 6 (MARTINS, 2013).

Figura 6 - Modo de ação do Paraquate



Fonte: Adaptado de AG (2017).

É usado para controlar ervas daninhas antes e depois do plantio das culturas de: algodão, arroz, café, cana-de-açúcar, milho e soja (ANVSA, 2018).

O paraquate é um herbicida de contato não seletivo utilizado em mais de 120 países, incluindo o Brasil e em regiões de desenvolvimento agrícola, com plantações elevadas, é a principal fonte de poluição dos recursos hídricos e do solo (SRINIVASAN, 2004; SOROLLA et al., 2012).

Em um estudo em laboratório foi determinada a vida média do paraquate, que é de aproximadamente 16 meses; já em estudo de campo foi determinado que a vida média é de 13 anos. A degradação pode ocorrer pela luz ultravioleta, luz solar e microorganismos da terra, gerando produtos menos tóxicos da mesma família química, podendo essa degradação ao longo dos anos ser lenta. Os seus resíduos são facilmente eliminados da água por adsorção (EISLER, 2000; HAMADI, 2004).

Sua classificação toxicológica é de tipo I (Altamente Tóxico) e seu potencial de periculosidade ambiental é do tipo II (Muito Perigoso) (ANVISA, 2017). Seu tempo de vida média é de 100 dias. É altamente solúvel em água, sendo, portanto, um potencial poluente das águas subterrâneas (KOPYTKO et. al. 2002).

A aplicação do paraquate é realizada na pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de algodão, arroz, banana, batata, café, cana-de-açúcar, citros, couve, feijão, maçã, milho, soja, trigo e seu uso é proibido nas culturas de abacate, abacaxi, aspargo, beterraba, cacau, coco, couve, pera, pêssigo, seringueira, sorgo e uva (ANVISA, 2017).

Estudo revelou que, quando resíduos de paraquate entram em contato com o solo, seu ingrediente ativo é rapidamente absorvido e se liga fortemente à terra e à matéria orgânica do solo se tornando biologicamente inerte, e não podendo ser absorvido pelas raízes de plantas ou outros organismos. O paraquate não pode ser liberado do solo e nem reativado pela aplicação de água ou de outros agroquímicos (MARTINS, 2013).

As plantas daninhas precisam ser controladas em vez de eliminadas, permitindo, assim, que a vegetação se restabeleça, protegendo o solo e proporcionando habitats para fomentar a biodiversidade. Como o paraquate não é sistêmico, ao entrar em contato com o solo ele é desativado, protegendo as raízes e os pontos de crescimento (MARTINS, 2013).

O paraquate apresenta alta toxicidade, contribuindo para a morte dos neurônios por meio da indução do estresse oxidativo, podendo causar intoxicações por ingestão, inalação ou contato dérmico, sendo a mais frequente a intoxicação oral, que é fatal em humanos e animais (SOUZA; MACHADO, 2003). A exposição sistemática de roedores ao herbicida em estudo reproduz segundo Manning-Bog et al., (2002) características patológicas da doença de Parkinson. Como consequência a neurodegeneração gera disfunções motoras como tremores de repouso e instabilidade postural.

O paraquate é um agente neurotóxico muito empregado, com ação contribuinte ao Mal de Parkinson e, a exposição experimental ao agrotóxico, demonstra ser capaz de induzir a perda significativa de neurônios dopaminérgicos do Sistema Nervoso Central (SAUR et al., 2009).

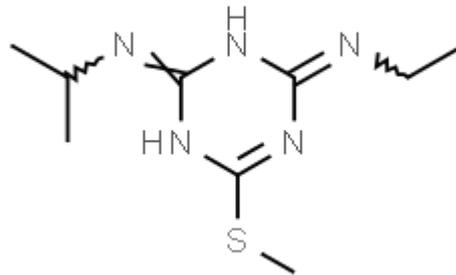
No ser humano, ocorre o acúmulo de radicais livres, especialmente nos pulmões, causando lesões e, eventualmente, fibrose pulmonar irreversível e ferimentos de órgãos vitais. A morte ocorre dentro de poucos dias e é geralmente uma consequência da falha múltipla dos órgãos, quando uma quantidade letal desse herbicida é ingerida (TSAO et al., 2016).

No passado, o paraquate foi usado em muitos países da União Europeia (UE) como um herbicida não-seletivo de ação rápida. A autorização de uso no âmbito da UE, aprovada em 2003 foi anulada em 2007 pelo Tribunal Europeu de Primeira Instância, na sequência de um processo judicial iniciado pelas autoridades suecas (UE, 2003; 2007). No Brasil, este ingrediente ativo será proibido a partir de 22 de setembro de 2020, em decorrência de reavaliação toxicológica realizada pela ANVISA, conforme RDC nº 177, de 21 de setembro de 2017.

4.2.3 Ametrina

A ametrina é classificado pela ANVISA como classe III de toxicidade, na qual se enquadram compostos moderadamente tóxicos. É um herbicida seletivo recomendado para o controle de plantas infestantes de folhas estreitas e largas. É do grupo químico das triazinas e é aplicado em pré e pós-emergência para as culturas de cana-de-açúcar, abacaxi, algodão, banana, café, citrus, mandioca, milho e uva (ANVISA, 2018). A figura 7 representa a estrutura química da ametrina.

Figura 7 – Estrutura química da Ametrina



Fonte: Chemspyder (2017).

É aplicado na forma de pulverização, com auxílio de pulverizadores terrestres (costais, tratorizados). No solo, é aplicado e absorvido via raiz pelas plântulas após a germinação e se transloca até as folhas, onde atua inibindo a fotossíntese e outros processos enzimáticos que se manifesta até a morte da planta. Na cana-de-açúcar é recomendado a aplicação logo após o plantio e após o corte. Sua toxicidade aguda pode causar diarreia e sonolência (MAPA, 2019).

Seu uso na agricultura de cana-de-açúcar, somado as suas propriedades físico-químicas como o tempo de meia vida, o coeficiente de adsorção e o potencial de lixiviação, torna a ametrina um herbicida vulnerável a contaminação do solo, das águas superficiais e subterrâneas (PESTICIDEINFO, 2008).

Segundo estudo realizado por Jacomini et al. (2010), as amostras coletadas por meio de drenagem superficial pela chuva, em três rios das áreas mais importantes da agricultura de cana-de-açúcar no estado de São Paulo no período de seca, não se tornou um fator limitante para encontrar resíduos de ametrina em água.

A avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais por meio do transporte do herbicida ametrina associado ao sedimento, revelou uma tendência de provável lixiviação (ISMAEL; ROCHA, 2019).

causar irritação na pele, falta de ar, espasmos musculares, além de problemas genéticos (USEPA, 2018).

Segundo Dias et al. (2018), a atrazina apresenta elevada probabilidade de contaminar águas subterrâneas, por ser fracamente adsorvida no solo, sendo facilmente lixiviada pelo escoamento superficial, atingindo os corpos d'água. É um herbicida pouco tóxico, com baixo fator de bioacumulação em peixes e com risco ambiental moderado, o que justifica a preocupação quanto a sua toxicidade crônica e bioacumulação (CARMO, 2013). Dessa forma, é importante realizar avaliações do risco de contaminação da água destinada ao consumo humano, devido à vasta utilização da atrazina.

A ocorrência da atrazina em águas superficiais e subterrâneas no Brasil, são maiores nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Devido a sua comercialização no Nordeste foi observada sua ocorrência em águas subterrâneas acima dos valores máximos permitidos (VMP) (BARRETO, 2006; DIAS, 2018).

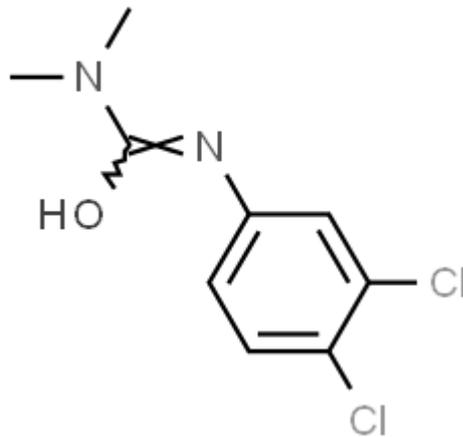
Segundo o estudo realizado por Santos (2013), a atrazina apresenta valores abaixo do VMP para as análises em águas superficiais. Em águas subterrâneas podemos encontrar valores acima do VMP. Esses dados corroboram a estimativa do elevado potencial de contaminação de águas subterrâneas com atrazina. O estudo evidencia que as águas superficiais e subterrâneas são passíveis de serem contaminadas (DIAS, 2018).

A atrazina atua na inibição da fotossíntese, em particular no fotossistema II (FSII), bloqueando o transporte de elétrons. O herbicida é absorvido pelas plantas por meio das raízes (após a germinação), depois é transportado via xilema até as folhas, onde provoca a inibição da fotossíntese, com sintomas que se manifestam por clorose (esmaecimento do verde em órgãos clorofilados, decorrente da falta de clorofila) e necrose (FERREIRA, 2007).

4.2.5 Diurom

O diurom é classificado pela ANVISA como classe III de toxicidade. É um herbicida seletivo, do grupo químico uréia e é aplicado em pré e pós-emergência para as culturas de cana-de-açúcar, abacaxi, alfafa, algodão, banana, cacau, café, citrus, eucalipto, seringueira, soja e uva (ANVISA, 2019). A figura 9 representa a estrutura química do diurom.

Figura 9 – Estrutura química do Diurom



Fonte: Chemsyder (2017).

O diurom é um herbicida que apresenta amplo espectro de ação na forma de jato dirigido. Ele possui persistência média no ambiente e é muito adsorvido pelos colóides orgânicos e minerais do solo. Quando aplicado em pré-emergência, sobretudo em solos de textura arenosa pode provocar a má formação das raízes primárias e secundárias (CULLINGTON; WALKER, 1999; PEÑAHERRERA-COLINA et al., 2005).

A persistência de um composto no ambiente é normalmente medida pela meia-vida, definida como o tempo necessário para que ocorra a dissipação de 50 % da quantidade inicial do herbicida aplicado (SILVA et al., 2007). O tempo de meia-vida na água para o diurom é alto, justificando com isso o tempo de permanência e o provável risco de contaminação dos lençóis freáticos subterrâneos, também apresenta tendência para lixiviação e uma maior capacidade de mobilidade quando disperso em água (BRITTO, 2012).

A avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais por meio do transporte do herbicida diurom associado ao sedimento, revelou uma tendência de provável lixiviação (ISMAEL; ROCHA, 2019).

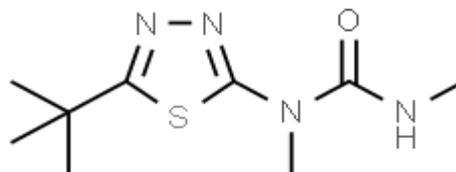
É preocupante encontrar resíduos de diurom, devido ao seu efeito crônico (ao longo do tempo) da contaminação, mesmo sob baixas concentrações (sub-letais), podendo originar alterações imperceptíveis em longo prazo, com a diminuição do potencial biológico, uma vez que a exposição a esse herbicida pode diminuir o

processo reprodutivo e promover o aparecimento de doenças de espécies tanto animais quanto vegetais (CALHEIROS et al., 2006).

4.2.6 Tebutiurom

O tebutiurom é classificado pela ANVISA como classe II de toxicidade, na qual se enquadram compostos pouco tóxicos, seletivo e sistêmico. É do grupo químico uréia e é recomendado para o controle de plantas daninhas aplicado em pré-emergência na cultura da cana-de-açúcar (ANVISA, 2012). Seus efeitos agudos e crônicos em animais de laboratório, mostrou-se levemente irritante aos olhos e não causou irritação na pele. A figura 10 representa a estrutura química do tebutiurom.

Figura 10 – Estrutura química do Tebutiurom



Fonte: Chemsyder (2017).

O herbicida tebutiurom permanece na superfície do solo, aguardando a ocorrência de chuvas para começar a atuar no controle das plantas daninhas. Uma única aplicação é suficiente para manter a cana-de-açúcar limpa de plantas infestantes até a próxima colheita. É um produto perigoso e altamente móvel ao meio ambiente, apresentando alto potencial de deslocamento no solo, podendo atingir águas subterrâneas. É altamente persistente no meio ambiente e é tóxico para algas (MAPA, 2019).

Segundo Franconere (2010), na produção de cana-de-açúcar em 2009, cerca de 46 % da produção foi tratada com o herbicida tebutiurom que atua na inibição do fotossistema II (PSII).

A avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais, por meio do transporte do herbicida tebutiuram associado ao sedimento, revelou uma tendência maior a lixiviação (ISMAEL; ROCHA, 2019).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA RESEX ACAÚ-GOIANA

A bacia hidrográfica do Rio Goiana abastece 26 municípios da Zona da Mata Norte de Pernambuco e localiza-se na divisa dos estados Pernambuco e Paraíba, nos municípios de Pitimbu (PB), Caaporã (PB) e Goiana (PE), além de fazer parte da Reserva Extrativista (Resex) Acaú-Goiana, área sob proteção do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/IBAMA) (MMA, CPRH, 2018).

A área da Resex Acaú-Goiana é caracterizada como um bioma marinho costeiro, envolvendo a área estuarina dos rios Goiana e Megaó, excetuando uma área em seu interior destinada à carcinicultura (cultivo de crustáceos), e margeando a costa, compondo os apicuns e o mangue destes rios até proximidade da cidade de Goiana (MMA, CPRH, 2018).

O rio Tracunhaém e o rio Capibaribe Mirim formam o rio Goiana e nascem, respectivamente, nos municípios de Bom Jardim e São Vicente Férrer (CPRH, 2016), enquanto a área denominada Três Bocas refere-se ao trecho do rio onde ocorre o encontro das águas superficiais do Rio Tracunhaém e do canal de Goiana.

O rio Goiana e o rio Megaó, formam juntos um estuário misto com mais quatro mil e quinhentos (4.500) hectares (incluindo canal principal, planície alagada e floresta de mangue). A área é classificada como Planície Costeira segundo os tipos geomorfológicos de estuários (PRITCHARD, 1967). Estes rios abastecem com suas águas o consumo doméstico, industrial e agrícola da Região da Zona da Mata Norte pernambucana (SANTOS et al, 2013; BEZERRA et al; 2013).

As principais atividades econômicas da Reserva Extrativista Acaú-Goiana estão relacionadas à pesca e coleta de recursos estuarinos e marinhos. Seus recursos naturais renováveis são tradicionalmente utilizados pela população extrativista das comunidades de Carne de Vaca, Povoação de São Lourenço, Tejucupapo, Baldo do rio, Goiana, Acaú e demais comunidades incidentes na área de sua abrangência. Estas comunidades são caracterizadas por uma população residente de aproximadamente mil e quinhentas (1500) famílias das quais cerca de 85 % dos

indivíduos desenvolvem atividades pesqueiras como principal ocupação (ICMBio/PNUD, 2012).

O perfil econômico da região em que se encontra a Resex Acaú-Goiana tem se transformado nas últimas décadas. A região, que nos últimos 400 anos era caracterizada pelo intenso cultivo de cana-de-açúcar, se encontra em um momento de transição para a constituição de um polo industrial. Atualmente, no entorno da Resex, cerca de quatrocentos e cinquenta (450) hectares são ocupados por fábricas, incluindo montadoras automotivas, pólo cimenteiro e farmoquímico (Tabela 1) (MESQUITA, 2015). Estes empreendimentos, tanto privados quanto governamentais, são potenciais agressores do meio ambiente, implicando na necessidade de controle e monitoramento de impactos ambientais resultantes de suas atividades, somados aqueles relativos às atividades agropecuárias e urbanas ali presentes.

Tabela 1. Empreendimentos e suas atividades na região da Resex Acaú-Goiana

Empreendimento	Atividade	Empreendedor
Empresa Brasileira de Hemoderivados e Bioderivados (HEMOBRÁS) CNPJ 07.607.851/0002-27	Farmacoquímica	HEMOBRÁS/Governo Federal
Fábrica da Companhia Brasileira de Vidros Planos (VIVIX) CNPJ 10.858.291/0002-98	Fabricação e elaboração de produtos minerais não metálicos	CVBP/Iniciativa privada
Ampliação da PB 044	Infraestrutura	Governo da Paraíba
Distrito Industrial Caaporã CNPJ 12.616.864/0001-11	Infraestrutura	Governo da Paraíba
CAPOMAR Caaporã Maricultra LTDA CNPJ 02729642/0001-51	Maricultura	Iniciativa Privada
LAFARGE S/A CNPJ 10.917.819/0013-05	Fabricação e elaboração de produtos minerais não metálicos	Iniciativa privada
Agroindústria Tabu (Destilaria Tabu) CNPJ 09.053.646/0001-01	Fabricação de combustíveis não derivados de petróleo, produção de álcool etílico, metanol e similares; atividade agrícola (cultivo cana de açúcar)	Iniciativa privada
CAIG (Companhia Agro-Industrial de Goiana) Usina Santa Tereza CNPJ 10.319.853/0001-44	Atividade agrícola	Iniciativa privada

Brennand Cimentos Paraíba S.A. CNPJ 14.026.216/0001-30	Fabricação de produtos minerais	Iniciativa privada
Votorantim Cimentos N/NE S.A. CNPJ 10.656.452/0045-09	Fabricação de produtos minerais	Iniciativa privada
Klabin Fábrica de Papel e Celulose CNPJ 89.637.490/0144-48	Indústria de papel e derivados	Iniciativa privada
Gasoduto Transpetro	Transporte de gás natural	Governo Federal
Pólo automotivo FIAT & JEEP Ltda CNPJ 16.701.716/0036-86	Indústria automotora	Iniciativa privada
Oxinor (Óxidos do Nordeste) CNPJ 11.346.301/0001-98	Indústria química	Iniciativa privada
BRAMEX (Brasil Mercantil S.A.) Atlantis Aquicultura CNPJ 70.216.429/0003-68	Carcinocultura	Iniciativa privada
BRASBIO Química*	Indústria Farmacoquímica	Iniciativa privada
INBESA RISHON*	Cosméticos em geral	Iniciativa privada
Multisaúde Farmacêutica e Nutricional*	Desconhecido	Iniciativa privada
Normix*	Indústria Farmacoquímica	Iniciativa privada
White Martins*	Fabricação de gases industriais	Iniciativa privada
Farma Logística*	Farmacoquímica	Iniciativa privada
Hair Fly*	Cosméticos em geral	Iniciativa privada
Vitaderm*	Biocosméticos	Iniciativa privada

* Não implantada
Fonte: ICMBio.

Os impactos causados pelas atuais atividades econômicas nesta região têm se refletido na redução do estoque pesqueiro da área, comprometendo a atividade de subsistência da população local, a qual depende diretamente dos recursos naturais deste ecossistema. Tais impactos, como relatam os moradores, estão relacionados principalmente com o lançamento de dejetos proveniente da indústria de cana-de-açúcar, lixo urbano e dos viveiros de camarão, localizados dentro de área de preservação permanente da Resex (ICMBio/PNUD, 2012).

A região da Resex apresenta duas estações climáticas bem estabelecidas: Inverno (chuvoso) e verão (seco). Os meses com maiores índices pluviométricos sobre a bacia do rio Goiana são: março, abril, maio, junho, julho e agosto, e que a diferença do escoamento superficial pode ser justificada devido à disponibilidade de água do segundo semestre em relação ao primeiro (SANTOS; GALVÍNCIO; MOURA, 2013).

4.4 CONTAMINAÇÃO POR AGROTÓXICOS EM ÁGUA

A qualidade da água vêm se destacando no âmbito mundial e se tornando preocupante devido ao uso crescente para fins de abastecimento e uso agrícola. Nesse sentido, a principal forma de verificar as alterações na qualidade da água é o monitoramento contínuo dos corpos hídricos, incluindo análise nas mudanças climáticas como o volume de chuvas e inundações, como também, secas severas e prolongadas (RAMOS; OLIVEIRA; ARAÚJO, 2019; WHO, 2017).

No caso da presença em águas, existem registros mundiais da contaminação por agrotóxicos utilizados na agricultura tanto em águas superficiais quanto subterrâneas. Os principais meios de dissipação na água são por interações com sedimentos e degradação microbiológica, sendo essa de maior velocidade na degradação, decompondo-se o glifosato em AMPA e em algumas vezes em dióxido de carbono (GIESY et al., 2000).

Devido à grande solubilidade do glifosato e seus sais na água, considera-se que esses compostos tenham uma elevada mobilidade em meio aquoso, por meio da forte e rápida interação com sedimentos, especialmente em águas pouco profundas e turbulentas, ou aquelas que levam grandes cargas de partículas, removendo o glifosato da solução do solo (SOLOMON & THOMPSON, 2003).

A persistência do glifosato em água é mais curta do que em solo, pois o glifosato é muito solúvel em água, dispersando-se rapidamente sem se acumular em altas concentrações no perfil hídrico (MORAES, 2010).

Para monitorar a presença de glifosato e do seu metabólito AMPA em águas dos canais de irrigação, um estudo foi realizado por Mattos et al. (2002), onde verificaram que em até 120 dias após a aplicação, havia a presença do herbicida, concluindo que determinado nível de segurança só será alcançado 120 dias após a aplicação da formulação de glifosato.

Em estudo realizado nos Estados Unidos, foram coletadas amostras de solo, água de superfície, subterrâneas e água da chuva durante seis anos 2001-2006, para investigar a ocorrência, destino e transporte do herbicida glifosato, AMPA e glufosinato. O AMPA foi detectado com mais frequência, ocorrendo de forma similar ou em maior concentração que o glifosato no ambiente, sendo que ambos podem persistir no solo, de um ano para outro. O Glifosato e o seu metabolito AMPA foram encontrados com maior frequência em águas de superfície do que em águas subterrâneas (SCRIBNER et al., 2007).

Segundo Poiger et al. (2016), realizaram um estudo sobre a ocorrência e o comportamento do glifosato e do seu metabolito AMPA em águas superficiais, águas subterrâneas e estações de tratamento de águas residuais, na região de Zurique na Suíça. As análises mostraram a ocorrência onipresente desses herbicidas, sendo que poucas detecções foram observadas em água subterrânea.

4.5 CULTIVO DA CANA-DE-AÇÚCAR

Com relação à época de aplicação, pode-se afirmar que os herbicidas normalmente são usados em pré-emergência ou pós-emergência e são eficazes contra as plantas daninha.

O manejo de pré-emergência consiste na aplicação de herbicida de ação residual, logo após a semeadura. É importante que o solo preparado esteja com a superfície livre de restos de cultura e de plantas daninhas e com umidade, de forma a favorecer a solubilização do herbicida. O efeito pré-emergente no sistema de plantio direto pode não ser eficiente, dependendo do herbicida usado, pois os resíduos de palha e de culturas impedem, muitas vezes, que o mesmo atinja uniformemente o solo (FERRI; VIDAL, 2003).

O manejo de pós-emergência é uma modalidade de aplicação de herbicidas que consiste no uso de herbicidas seletivos ou não seletivos à cultura, por isso é recomendável que a pulverização seja realizada quando a cana-de-açúcar estiver com pelo menos 40 cm de altura e que seja tomada as devidas providências de proteção durante a aplicação (FERRI; VIDAL, 2003).

Os herbicidas possuem diferentes mecanismos de ação, podendo citar: a atrazina, a ametrina, o diurom e o tebutiurom como inibidores da fotossíntese no fotossistema II, o paraquate como inibidor da fotossíntese no fotossistema I, o glifosato

e o seu metabolito AMPA inibem a síntese dos aminoácidos. Conforme descrito na tabela 2 (FILHO; CHRISTOFFOLETI, 2004).

Tabela 2. Herbicidas utilizados para uso na cultura de cana-de-açúcar

Herbicida	Nome comercial	Grupo químico	Época de aplicação
Glifosato	Roundup	Glicina	Pós-emergência
AMPA	Roundup	Glicina	Pós-emergência
Paraquate	Gramoxone	Bipiridílio	Pós-emergência
Atrazina	Gesaprim	Triazina	Pós e Pré-emergência
Ametrina	Gesapax	Triazina	Pós e Pré-emergência
Diurom	Karmex	Uréia	Pós e Pré-emergência
Tebutiurum	Combine	Uréia	Pré-emergência

Fonte: Autor, 2019.

4.6 RISCOS A SAÚDE HUMANA

A exposição a agrotóxicos está associada a diversos riscos à saúde humana, podendo ser efeitos agudos ou crônicos. Os efeitos agudos da exposição a agrotóxicos incluem fadiga, dores de cabeça, náusea, vômito, tremores, visão prejudicada, problemas circulatórios, entre outros, podendo até resultar em coma e morte (ALAVANJA et al., 2004). Quando um ou mais sintomas são detectados após um breve período de exposição, o diagnóstico pode estar relacionado ao envenenamento agudo a agrotóxicos. Como esses sintomas também são atribuídos a outras doenças, é necessário um diagnóstico mais específico através de exames de sangue e urina (LAUMANN, 2012).

Os efeitos crônicos ocorrem por um período prolongado, quando as pessoas estão expostas a um ambiente ocupacional ou mesmo a ambientes com baixos níveis e de forma contínua. Os efeitos geralmente são a carcinogênese, mutagênese, danos pré e pós-natal, danos no sistema reprodutivo e outros efeitos relacionados a algum agrotóxico específico (BLAIR et. Al., 2015). Eles costumam causar efeitos tardios, uma vez que os sintomas geralmente são identificados tardiamente ou só são aparentes após um longo período de tempo. Os trabalhadores agrícolas estão especialmente em

risco, devido a exposição ambiental, mas a população em geral, também é afetada, resultante de alimentos contaminados (LAUMANN, 2012).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que ocorre pelo menos 3 milhões de casos de intoxicações por agrotóxicos a cada ano e cerca de 220.000 mortes, principalmente em países em desenvolvimento, como a Malásia (KUMAR et al., 2012).

No Brasil, o levantamento foi feito com base em registros de 2007 a 2017 no sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) do Ministério da Saúde. Os dados revelaram cerca de 40 mil casos de intoxicação aguda por agrotóxicos, com 1.900 mortes. O estado brasileiro com a maior quantidade de exposições e intoxicações por agrotóxicos é o Paraná, com 4.648 registros. Isso se deve por ser um estado considerado o segundo com maior área plantada do país e com a maior quantidade de estabelecimentos que utilizam agrotóxicos, segundo dados do Censo Agro 2017, do IBGE.

4.7 VALORES MÁXIMOS PERMITIDOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

A Lei 9.433, de 8 de janeiro de 1997, instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos e criou o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, baseada nos fundamentos de que a água é um bem de domínio público, é um recurso natural limitado dotado de valor econômico, cujo uso prioritário, em situações de escassez, deve ser o consumo humano e dessedentação de animais, e a gestão dos recursos hídricos visa proporcionar o uso múltiplo das águas (BRASIL, 1997).

As águas superficiais doces, salobras e salinas são classificadas, de acordo com a resolução CONAMA nº 357 de 17 de março de 2005, segundo a qualidade requerida para usos distintos, e são divididas em treze classes de qualidade.

No Brasil, os VMP de agrotóxicos em água são definidos por padrões de potabilidade (Brasil, 1990) e de qualidade ambiental para um número restrito de agrotóxicos, sendo alguns desses com uso proibido na década de 1980 (RIBEIRO et al., 2008).

Os procedimentos e as responsabilidades relativas ao controle e à vigilância da água, juntamente com a descrição da quantidade de ingredientes ativos, são estabelecidos pela Portaria MS nº 2914 de 12/12/2011, revogando a Portaria MS nº

518/2004, cuja vigência encerrou-se em dezembro de 2011, estabelecia 22 agrotóxicos como prioritários no monitoramento da água para consumo humano. Uma das modificações, foi a retirada de substâncias químicas que faziam parte do padrão de potabilidade e definiu os VMP de cada substância na água com base em uma avaliação quantitativa de risco químico.

Na tabela 3, estão os VMP estabelecidos para os agrotóxicos no monitoramento da água para consumo humano.

Tabela 3. Padrão de potabilidade para agrotóxicos, segundo a Portaria MS nº 2914 de 12/12/2011 e União Europeia (2019).

Agrotóxicos	Valores Máximos Permitidos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	Portaria MS nº 2914	UE (2019)
Ametrina	Não estabelecido	Não estabelecido
Atrazina	2	0,1
Diurom	90	0,1
Glifosato + AMPA	500	0,1
Tebutiurum	Não estabelecido	Não estabelecido
Paraquate	Não estabelecido	Não estabelecido

Fonte: Autor, 2019.

Devido as propriedades dos herbicidas, bem como a intensa utilização, é de grande importância a implementação de programas de monitoramento e estabelecimento de métodos analíticos validados, aplicáveis a esses compostos presentes no meio ambiente, sejam em baixos, moderados ou elevados níveis de concentração e às matrizes ambientais complexas.

4.8 TÉCNICAS ANALÍTICAS

Existe várias técnicas disponíveis para análises de agrotóxicos em água e alimentos. Sua escolha depende das condições disponíveis para uso e otimização e principalmente das propriedades físico-químicas dos agrotóxicos a serem analisados.

As técnicas abordadas serão de separação por cromatografia líquida e a espectrometria de massas com as suas principais combinações de componentes para identificação. Essas técnicas, quando usadas simultaneamente, podem trazer

benefícios para ambas as áreas, tanto na separação quanto na identificação, através de métodos cada vez mais sensíveis, devido a existência de amostras cada vez mais complexas, atendendo a critérios de exigência para a identificação de compostos nas áreas ambiental, forense, alimentos e outros (LANÇAS, 2010).

4.8.1 Cromatografia em fase líquida

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE, ou HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos. Essa técnica tem crescido rapidamente nas últimas décadas e podemos verificar um avanço dos materiais de recheio, com partículas cada vez menores responsáveis pela alta eficiência, sendo necessário o uso de bombas capazes de aguentar altas pressões, proporcionando uma vazão contínua com alta reprodutibilidade, e como consequência um menor tempo de eluição dos analitos, melhor resolução e maior sensibilidade (LANÇAS, 2013).

A cromatografia líquida de alta eficiência é bastante utilizada na pesquisa de resíduos em diferentes matrizes, pois se aplica para compostos não voláteis e termicamente instáveis. É uma técnica muito utilizada para a separação de matrizes complexas, por ser considerada sensível, seletiva e identificar de maneira segura baixas concentrações para diferentes analitos (SILVA et al., 2010).

É uma técnica na qual os componentes de uma mistura são separados com base nas diferenças de velocidade nas quais são transportados através de uma fase estacionária (coluna cromatográfica) e por uma fase móvel líquida (cromatografia líquida). Um detector é posicionado ao final da coluna cromatográfica para registrar o sinal do analito, eluído da coluna para análise qualitativa e quantitativa deste composto (SKOOG, 2002).

Com o surgimento de agrotóxicos polares, que têm como características uma menor toxicidade e persistência, comparados com os compostos apolares, demandou a adequação de métodos analíticos existentes, como a cromatografia com interação hidrofílica (HILIC, do inglês *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography*), que vem ganhando atenção crescente por sua separação efetiva de compostos altamente polares. Essa fase emprega como eluentes solventes orgânicos, tais como acetonitrila e metanol em alta quantidade e também um eluente contendo água. A ordem de eluição é praticamente inversa aquela da cromatografia em fase reversa. De uma

forma simples, podemos dizer que a HILIC utiliza uma separação do tipo “fase normal”, inclusive com uma fase estacionária hidrofílica, porém com elementos de fase reversa, especialmente a fase móvel (SILVA; BOTTOLI; COLLINS, 2016; LANÇAS, 2013).

As fases estacionárias denominadas de HILIC são empregadas em cromatografia de interação hidrofílica, que é uma modalidade de separação na qual é empregada uma fase estacionária polar e uma fase móvel menos polar, sendo, desta forma, muito indicada para análise de compostos polares e iônicos. Possui alta detectabilidade nas análises com detecção por espectrometria de massas devido à alta porcentagem de solvente orgânico polar empregada nas fases móveis para HILIC e separações mais rápidas, devido a menor viscosidade da fase móvel (MALDANER; JARDIM, 2009).

4.8.2 Espectrometria de massas

A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS) tornou-se uma ferramenta bastante utilizada e eficiente. A técnica MS/MS, com detectores acoplados, destaca-se por apresentar alta seletividade e detectabilidade. Essa técnica garante que o íon precursor selecionado irá fragmentar nos íons produtos, o que possibilita a análise de vários tipos de agrotóxicos simultaneamente e a detecção e confirmação desses compostos em baixas concentrações (ANDRADE, 2013).

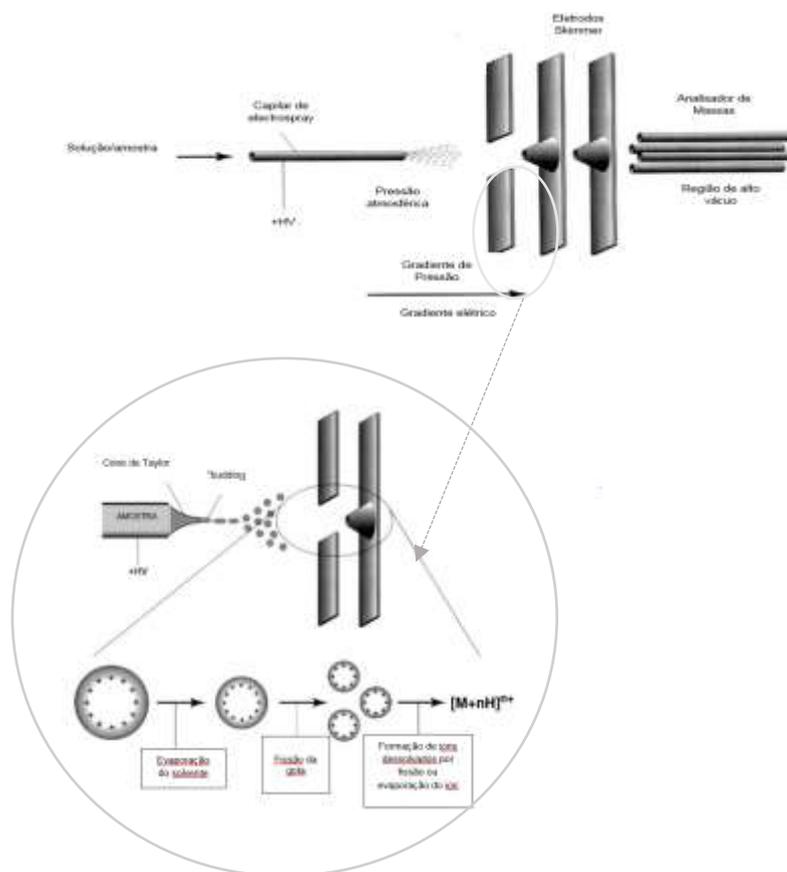
Quando se faz o acoplamento da cromatografia com a espectrometria de massas obtém-se o chamado cromatograma de massas. Trata-se de um cromatograma constituído de todos os íons produzidos pelo espectrômetro de massas ou apenas pelos íons de interesse produzidos por este (AQUINO NETO et al., 2003).

É através de um campo elétrico ou magnético que ocorre a seleção de um íon pela sua razão massa/carga (m/z – *mass to charge ratio*), identificando o analito de origem (REBELO, 2014). As moléculas em uma amostra são convertidas em íons em fase gasosa que são subsequentemente separados no espectrômetro de massas de acordo com sua razão massa (m) sobre a sua carga (z). A importância deste método analítico é a mudança de moléculas neutras de um analito em íons (GASKELL, 1997).

Na fonte de ionização de *Electrospray* (ESI) a ionização das moléculas envolve a geração de íons através da formação de um spray da solução contendo o analito em um campo elétrico (Cone de Taylor). O processo de ionização no ESI

acontece devido à aplicação de um potencial elétrico que age sobre a superfície da gotícula com superfícies carregadas. A evaporação do solvente, devido à ação do gás nebulizador, diminui o tamanho da gotícula até que se tenha apenas os íons livres do solvente, os quais passam para etapa seguinte de análise que é o analisador de massas, o funcionamento ocorre sob alto vácuo, nesta região os íons formados são selecionados nos analisadores de acordo com sua m/z (Figura 11) (CROTTI et al., 2006; GASKELL, 1997).

Figura 11 - Introdução da amostra em uma fonte de ESI e formação do íon



Fonte: Adaptado de GASKELL (1997).

Segundo Chiaradia, Collins e Jardim (2008), o analisador de massas quadrupolo é constituído de 4 hastes. Os pares opostos das hastes estão eletricamente conectados e é aplicado entre eles uma voltagem com radiofrequência (RF). Em um valor específico de voltagem, íons de uma determinada razão m/z atravessam o quadrupolo descrevendo uma trajetória estável.

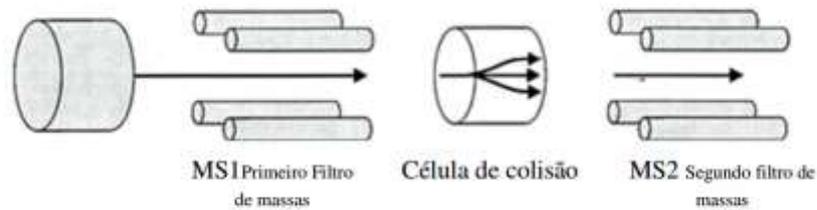
O espectrômetro de massas triplo quadrupolo é um analisador de massas constituído por três quadrupolos em série, sendo que o primeiro é usado para isolar o íon de interesse e o segundo quadrupolo não é utilizado para separar íons de mesma razão m/z , mas sim como célula de colisão no qual ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo, geralmente isso ocorre por dissociação induzida pela colisão com um gás inerte (*Collision induced dissociation* – DIC), e também é utilizado para direcionar os íons produzidos ao terceiro quadrupolo (CHIARADIA, 2008).

Na DIC, o íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no interior do segundo quadrupolo, onde sofre repetidas colisões com um gás inerte de elevada energia (geralmente Ar, He ou N₂), o que resulta a um aumento na energia potencial deste íon até ocasionar sua fragmentação, conduzindo à formação dos íons produto. Quando a DIC é realizada em energia baixa, as reações de fragmentação levam geralmente à perda de fragmentos neutros (H₂O, MeOH, CO, CO₂ etc.), dependendo da natureza do íon precursor. Esta perda de fragmentos neutros é muito importante na determinação estrutural da molécula do analito, uma vez que fornece informações acerca de grupos funcionais presentes na molécula. Quando a DIC é realizada sob energia alta, as reações de fragmentação geram informações estruturais mais significativas, uma vez que pode levar à quebra das moléculas em posições características. Porém, quando a energia é muito alta a fragmentação não ocorre da forma correta (CHIARADIA, 2008).

Além das informações estruturais, a DIC pode melhorar o método de detecção, principalmente quando usada para gerar um íon característico de uma molécula e assim realizar sua detecção a partir deste íon fragmento quando a molécula do analito de interesse se encontra em presença de outras moléculas de mesma massa molar nominal, uma vez que reduz o ruído e aumenta a detectabilidade (CHIARADIA, 2008).

Todos os quadrupolos são controlados para transmitir íons de uma única razão m/z ou de um intervalo de razões m/z para gerar informação analítica mais exata (Figura 12).

Figura 12 - Esquema do modo de varredura MRM



Fonte: Adaptado de Waters Corporation (2014).

A vantagem do emprego da cromatografia acoplada a espectrometria de massas é que por meio dessa técnica é possível obter uma grande quantidade de informação estrutural acerca do analito: tempo de retenção e dados de abundância relativas entre diferentes transições, fato que assegura sua identificação com maior exatidão. Além disso, quando existem compostos que não podem ser totalmente separados pela técnica cromatográfica empregada, usando espectrometria de massas MS/MS é possível detectá-los individualmente se possuírem diferentes massas molares ou gerarem diferentes espectros de massas (VÉKEY, 2001; CHIARADIA et al., 2008).

Esta técnica é amplamente empregada na detecção de compostos presentes em baixas concentrações em matrizes complexas, uma vez que possibilita um aumento na sensibilidade de detecção e minimiza a interferência espectral de compostos presentes na matriz, proporcionando maior simplificação no preparo da amostra (CHIARADIA et al., 2008).

4.8.2.1 Determinação de compostos do estudo por UPLC-MS/MS

A identificação e quantificação de agrotóxicos em amostras de alimentos e ambientais, exige a aplicação de técnicas analíticas modernas e confiáveis capazes de quantificar muitos agrotóxicos simultaneamente, mesmo que estes estejam presentes em baixas concentrações em amostras complexas. Nos últimos anos, o método para a determinação a nível de resíduo de agrotóxicos teve um avanço considerável. No entanto, a capacidade de monitorar vários agrotóxicos em uma

mesma corrida analítica ainda é um problema desafiador devido à grande diversidade das amostras.

Recentemente, diversos estudos de métodos multi-resíduos por LC-MS/MS com bons resultados foram publicados evidenciando a adequabilidade da técnica para análise multi-resíduos de agrotóxicos (SOUZA, 2015). Sendo importante adotar mudanças necessárias, como novos métodos tecnológicos para detectar resíduos de agrotóxicos e também legislações mais recentes para manter o nível de resíduos de agrotóxicos encontrados abaixo do limite máximo recomendado ou mesmo em um nível desprezível (LEONG et al., 2020).

A presença de agrotóxicos em água para consumo humano no Brasil é outro tema pouco pesquisado e sobre o qual se dispõe de escasso número de fontes oficiais de informações acessíveis para consulta. Dessa forma, é importante implementar programas de monitoramento dos corpos hídricos.

4.9 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Geralmente, a determinação de agrotóxicos utiliza métodos analíticos que envolvem a preparação da amostra (homogeneização, extração e limpeza), separação, detecção e análise de dados. As principais etapas para a determinação de resíduos de agrotóxicos são: a extração e a limpeza dos analitos de qualquer substância que cause efeito matriz (SAMSIDAR; SIDDIQUEE; SHAARANI, 2018).

Nos últimos anos, os avanços feitos no desenvolvimento de métodos analíticos usados na extração e quantificação de resíduos de agrotóxicos têm sido acelerados. As metodologias desenvolvidas dependem do tipo de agrotóxico e da presença de diferentes agrotóxicos em amostras de alimentos e ambientais. Independente do método adotado, sempre é escolhido aquele método barato, rápido, eficaz, simples e aplicável a diferentes matrizes (SHARMA et al.; 2010).

Os métodos de extração em amostras de água mais utilizados empregam a técnica de extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) com resinas de troca iônica, sendo possível a realização da análise através de uma simples filtração e evaporação da amostra. (AMARANTE JUNIOR, 2002).

O método de extração líquido-líquido (LLE) também conhecido como particionamento, é o método de extração mais antigo e é frequentemente usado por ser robusto e eficaz. Suas etapas compreendem a homogeneização das amostras

utilizando dois líquidos imiscíveis diferentes, geralmente água e solvente orgânico, além da centrifugação, concentração e purificação. Sua desvantagem é por ser um método demorado, que utiliza uma grande quantidade de solvente e tem tendência a formar emulsão (ZHANG et al., 2012; PENA-PEREIRA et al., 2009).

Diferentes soluções de extração são usados como o diclorometano/acetona (Pose-Juan, Cancho-Grande, Rial-Otero, & Simal-Gándara, 2006), acetonitrila (Li & Yuan, 2008), acetato de etila/ciclohexano (Sannino, Bolzoni, & Bandini, 2004) e hexano (Cabras et al., 2001) para determinação de agrotóxicos.

Recentemente, Timofeeva et al., (2017) aplicaram o método LLE utilizando a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas para determinar malation, diazinon, imidacloprido e triadimefon em amostras de sumo de fruta. O método desenvolvido apresentou uma boa sensibilidade e repetibilidade. Farajzadeh, Feriduni e Mogaddam (2015), extraíram agrotóxicos em amostras aquosas (sucos de frutas, água de poço e água do rio) usando o método LLE utilizando a cromatografia gasosa com o detector de ionização de chama (CG-FID). Desenvolveram também, um método simples, rápido e econômico baseado no LLE e na microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para determinação dos piretróides.

Segundo estudo realizado por Bedendo et al., (2012), foram detectados simultaneamente 18 diferentes classes de agrotóxicos. O método proposto acoplado a LC-MS/MS é uma técnica de extração simples, de baixo custo e que proporciona limites de detecção a nível de mg.L^{-1} em amostras de suco, apresentando boa precisão e linearidade. O método LLE tem sido usado na última década como uma técnica de rotina, porém seu uso é inadequado por ser uma técnica demorada e que utiliza uma grande quantidade de solvente, sendo uma ameaça potencial ao ser humano e ao meio ambiente.

O método de extração em fase sólida (SPE) recebeu ampla aceitação para extração de poluentes incluindo agrotóxicos. A escolha do sorvente adequado é muito importante e outro fator importante é a interação entre o sorvente e os próprios analitos. Considerado um método de extração muito utilizado, alguns pesquisadores têm citados em seus trabalhos.

O método de extração em fase sólida (SPE), foi desenvolvido para substituir o método de extração líquido-líquido (LLE), onde os extratos são passados em cartucho descartável para reter os analitos, em seguida serem adsorvidos nos materiais da fase sólida, para serem removidos por solventes orgânicos. Sua extração

utiliza um volume menor de solvente, é um método mais rápido, simples e não forma emulsão. Sua desvantagem é por utilizar cartuchos descartáveis, podendo aumentar o custo do experimento e a presença de interferentes na determinação de agrotóxicos polares (SABIK et al., 2000; CHEN et al., 2010).

Os métodos de extração SPE e LLE são freqüentemente usados para obter uma melhor purificação nas análises de resíduos de agrotóxicos. O método de extração SPE é mais rápido e eficiente para monitoramento de agrotóxicos em diversas matrizes. Como vantagem temos o tempo de análise reduzido, menor quantidade de solvente e é bastante eficiente na eliminação de interferentes da matriz.

A técnica atualmente utilizada para a extração de agrotóxicos em matriz de origem vegetal é o método QuEChERS (do Inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*). É uma técnica rápida, fácil, barata, eficaz, robusta e segura. Este método foi primeiramente descrito por Anastassiades, et al. (2003) e capaz de extrair compostos não polares simultaneamente. É o método de preparo de amostra mais amplamente utilizado na química analítica até hoje. O procedimento QuEChERS envolve várias etapas: 1) Etapa de extração inicial com um solvente orgânico a acetonitrila; 2) Etapa de particionamento com a adição de uma mistura salina utilizando sulfato de magnésio (MgSO₄) e cloreto de sódio (NaCl) e a 3) Etapa de limpeza usando SPE dispersivo (d-SPE), onde é usado um adsorvente (PSA). Este método ganhou uma atenção especial devido à sua adequação para análise multi-resíduo em várias matrizes. É um método rápido, barato, com baixo consumo de solvente, alta recuperação e preciso (LAMBROPOULOU E ALBANIS, 2007).

O uso do método QuEChERS modificado também foi utilizado para evitar degradação de alguns agrotóxicos, analisar agrotóxicos com alto teor de gordura e aqueles que contém pigmentos de clorofila. É o passo de limpeza praticado por C18 e negro de fumo grafitado. Andrade et al. (2015) abordou a método QuEChERS utilizando a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS). Ao aplicar uma coluna com partículas menores (aproximadamente 1,8 µm de tamanho) são usados para a análise de resíduos de agrotóxicos em tomate, com uma corrida analítica de 13 min, determinando 57 agrotóxicos em tomate e com limites de detecção menor que 5 mg.kg⁻¹.

Embora a extração QuEChERS seja a mais usada atualmente, ela apresenta limitações em análises para substâncias com elevada polaridade, como as substâncias do atual estudo. Os avanços da química analítica com a utilização de

equipamentos cada vez mais seletivos e sensíveis permitiram a miniaturização e automatização de procedimentos de análise (PRESTES et al., 2011).

Recentemente tivemos a divulgação do método QuPPE (do inglês, *Quick Method for the Analysis of numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS/MS*) usado para análise de resíduos de substâncias polares através de uma etapa de extração com uma solução de ácido fórmico em metanol e posterior análise por LC-MS/MS. O método prevê um mesmo procedimento de extração para diversos analitos polares. Entretanto, a etapa de cromatografia é realizada normalmente em modo HILIC e envolve o uso de diferentes eluentes e fase estacionária de acordo com propriedades das substâncias químicas (ANASTASSIADES, et al., 2016).

Apesar da facilidade de extração, o fato do uso de múltiplas colunas para cromatografia dificulta o uso deste método como uma estratégia rápida para fins de triagem (EDISON et al., 2010).

Okada et al. (2018), desenvolveram um método simples, rápido e econômico de injeção direta para determinação de herbicidas em amostras de água ambiental. Estudo realizado por Assalin et al. (2017), desenvolveram um método para determinação de 32 agrotóxicos baseado em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas UPLC–MS/MS, operado em modo positivo de ionização, sem concentração e/ou clean up para consumo humano, através de injeção direta de 20 µL, com um tempo de análise de 10,3 min.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E REAGENTES

Os herbicidas estudados foram Glifosato, Paraquate, Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom (Tabela 4). Foram adquiridos do fabricante Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburgo, Alemanha), exceto o AMPA que foi adquirido do fabricante Spex (CertiPrep, EUA). Foram armazenados a 4°C. Os reagentes Ácido Fórmico, Acetonitrila, Metanol, Formiato de amônio (JT. Baker, Phillipsburg, NJ, USA), Ácido Acético (Mallinckrodt, MNK, Reino Unido), todos com grau CLAE. A água ultrapura utilizada foi purificada com sistema Elga® LabWater (Purelab Ultra, Reino Unido).

Tabela 4 - Características químicas dos padrões das substâncias químicas de referência do estudo

Substância Química	Fórmula molecular	Massa monoisotópica
Glifosato	C ₃ H ₈ NO ₅ P	169,014
AMPA	CH ₆ NO ₃ P	111,008
Paraquate	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₂ N ₂	256,053
Ametrina	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	227,120
Atrazina	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215,093
Diurom	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	232,017
Tebutiurum	C ₉ H ₁₆ N ₄ OS	228,104

Fonte: ChemSpider, 2017.

5.2 SOLUÇÕES PADRÃO

As soluções estoques das substâncias químicas de referência foram preparadas a partir da solubilização do padrão sólido em metanol na concentração de 1,0 mg.mL⁻¹ exceto o glifosato, que, foi preparado a uma concentração de 0,2 mg.mL⁻¹. A solução estoque do AMPA diluída em água deionizada com concentração de 1,0 mg.mL⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas em frascos plásticos devido suas propriedades de adsorção em superfícies de vidro.

5.2.1 Soluções das curvas de calibração

Uma solução de padrão misto foi preparada a partir dos padrões de estoque. Foi preparada uma curva de calibração em seis concentrações.

A curva de calibração foi preparada em água acidificada a 1 % de ácido acético. Para tanto, uma solução diluída foi preparada a uma concentração de 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Diferentes volumes foram utilizados obtendo-se as concentrações adequadas para soluções 10 vezes concentrada. Ao final alíquotas foram transferidas para *inserts* de plástico e utilizadas como níveis de calibração (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Soluções de trabalho 10 x concentrada

	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 4	Nível 5	Nível 6
Concentração da Solução diluída ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	5000	5000	5000	5000	5000	10000
Volume da solução diluída (mL)	0,1	0,25	0,5	1,0	2,5	2,5
Diluyente (água 1 % Ácido Acético)	4,9	4,75	4,5	4,0	2,5	2,5
Volume final da diluição (mL)	5	5	5	5	5	5
Concentração final obtida ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	100	250	500	1000	2500	5000

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 6 – Curva de calibração para análise

	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 4	Nível 5	Nível 6
Concentração da Solução diluída (ng.mL ⁻¹)	100	250	500	1000	2500	5000
Volume da solução diluída (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Diluyente (água 1 % Ácido Acético)	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Volume final da diluição (mL)	1	1	1	1	1	1
Concentração final obtida (ng.mL ⁻¹)	10	25	50	100	250	500

Fonte: Autor, 2019.

5.3 EQUIPAMENTOS

O Sistema de Cromatografia Líquida foi um Nexera X2 Ultra High Performance Liquid Chromatograph (Shimadzu, Tokyo, Japão). O espectrômetro de massa foi um SCIEX 3200 QTRAP® (SCIEX Pte. Ltd., Ontario, Canadá).

5.4 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA

Para a otimização do método, os valores sugeridos de parâmetros da fonte para um fluxo de 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ é de 10 na posição da sonda vertical e 5 na posição da sonda horizontal. Acoplou-se a seringa em um *peak* plástico ao sistema de canais para infusão direta no sistema MS/MS e então posicionou-se a seringa em uma bomba de infusão (MANUAL SCIEX, 2013).

Iniciou-se a infusão com uma solução padrão de concentração 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, em metanol com 0,1 % de ácido acético deixando o fluxo correr por 2 minutos, de forma a preencher os canais com a solução e permitir a estabilização do fluxo.

Selecionou-se o modo *Tune* no software e procedeu com o modo de varredura em *Q1 MS Scan*. Em seguida, selecionou-se a polaridade, realizando os testes no modo positivo e negativo (MANUAL SCIEX, 2013).

Realizou-se então o cálculo da massa molecular exata de cada composto, de forma a introduzir uma faixa de varredura de massas ao modo *Q1 MS Scan* em 10 ciclos. O valor inicial da *Declustering Potential* (DP) foi definido para 200 volts, *Entrance Potential* (EP) foi de 10 volts, *Collision Energy* (CE) foi de 40 volts e *Collision Cell Exit Potential* (CXP) foi de 16 volts (*default*) (MANUAL SCIEX, 2013).

Após a obtenção do espectro de *Q1*, verificando a estabilidade e intensidade do sinal, selecionou-se o modo *Q1 Multiple Ion*. Realizou-se a rampa de DP e EP para os compostos, de forma a obter o valor ótimo para a entrada no filtro de massas *Q1*. A seguir, mudou-se o modo para *Product Ion Scan* e, digitando no campo *Product Of* a massa do íon molecular precursor a ser fragmentado, foram obtidas as rampas de CE e CXP e os dois principais fragmentos formados na célula de colisão *Q2* (MANUAL SCIEX, 2013).

Com a otimização de todos os parâmetros de voltagem, realizou-se *Product Ion Scan* dos compostos, para verificar se os fragmentos formados eram realmente procedente do íon molecular conhecido. Selecionou-se o modo *Precursor Ion Scan*, e no campo *Precursor of* digitou-se a massa do fragmento. Após a confirmação do *Product Ion Scan*, encerrou-se o procedimento analítico pela realização do *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) (MANUAL SCIEX, 2013).

Após a obtenção do MRM, contendo os parâmetros de voltagem das lentes e logo em seguida, da realização da separação cromatográfica, foi feita a análise por injeção de fluxo contínuo *Flow Injection Analysis – FIA*, para a otimização dos parâmetros da fonte de íon e gases, o *Curtain Gas* (CUR), o *Ion Source Gas 1* (GAS 1), o *Ion Source Gas 2* (GAS 2) e a *Temperature* (TEM). Para esse procedimento foi utilizado um autosampler e uma bomba LC (MANUAL SCIEX, 2013).

Os parâmetros da fonte de ionização sugeridos pelo fabricante encontra-se descritos na tabela 7 (MANUAL SCIEX, 2013).

Tabela 7 – Parâmetros da fonte de ionização sugeridos pelo fabricante

Parâmetro	Valor sugerido
Curtain Gas (CUR) (L/h)	10 a 30
Collision Gas (CAD)	High
IonSpray Voltage (IS) (V)	-2000 a -4500
Temperature (TEM) (°C)	200 a 650
Ion Source Gas 1 (GS1) (L/h)	30 a 55
Ion Source Gas 2 (GS2) (L/h)	30 a 55

Fonte: Autor, 2019.

Todos os parâmetros listados foram otimizados a fim de obter espectros de massas reprodutíveis e com sensibilidade satisfatória ao uso pretendido para cada uma das substâncias químicas estudadas.

5.5 MÉTODO DE ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

Neste estudo, para a realização da separação cromatográfica foi utilizada as colunas conforme descritas na tabela 8. As condições de análise cromatográfica utilizadas para separação dos herbicidas estudados foram baseadas em métodos descritos na literatura, porém ajustada para obter uma redução do tempo de análise sem comprometimento da seletividade e sensibilidade do método (KOLBERG, 2012; UE, 2019).

Tabela 8 - Coluna cromatográfica, característica da cromatografia e substância química

Coluna cromatográfica	Modo de funcionamento	Substância
Thermo Scientific Hypercarb (100 mm x 2.1 μm , partícula de 5 μm)	Carbono grafite poroso	Glifosato + AMPA
Acquity UPLC $\text{\textcircled{R}}$ BEH Hilic (100 mm x 2.1 μm , partícula de 1,7 μm)	HILIC	Paraquate
Acquity UPLC $\text{\textcircled{R}}$ BEH C18 (100 mm x 2.1 μm , partícula de 1,7 μm)	C18	Ametrina, Atrazina, Diurom, Tebutiurom

Fonte: Autor, 2019.

O método desenvolvido pela UE, 2019, para análise de glifosato, utilizou como eluente A água ultrapura acidificada com 1 % de ácido acético e 5 % de Metanol grau HPLC e como eluente B metanol acidificado com 1 % de ácido acético. O gradiente utilizado foi de 100 % do eluente A, diminuindo até 70 % de A e 30 % do eluente B por 10 min com o fluxo de 0,2 mL.min⁻¹. Este fluxo passou para 0,4 mL.min⁻¹ por mais 8 min, chegando a 10 % do eluente A por 4 min. Em seguida, voltou para as condições iniciais por mais 8 min para atingir o equilíbrio. O volume de injeção foi de 5 μL .

Segundo estudo realizado por Kolberg et al. (2012) para análise de paraquate, foi utilizado como eluente A o formiato de amônio com pH 3 acidificado com 1 % de ácido fórmico e como eluente B acetonitrila. Como gradiente, foi usado 20 % do eluente A, aumentando linearmente para 80 % de A e 20 % do eluente B por 4 min. Esta composição foi mantida por mais 8 min, em seguida, voltou para as condições iniciais por mais 8 min para atingir o equilíbrio. A temperatura da coluna foi de 40° e o volume de injeção foi de 5 μL .

Segundo Pasupulet, Tsai e Ponnusamy (2019), para análise de piretróides foi utilizado como eluente A água ultra pura acidificada com 0,1% de ácido fórmico e como eluente B acetonitrila acidificado com 0,1 % de ácido fórmico. Como gradiente, foi usado 80 % do eluente A, diminuindo até 10 % de A em 8 min. Em seguida, foi aumentando linearmente para a concentração inicial de 80 % em 12 min. O eluente B usado inicialmente foi de 20 % e aumentou até 90 % aos 8 min, após 12 min voltou a

composição inicial de 20 % para atingir o equilíbrio. A temperatura da coluna foi de 40 °C e o volume de injeção foi de 3 µL

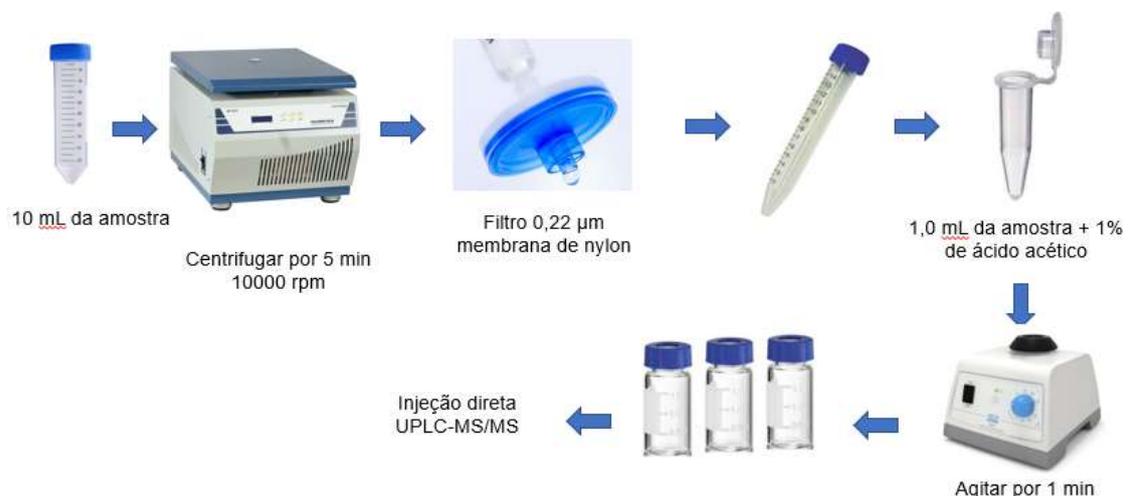
Definidas as condições ótimas para análise, estas foram utilizadas para elaboração do método de análise com o espectrômetro operando em modo de aquisição MRM, para tanto foi preciso identificar o tempo de retenção das substâncias de interesse a partir das condições cromatográficas estabelecidas, uma vez que o tempo para monitoramento (do inglês, *Dwell time*) de cada transição é estabelecido de acordo com o número de transições em um determinado intervalo de tempo.

5.6 EXTRAÇÃO DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

Com o objetivo de apresentar uma metodologia simples para a determinação de herbicidas nas amostras de água, validou-se o método apenas com uma etapa de filtração.

O procedimento consistiu em transferir 10 mL de água para tubo de centrífuga de 50 mL. As amostras foram submetidas à centrifugação durante 5 min a 10000 rpm. Em seguida, as amostras foram filtradas usando um filtro de seringa (0,22 µm). Depois disso, 1 mL da fase aquosa foi transferida para *ependorfe* e acidificada com 1 % de ácido acético. Finalmente, os tubos foram agitados por 1 min no vortex e transferidos para insert de plástico e *vial* para injeção no UPLC-MS/MS (Figura 13).

Figura 13. Fluxograma de preparação de amostra



5.7 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A validação de um método analítico é o processo que atesta que o mesmo é adequado ao fim a que se destina, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os métodos analíticos permitem avaliar a conformidade dos resultados de identificação e quantificação dos analitos com as especificações definidas de acordo com o produto ou processo. Para verificar se os resultados estão de acordo com as especificações dos órgãos de regulamentação, são utilizados os seguintes parâmetros de validação: seletividade/especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação e robustez (ARAGÃO et al., 2009).

Inicialmente, foi realizada a otimização e a validação do procedimento analítico para avaliar a eficiência do método de acordo com os critérios analíticos (SANTE, 2017), tais como obtenção dos limites de detecção, quantificação, linearidade e precisão.

5.7.1 Seletividade/Especificidade

A seletividade/especificidade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (SANTE, 2017; RIBANI et al., 2004).

5.7.2 Efeito Matriz

O efeito matriz (EM) nas determinações por UPLC-MS/MS foi realizada conforme proposto por Matuszewski *et al.* (2006). Realizou-se a comparação entre as inclinações das curvas analíticas dos padrões no solvente (MeOH) e aquelas obtidas com soluções analíticas preparadas no extrato de água. O cálculo foi efetuado através da Equação 1.

$$EM(\%) = \frac{x1 - x2}{x2} \times 100 \quad (1)$$

onde:

x1= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada herbicida, preparadas em extrato de água (matriz);

x2= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada herbicida, preparadas em MeoH (solvente).

Neste trabalho foi considerado um efeito matriz com valores de até 20 %.

5.7.3 Linearidade

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (SANTE, 2017; RIBANI et al., 2004).

A linearidade é determinada pelas curvas analíticas, que são gráficos de calibração, os quais relacionam a resposta do equipamento em função das diferentes concentrações do analito (LANÇAS, 2004).

5.7.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção para um procedimento analítico pode variar em função do tipo de amostra. O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. O limite de detecção pode ser expresso como: $LD = 3,3 s/S$, onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e S é a inclinação ou coeficiente angular da curva analítica (RIBANI et al., 2004).

O limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental e é expresso como: $LQ = 10 s/S$ (RIBANI et al., 2004).

5.7.5 Exatidão (Recuperação)

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão é avaliada pela recuperação, que é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI et al., 2004).

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos de agrotóxicos geralmente estão entre 70 a 120 %, com precisão de até ± 20 % (SANTE, 2017).

5.7.6 Precisão

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. A precisão em validação de métodos é considerada em níveis diferentes de repetitividade e de precisão intermediária (RIBANI et al., 2004).

5.7.7 Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento; mesmo analista; mesmo instrumento usado sob as mesmas condições; mesmo local; repetições em um curto intervalo de tempo (RIBANI et al., 2004).

5.7.8 Reprodutibilidade

A precisão intermediária, de acordo com INMETRO (2010), refere-se à precisão avaliada sob condições que compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo de um período extenso de tempo. Nesse estudo, deve-se definir exatamente quais condições serão variadas, tais como: diferentes analistas;

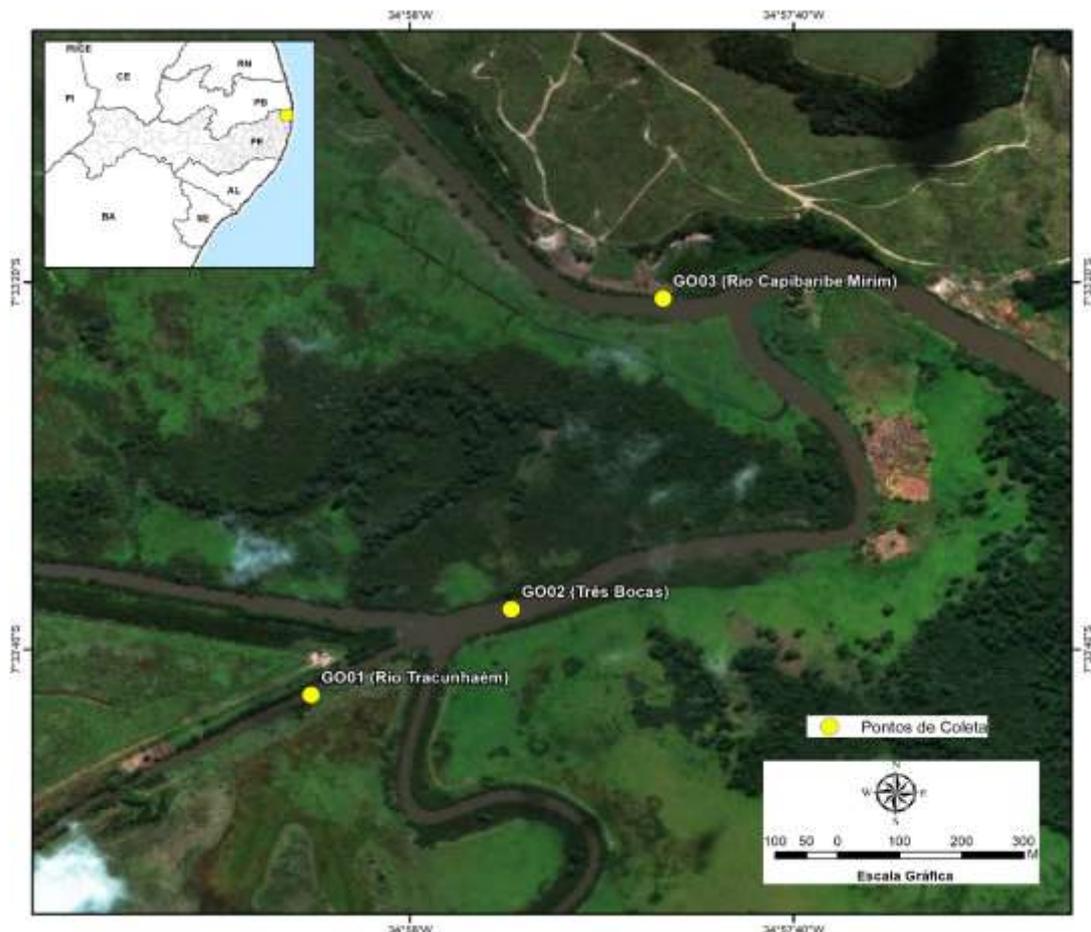
diferentes equipamentos ou diferentes tempos. Esta medida de precisão resulta na variabilidade dos resultados em um laboratório (SANTE, 2017).

5.8 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A bacia hidrográfica do Rio Goiana abastece 26 municípios da Zona da Mata Norte de Pernambuco e localiza-se na divisa dos Estados Pernambuco e Paraíba, nos municípios de Pitimbu (PB), Caaporã (PB) e Goiana (PE), além de fazer parte da Reserva Extrativista (Resex) Acaú-Goiana, área sob proteção do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/IBAMA) (MMA, CPRH, 2018).

No presente trabalho, foram coletadas amostras de águas superficiais de três áreas de captação diferentes: 1) Rio Tracunhaém, 2) Rio Capibaribe Mirim, 3) Três Bocas (Figura 14).

Figura 14. Mapa dos pontos de coleta de águas superficiais do Rio Goiana, PE



Fonte: ICMBio.

O Rio Tracunhaém e o Rio Capibaribe Mirim formam o Rio Goiana e nascem, respectivamente, nos municípios de Bom Jardim e São Vicente Férrer (CPRH, 2016), enquanto a área denominada Três Bocas refere-se ao trecho do rio onde ocorre o encontro das águas superficiais do Rio Tracunhaém e do canal de Goiana.

Esses três pontos de coleta foram ajustados ao sistema de coordenadas geográficas Datum WGS84 (Tabela 9), selecionados por receberem efluentes agroindustrial, industrial e agropecuária da região e para avaliar a ocorrência de herbicidas.

Tabela 9. Localização dos pontos de coleta de águas superficiais do Rio Goiana, PE

Pontos de coleta	Coordenadas Geograficas	Referência
GO01 (Rio Tracunhaém)	L 7 33 42.480 N 34 58 5.160	Próximo à zona urbana da cidade de Goiana-PE
GO02 (Três Bocas)	L 7 33 37.800 N 34 57 54.720	Canal de Goiana
GO03 (Rio Capibaribe Mirim)	L 7 33 20.880 N 34 57 46.800	Perto da plantação de cana-de-açúcar

Fonte: Autor, 2019.

As coletas de água foram realizadas uma vez por mês, de março a agosto (meses chuvosos) de 2019, sendo 36 amostras obtidas em cada ponto de coleta por mês, totalizando 108 amostras.

As amostras de água foram coletadas a uma profundidade de 30 cm (ANA, 2011), aproximadamente um litro por amostra, em recipientes de plástico para evitar a interação com superfícies de vidro e colocadas em caixas de isopor contendo baterias de gelo e em seguida, conduzidas ao Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDFAC) da Universidade Federal de Pernambuco.

6 RESULTADOS

6.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO

Como resultado, observou-se que o modo de ionização negativo foi o que apresentou maior intensidade de sinal para o Glifosato e seu metabolito AMPA. Para os compostos Paraquate, Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom o modo de ionização positivo foi o que apresentou maior intensidade de sinal.

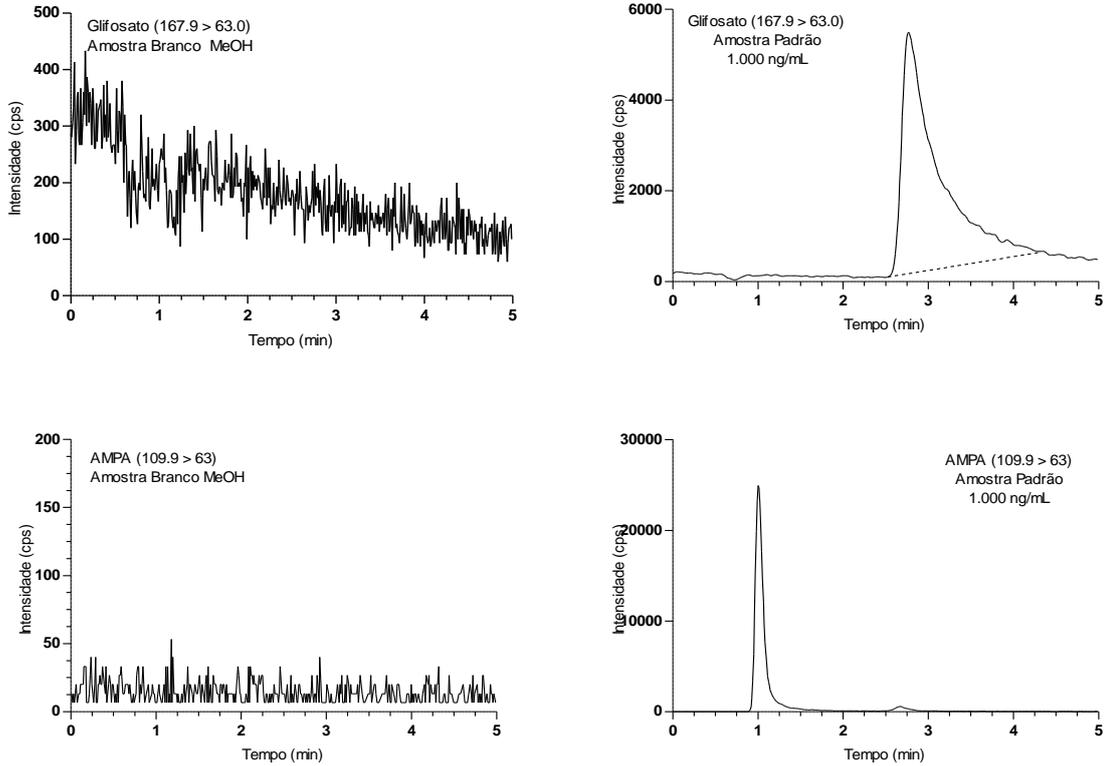
Os íons precursores e seus fragmentos foram selecionados em função da otimização das condições cromatográficas bem como a otimização dos parâmetros do espectrômetro de massas, em MRM. Na tabela 10 são apresentados os tempos de retenção e as transições monitoradas. Nas figuras abaixo (15, 16, 17, 18 e 19) estão ilustrados os cromatogramas do branco de solvente e os cromatogramas dos 7 herbicidas estudados.

Tabela 10 – Dados de aquisição usados para a análise por UPLC-MS/MS

Composto	Transição 1	Transição 2	TR (min)
Glifosato	167.9 > 63	167.9 > 78.9	2.00
AMPA	109.9 > 63	109.9 > 78.9	0.77
Paraquate	185 > 170	1853 > 169	4.93
Ametrina	228.1 > 186.1	228.1 > 68.1	6.31
Atrazina	216.11 > 174.1	216.11 > 96.1	6.27
Diurom	233 > 72	235 > 72	6.50
Tebutiurom	229.01 > 72	229.01 > 116	5.69

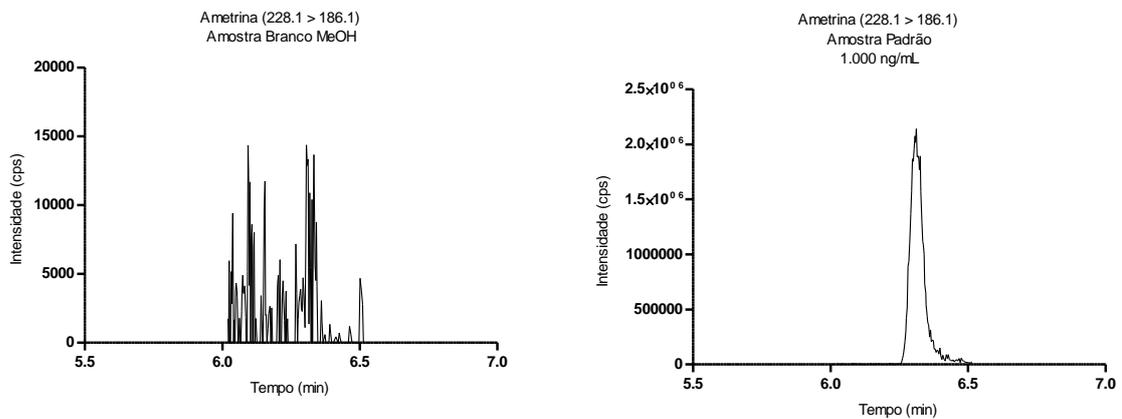
Fonte: Autor, 2019.

Figura 15 – Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo os analitos Glifosato e seu metabolito AMPA



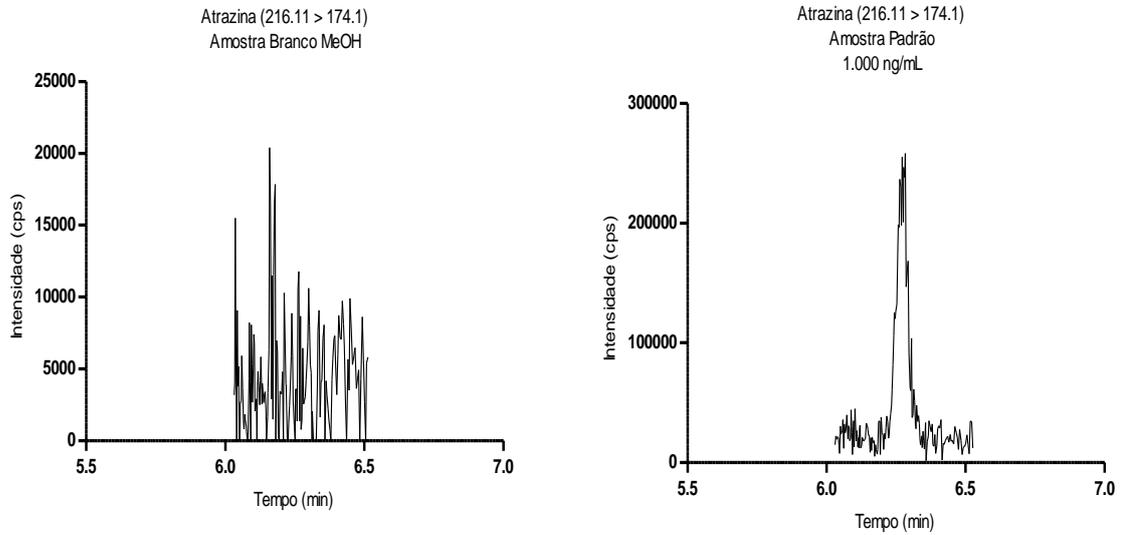
Fonte: Autor, 2019.

Figura 16 – Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Ametrina



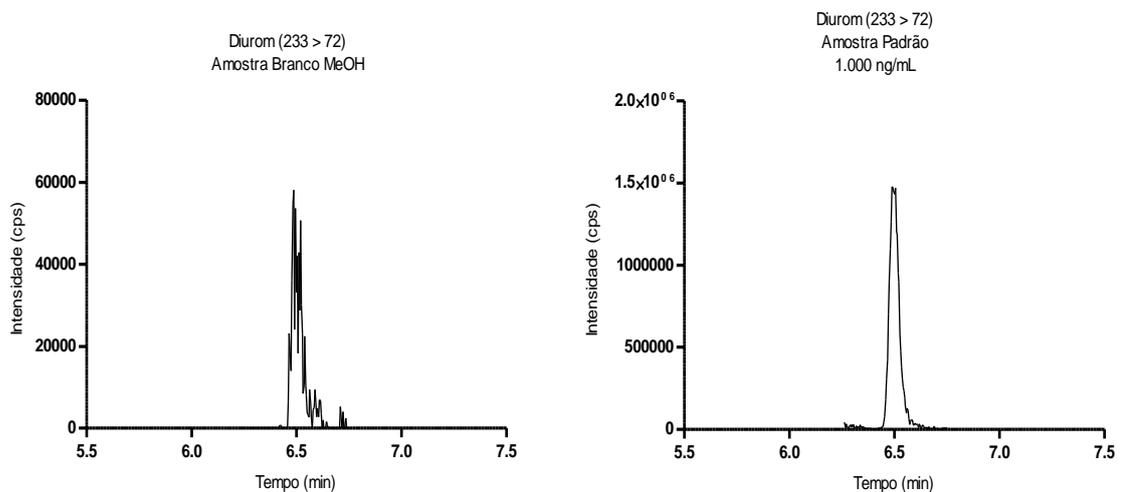
Fonte: Autor, 2019.

Figura 17 – Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Atrazina



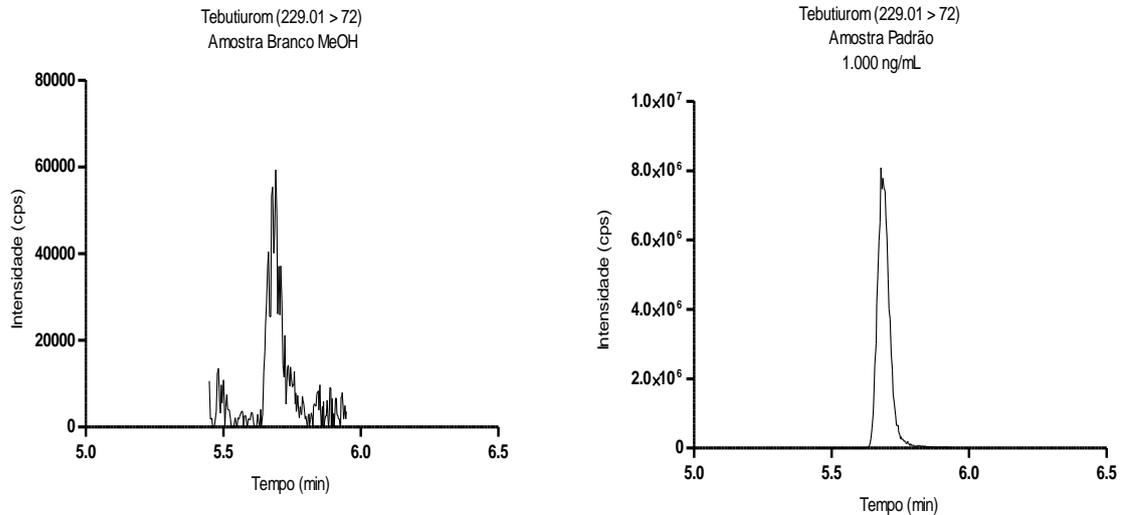
Fonte: Autor, 2019.

Figura 18 – Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Diurom



Fonte: Autor, 2019.

Figura 19 – Cromatogramas obtidos através do branco de solvente e solução contendo o analito Tebutiurum



Fonte: Autor, 2019.

Com as transições obtidas no presente estudo, foi possível analisar todos os herbicidas de interesse. Os dois fragmentos (íons produtos) mais intensos foram utilizados nas transições de quantificação e confirmação, como já demonstrado em estudos anteriores (UE, 2016).

6.1.1 Parâmetros de análise do sistema de espectrometria de massas

As tabelas 11 e 12 trazem os resultados obtidos para os parâmetros otimizados da fonte de ionização ESI. Dentro da perspectiva de racionalização, os métodos foram então agrupados em um mesmo sistema analítico de UPLC-MS/MS. Sendo assim, os resultados apresentados são respectivos aos sistemas de espectrometria de massas SCIEX 3200 QTRAP®.

Tabela 11 - Condição de análise no modo de ionização negativo para o sistema SCIEX 3200 QTRAP®

Parâmetro	Condição
Modo de ionização	ESI negativo
Curtain Gas (CUR) (L/h)	10
Collision Gas (CAD)	High
IonSpray Voltage (IS) (V)	-3500
Temperature (TEM) (°C)	450
Ion Source Gas 1 (GS1) (L/h)	45
Ion Source Gas 2 (GS2) (L/h)	45

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 12 - Condição de análise no modo de ionização positivo para o sistema SCIEX 3200 QTRAP®

Parâmetro	Condição
Modo de ionização	ESI positivo
Curtain Gas (CUR) (L/h)	25
Collision Gas (CAD)	Medium
IonSpray Voltage (IS) (V)	4000
Temperature (TEM) (°C)	450 °C
Ion Source Gas 1 (GS1) (L/h)	35
Ion Source Gas 2 (GS2) (L/h)	45

Fonte: Autor, 2019.

6.1.2 Parâmetros de análise do sistema de cromatografia UPLC-MS/MS

Para a análise de glifosato e seu metabolito AMPA, foi usada a coluna Hypercarb (100 mm x 2.1 µm, partícula de 5 µm) da Thermo Scientific®. Para a análise de paraquate, foi usada a BEH Hilic (100 mm x 2.1 µm, partícula de 1,7 µm) da Acquity UPLC®. Para análise de ametrina, atrazina, diurom e tebutiurom, foi usada uma BEH C18 (100 mm x 2.1 µm, partícula de 1,7 µm) da Acquity UPLC®, apresentando resultados semelhantes aos já demonstrados em estudos anteriores (EU, 2019). A escolha da fase móvel do glifosato e seu metabolito AMPA, ametrina, atrazina, diurom e tebutiurom foram feitas com base na disponibilidade do laboratório, onde metanol e água ultrapura foram testados em diferentes proporções com a finalidade de se obter o melhor formato de pico e intensidade de sinal analítico. Da mesma forma, foram testados o formiato de amônio e a acetonitrila para a fase móvel do paraquate.

As tabelas 13, 14 e 15 trazem as condições de análise para o sistema Nexera X2 (KOLBERG, 2012; UE, 2019).

Tabela 13 - Condição de análise de Glifosato e seu metabolito AMPA para o sistema Nexera X2

Coluna	Hypercarb 2.1 x 100 mm 5 µm
Pré-coluna	Hypercarb Guard 2.1 x 10 mm 5 µm ou C18 4 x 3 mm Phenomenex
Temperatura da coluna	40 °C
Eluente A	Solução de ácido acético 1 % em água + 5 % de metanol
Eluente B	Solução de ácido acético 1 % em metanol
Fluxo	0,4 mL.min ⁻¹
Volume de injeção	5 µL
Isocrático	90 % Eluente A / 10 % Eluente B

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 14 - Condição de análise de Paraquate para o sistema Nexera X2

Coluna	<i>Acquity UPLC® BEH Hilic</i> 2.1 x 100 mm 1,7 µm	
Pré-coluna	<i>Acquity UPLC® BEH Hilic</i> Guard 2.1 x 5 mm 1,7 µm	
Temperatura da coluna	40 °C	
Eluente A	Solução de formiato de amônia 150 mM + 5 % de ácido fórmico + 5 % de metanol	
Eluente B	Acetonitrila	
Fluxo	0,4 mL.min ⁻¹	
Volume de injeção	5 µL	
Gradiente	% A	Tempo (min)
	100	0
	80	3.1
	80	7.0
	20	7.1
	100	9.0

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 15 - Condição de análise de Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurrom para o sistema Nexera X2

Coluna	<i>Acquity UPLC® BEH C18 2.1 x 100 mm 1,7 µm</i>	
Pré-coluna	<i>Acquity UPLC® BEH C18 2.1 x 5 mm 1,7 µm</i> Phenomenex	
Temperatura da coluna	40 °C	
Eluente A	Solução de formiato de amônia 5 mM + 0,1 % de ácido fórmico + 5 % de metanol	
Eluente B	Solução de ácido fórmico 0,1 % em metanol	
Fluxo	0,35 mL.min ⁻¹	
Volume de injeção	2 µL	
Gradiente	% A	Tempo (min)
	90	0
	90	0.3
	0	8.0
	90	8.5
	90	9.0

Fonte: Autor, 2019.

Os picos cromatográficos apresentaram simetria adequada e tempo de retenção fora do volume morto o que é fundamental em análises cromatográficas.

6.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE

Todos os resultados obtidos atenderam aos critérios de desempenho analítico estabelecidos no SANTE (2017). O método demonstrou ser seletivo, pois não apresentou sinais analíticos de interferentes no branco da matriz no mesmo tempo de retenção dos analitos de interesse. A presença de picos interferentes da matriz foi inferior a 30 % daquele obtido no menor nível de calibração, que foi de 25 µg L⁻¹.

Para todos os herbicidas estudados as curvas analíticas apresentaram ajuste linear na faixa estudada e com coeficiente de determinação $r^2 \geq 0,9998$. As recuperações obtidas variaram de 99,2 – 116,8 %. A precisão do método validado apresentou-se inferior a 20% para todos os coeficientes de variação (CV %) com faixa variando de 1,8 – 10,8%. Para os 7 herbicidas a sensibilidade para injeção direta foi

satisfatória para quantificação dos resíduos, descartando a necessidade *clean up* e/ou concentração das amostras de água.

A precisão e as recuperações foram determinadas em dois dias, analisando amostras em branco fortificadas ($n = 6$) nos níveis de 25, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. O LOD e LOQ do método foi estimado experimentalmente através da injeção de amostras com concentrações decrescentes e determinadas através de concentrações do analito que fornece uma relação sinal / ruído (S/N) de três e dez, respectivamente.

Os herbicidas estudados apresentaram efeito matriz baixo (menor que 20 %). Mesmo assim para maior confiabilidade dos resultados foi realizada a calibração com o extrato branco de água de acordo com o recomendado em SANCO, 2012.

Os valores de limite de quantificação para atrazina está abaixo do valor máximo permitido pela Portaria do MS 2914/11 de 12/12/2011 e, na mesma ordem de grandeza para os que não constam na mesma, como a ametrina, paraquate e tebutiurom.

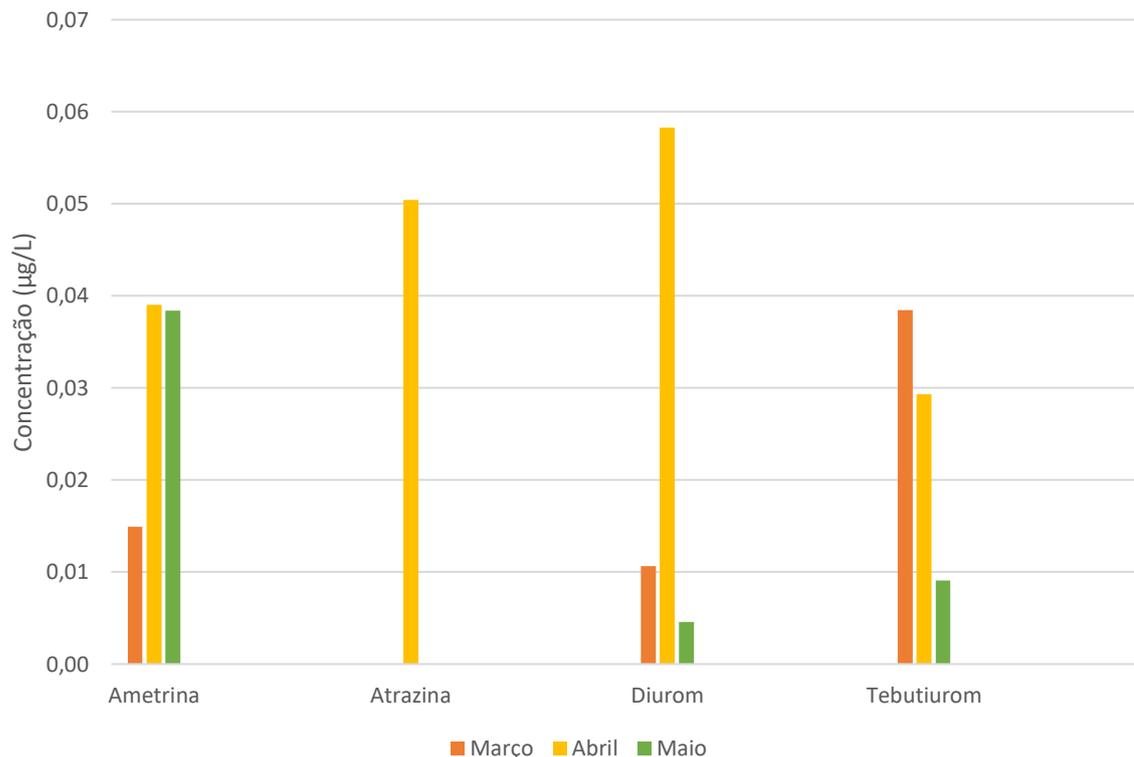
O método proposto para determinação de herbicidas em amostras de água mostrou ser sensível, rápido e confiável.

6.3 DETERMINAÇÃO DE HERBICIDAS EM ÁGUA

Estudo realizado ao longo da bacia do Rio Goiana, observou a presença da Atrazina no nível mais alto na área onde está localizado o Rio Capibaribe Mirim e a presença do Diurom no nível mais alto na área onde está localizado Três Bocas, evidenciando valores significativamente mais altos destes herbicidas no mês de abril.

Ainda que tenha sido observada a falta de variação sazonal, os níveis detectados de Ametrina variaram em média 10 a 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ (março-maio/2019), os níveis de Tebutiurom variaram em média 10 a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ (março-maio/2019), os níveis de Diurom variaram em média 10 a 140 $\mu\text{g L}^{-1}$ (março-abril/2019) e o nível de Atrazina foi de 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ (abril/2019) (Figura 20).

Figura 20. Variação das concentrações de Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom na água do Rio Goiana, PE nos meses de março a maio de 2019



Fonte: Autor, 2019.

No presente estudo foi detectado níveis de Ametrina e Tebutiurom em 50 % das amostras, sendo que em 17 % das amostras os níveis estavam abaixo do limite de quantificação do método. Os níveis detectados para a Ametrina e o Tebutiurom são preocupantes, uma vez que não existem limites estabelecidos para esses compostos.

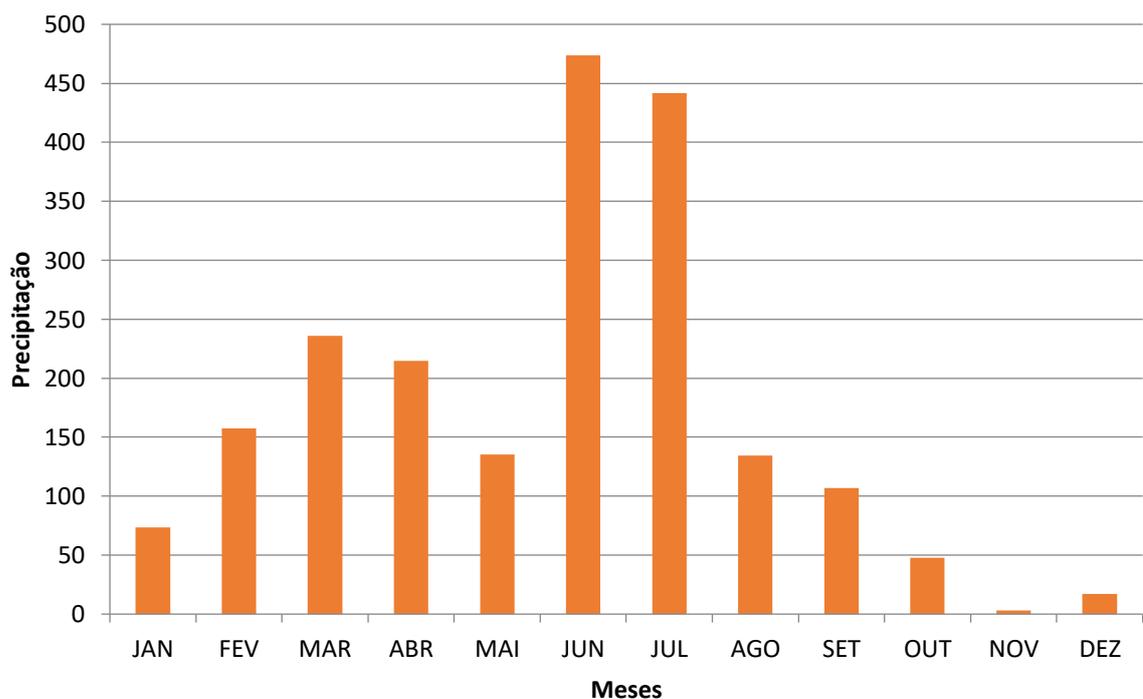
Foi detectado níveis de Diurom em 39 % das amostras, sendo que em 33 % das amostras os níveis estavam abaixo do limite de quantificação do método e em 6 % das amostras os valores detectados estavam acima do VMP estabelecido. Foi detectado níveis de Atrazina em 6 % das amostras, todos com valores acima do VMP estabelecido.

Segundo a revisão sistemática realizada por Dias et al. (2018) sobre a ocorrência de Atrazina em água no Brasil, o nível mais alto detectado para Atrazina foi de $10,4 \mu\text{g/L}^{-1}$, sendo assim necessário realizar nova análise nas três áreas de captação: Rio Tracunhaém, Três Bocas e Rio Capibaribe Mirim, para a confirmação

do resultado encontrado, pois o valor detectado está muito acima do VMP estabelecido.

Corroborando com os resultados obtidos com o presente estudo, a ocorrência de Atrazina, Ametrina, Diurom e Tebutiurrom nas águas do Rio Goiana foi mais evidente nos primeiros meses de cultivo da cana-de-açúcar, período chuvoso da região. Contudo, nos meses de junho e julho, que apresentaram o maior índice pluviométrico (Figura 21) não foi detectada a presença destes herbicidas.

Figura 21 – Histograma de precipitação pluviométrica de Goiana em 2019



Fonte: IPA (2019).

No presente estudo, vimos a relação do índice pluviométrico com os teores de agrotóxicos detectados nas amostras de água, com maior concentração de Ametrina nos meses de abril e maio e Tebutiurrom que apresentou a maior concentração nos meses de março e abril, isso também pode ser atribuído ao escoamento superficial e a capacidade de lixiviação.

Diante do exposto aos reflexos envolvendo as mudanças climáticas, o estudo realizado por Santos, Galvíncio e Moura (2013) observaram que os meses com maiores índices pluviométricos sobre a bacia são: março, abril, maio, junho, julho,

agosto e setembro e que a diferença do escoamento superficial pode ser justificada devido à disponibilidade de água do segundo semestre em relação ao primeiro.

Estudos realizados ao longo da bacia hidrográfica do Rio Jiménez, Costa Rica e do Rio Guadalquivir, Espanha, confirmam os resultados obtidos devido a contaminação por herbicidas ao longo da margem do rio afetando os ecossistemas (ECHEVERRÍA-SÁENZ et al., 2012; HERMOSIN et al., 2013).

Estudos semelhantes foram relatados por Azevedo, Gerchonn e Reis (2004), no Rio Paraíba do Sul (RJ), no qual o herbicida Atrazina foi detectada em uma concentração média de $0,231 \mu\text{g L}^{-1}$ em áreas próximas à lavoura de cana-de-açúcar, onde o herbicida é bastante utilizado. Jacomini et al. (2010) avaliaram a contaminação dos Rios Sapucaí, Pardo e Mogi-Guaçu e foi observada a presença de Ametrina em uma concentração de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, próximos a locais de cultivo de cana-de-açúcar.

Em estudo realizado por Ferreira et al. (2016), na Bacia do Rio Ipojuca, Pernambuco, foram observados a presença de Diurom e Ametrina nas amostras de água, em níveis que variaram de $0,01$ a $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$, evidenciando níveis mais altos durante o período chuvoso.

Segundo Britto et al. (2012), observaram a presença de Diurom e Ametrina na água do Rio Poxim, Sergipe, durante o período chuvoso em níveis variando de $0,03$ a $0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,03$ a $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Muendo et al. (2012), investigaram a presença de Diurom nas águas do Rio Kuywa, Quênia, próximas a áreas de cultivo de cana-de-açúcar em níveis variando de $0,44$ a $1,75 \mu\text{g L}^{-1}$ durante o período de chuvas fortes.

Diante do exposto, os herbicidas Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurom são inibidores da fotossíntese, parcialmente solúveis em água, sendo a Atrazina a mais usada e tem sido a mais encontrada, por possuir amplo espectro de ação, por ser seletiva e por seu poder de lixiviação podendo atingir águas subterrâneas (ROMAN, et al., 2005).

Segundo estudo realizado por Oliveira et al. (2013) a detecção dos herbicidas em água subterrânea e superficial é devido a sua mobilidade e biodegradação no sistema água-solo, além das características da matéria orgânica.

Em geral, quanto maior a solubilidade das moléculas maior a facilidade do transporte dos herbicidas até os cursos do rio. Em regiões tropicais, a ocorrência de chuvas em alguns períodos, faz com que os herbicidas sejam facilmente carregados

apresentando grande potencial de contaminação ambiental (MARCHESAN; SARTORI; AVILA, 2010).

Com relação as análises realizadas, não foram detectados os herbicidas Glifosato, AMPA e Paraquate em nenhuma das amostras coletadas.

Segundo Dores e De-lamonica-freire (2001) a concentração dos agrotóxicos nas águas é baixa, devido ao efeito de diluição e ao fato de serem pouco solúveis em água. Contudo, existe a possibilidade de ter altas concentrações devido a alguns fatores, como a aplicação de agrotóxicos em concentrações altas depois de ocorrer um volume de chuva intenso.

7 CONCLUSÃO

Método de análise foi adequado para a determinação de herbicidas do presente estudo apresentando critérios de desempenho compatíveis com o SANTE, 2017;

Foram observados a presença dos herbicidas Ametrina, Atrazina, Diurom e Tebutiurum, no período de março a maio/2019;

Não foi evidenciada a presença em nenhuma das amostras analisadas dos herbicidas Glifosato, AMPA e Paraquate;

No período de junho a agosto/2019 não foram encontrados resíduos dos herbicidas estudados;

Com base nos resultados encontrados, é necessário o monitoramento ambiental para avaliar a contaminação por herbicidas nas águas dos rios brasileiros e o impacto causado ao meio ambiente.

7.1 PERSPECTIVAS

Contribuir nas discussões sobre a contaminação ambiental por agrotóxicos nas águas dos rios do Brasil;

Investigar a ocorrência de herbicidas no período não chuvoso (setembro a fevereiro) e correlacionar com o período chuvoso (março a agosto);

Realizar o monitoramento da contaminação das águas superficiais por agrotóxicos;

Publicar artigos científicos.

REFERÊNCIAS

AB SCIEX 3200 Series of Instruments. System User Guide. Document Number: RUO-IDV-05-0263-A. Canadá, 2013.

ALAVANJA, M. C.; HOPPIN, J. A.; KAMEL, F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu. Rev. Public Health* 25, p. 155-197, 2004.

AMARANTE JUNIOR, O. P. *et al.* Métodos de extração e determinação do herbicida glifosato: breve revisão. *Química Nova*, v. 25, n. 3, p.420-428, maio 2002.

AMARANTE JUNIOR, O. P.; SANTOS, T. C. R. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Química Nova*, v. 25, n. 4, p.589-593, jul. 2002.

ANA. Agência Nacional de Águas. Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras. Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas e Efluentes Líquidos. Brasília, 2011.

ANASTASSIADES, M. *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, v. 86, n. 2, p. 412–431, 2003.

ANASTASSIADES, M. *et al.* Quick Method for the Analysis of numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS. 2016.

ANDRADE, G. C. R. M. Análise multi-resíduos de pesticidas em tomate utilizando LC-MS/MS e avaliação dos efeitos de lavagem na descontaminação [tese]. [Piracicaba]: Universidade de São Paulo; p. 133, 2013.

ANDRADE, G. C. R. M. *et al.* Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and dynamic multiple reaction monitoring method for determining multiple pesticide residues in tomato. *Food Chemistry*, v. 175, p. 57-65, 2015.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Reavaliação toxicológica do ingrediente ativo glifosato. Brasília, 2019.

AQUINO NETO, F. R., NUNES, D. S. S. *Cromatografia: princípios e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência, p. 188, 2003.

ARAGÃO, N. M.; VELOSO, M. C. D. C.; De ANDRADE, J. B. Validação de métodos cromatográficos de análise- Um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida DE alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. *Química Nova*, v. 32, n. 9, p. 2476–2481, 2009.

ARAÚJO, I. M. M. de; NASCIMENTO, M. M. B.; OLIVEIRA, A. G. R. da C. Recursos hídricos e saúde humana: impactos industriais e estratégias de manejo e proteção ambiental no município de Goiana/PE. *Revista Internacional Interdisciplinar Interthesis*, v. 13, n. 3, p. 163-181, 2016.

ASSALIN, M. R. *et al.* Multiresíduos de pesticidas em água por injeção direta e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. 2017.

ASSIS, J. S. *et al.* Racionalização de uso de agrotóxicos na PI-Manga. In. VIII Seminário de Produção Integrada de Frutas, Vitória, ES, Anais. p. 160-161, 2006.

AZEVEDO, D. de A.; GERCHON, E.; REIS, E. O. dos. Monitoring of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in water from Paraíba do Sul River, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 15, n. 2, p. 292-299, 2004.

BARRETO, F. M. D. S. Contaminação da Água Subterrânea por pesticidas enitrato no Município de Tianguá, Ceará. 2006. 166p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

BEDENDO, G. C., JARDIM, I. C. S. F., CARASEK, E. Multiresidue determination of pesticides in industrial and fresh orange juice by hollow fiber microporous membrane liquid-liquid extraction and detection by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta*, v. 88, p. 573–580, 2012.

BEZERRA, A. C. V. *et al.* Condições Sanitárias no Município de Goiana–PE: construindo um diagnóstico com a participação das comunidades. *Divulgação em Saúde para Debate*, v. 50, p. 48–56, 2013.

BLAIR, A. *et al.* Pesticides and human health. *Occup. Environ. Med.* 72, p. 81-82, 2015.

BOMBARDI, L. M. Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia. Laboratório de Geografia Agrária – FFLCH – USP. São Paulo, 2017.

BRASIL. Agência Estadual de Meio Ambiente. Controle Ambiental, resultado Monitoramento Bacias, Bacia do Rio Goiana. Pernambuco, CPRH, 2016.

BRASIL. Agência Estadual de Meio Ambiente. Controle Ambiental, resultado Monitoramento Bacias, Bacia do Rio Goiana. Pernambuco, CPRH, 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, Seminário: Mercado de Agrotóxicos e Regulação. UFPR. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2019.

BRASIL. Decreto n. 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n. 7.802/89 (lei federal dos agrotóxicos). Brasília, *Diário Oficial da União*, 8 jan. 2002.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília: matos, 2016.

BRASIL. Lei n. 7.802, de 11 de julho de 1989 (lei federal dos agrotóxicos). Brasília, *Diário Oficial da União*, 11 jul. 1989.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários - AGROFIT. Brasília: MAPA, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2019.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Brasília: MMA, 2018.

BRASIL. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. 2004.

BRASIL. Portaria n. 2914, de 12 de dezembro de 2011. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. 2011.

BRASIL. RDC n. 177, de 21 de Setembro de 2017. ANVISA. Brasília, *Diário Oficial da União*, 22 set. 2017.

BRASIL. Resolução CONAMA 357 de 17 de março de 2005. Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Sindicato Nacional da Industria de Produtos para Defesa Vegetal. A importância dos defensivos agrícolas. SINDIVEG, 2017.

BUCCI, M. M. H. S. *et al.* Análise de metais, agrotóxicos, parâmetros físico-químicos e microbiológicos nas águas da Represa Dr. João Penido, Juiz de Fora, MG. *Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, v. 10, n. 4, Taubaté, 2015.

BRASIL. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF.

BRASIL. Lei nº 9.433, de 08 de janeiro de 1997. Dispõe sobre a Política Nacional de Recursos Hídricos. Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF.

BRASIL. MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE). Secretaria de Vigilância Sanitária. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 1997.

BRITTO, F. B.; VASCO, A. N. do; PEREIRA, A. P. S. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. *Revista ciência agrônômica*, v. 43, n. 2, p. 390-398, 2012.

CABRAS, P. *et al.* Fenhexamid residues in grapes and wine. *Food Additives & Contaminants*, v. 18, p. 625–629, 2001.

- CALHEIROS, D. F.; OLIVEIRA, M. D.; DOLORES, E. F. G. Poluição por pesticidas, nutrientes e material em suspensão nos rios formadores do Pantanal Matogrossense. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, p. 4, 2006.
- CARMO, D. A. *et al.* Comportamento ambiental e toxicidade dos herbicidas atrazina e simazina. *Amби-Agua*, Taubaté, v. 8, n. 1, p. 133-143, 2013.
- CARNEIRO, F. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo, 2015.
- CHEN, J.; DUAN, C.; GUAN, Y. Sorptive extraction techniques in sample preparation for organophosphorus pesticides in complex matrices. *Journal Of Chromatography B*, [s.l.], v. 878, n. 17-18, p.1216-1225, maio 2010.
- CHIARADIA, M. C., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada a espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química Nova*, v. 31, n. 3, p. 623-36, 2008.
- CROTTI, A. E. M. *et al.* Espectrometria de massas com ionização por: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. *Química Nova*, [s.l.], v. 29, n. 2, p.287-292, abr. 2006.
- CULLINGTON, J. E; WALKER, A. Rapid biodegradation of diuron and other phenylurea herbicides by a soil bacterium. *Soil Biol. Biochem.*, v. 31, p. 677-686, 1999.
- DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, [s.l.], v. 18, n. 12, p.1296-1301, dez. 2014.
- DIAS, A. C. L. *et al.* Ocorrência de atrazina em águas no Brasil e remoção no tratamento da água: revisão sistemática. *Revista Internacional de Ciências*, v. 08, n. 02, p. 234-253, 2018.
- DORES, E. F. G. de C.; De-Lamonica-Freire, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso—análise preliminar. *Química Nova*, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.
- Dos SANTOS, K. C.; MARTINEZ, C. B. R. Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup®, alone and in combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 100, p. 7-14, 2014.
- DUKE, T. W. Estuarine pesticide Research. In: PROCEEDINGS OF THE GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE, 22., 1970, Florida. Proceedings...Gulf Breeze: Gulf And Caribbean Fisheries Institute, p. 146 – 153, 1970.
- ECHEVERRIA-SAENZ, S. *et al.* Environmental hazards of pesticides from pineapple crop production in the Río Jiménez watershed (Caribbean Coast, Costa Rica). *Science of the Total Environment*, v. 440, p. 106-114, 2012.

EDISON, S. E. *et al.* Surface swabbing technique for the rapid screening for pesticides using ambient pressure desorption ionization with high-resolution mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, [s.l.], v. 25, n. 1, p.127-139, 14 dez. 2010.

EISLER, R. *Handbook of Chemical Risk Assessment. Volume 2.* Lewis Publishers, 2000.

EU. Reference Laboratories for Residues of Pesticides. Single Residues Methods. Quick Method for the Analysis of Numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS/MS Involving Simultaneous Extraction with Methanol (QuPPE-Method) I. Food of Plant Origin (QuPPE-PO-Method). v. 10, p. 31-33, 2019.

FAO/WHO, 2018. Risk Based Imported Food Control Manual. World Health Organization (WHO). Roma.

FARAJZADEH, M. A; FERIDUNI, B.; MOGADDAM, M. R. A. Development of counter current salting-out homogenous liquid-liquid extraction for isolation and preconcentration of some pesticides from aqueous samples. *Analytica Chimica Acta*, [s.l.], v. 885, p.122-131, jul. 2015.

FERREIRA, A. C. de B.; LAMAS, F. M.; PROCÓPIO, S. de O. Sintomas de Fitotoxidez de Herbicidas no Algodoeiro. Ministério da agricultura. EMBRAPA, 2007.

FERREIRA, A. da S. G. et al. Occurrence and spatial-temporal distribution of herbicide residues in the Ipojuca River sub-basin, Pernambuco, Brazil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 20, n. 12, p. 1124-1128, 2016.

FERRI, M. V. W.; VIDAL, R. A. Controle de plantas daninhas com herbicidas cloroacetamidas em sistemas de plantio convencional e de semeadura direta. *Planta Daninha*, v. 21, n. 1, p. 131-136, 2003.

FILHO, R. V.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Manejo de plantas daninhas e produtividade da cana. *Visão Agrícola*. n.1, p.32-37, 2004.

FOSTER, S. *et al.* Protección de la Calidad del Agua Subterránea - guía para empresas de agua, autoridades municipales y agencias ambientales. Washington, D.C: Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento/Banco Mundial, 2002.

FRANCONERE R. Mercado de herbicidas na cultura da cana-de-açúcar [dissertação]. São Paulo: Escola de Economia de São Paulo, Fundação Getúlio Vargas, p. 54, 2010.

GALLI, A. J. B.; MONTEZUMA, M. C. Alguns aspectos da utilização do herbicida glifosato na agricultura. Monsanto do Brasil Ltda. ACADCOM Gráfica e editora Ltda. 2005.

GASKELL, S. J. Electrospray: Principles and Practice. *Journal Of Mass Spectrometry*, [s.l.], v. 32, n. 7, p.677-688, jul. 1997. Wiley-Blackwell.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological risk assessment for roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, New York, v.167, n.1, p.35-120, 2000.

GONÇALVES, M. S. Uso sustentável de pesticidas. Análise comparativa entre a União Europeia e o Brasil. Tese. Doutorado em em Ciências do Ambiente. Departamento de Biologia Vegetal. Faculdade de Ciências. Universidade de Lisboa, 2016.

HAMADI, N.K. *et al.* Adsorption of Paraquat dichloride from aqueous solution of activated carbon derived from used tires. *Journal of Hazardous Materials*, v. B112, p. 133-141, 2004.

HERMOSIN, M. C. *et al.* Impact of herbicides used in olive groves on waters of the Guadalquivir river basin (southern Spain). *Agriculture, ecosystems & environment*, v. 164, p. 229-243, 2013.

ICMBio/PNUD. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Diagnóstico Socioambiental, junto às Populações Tradicionais Beneficiárias da RESEX para subsidiar o Processo de Formação do Conselho Deliberativo da Reserva Extrativista. Brasil: Ministério do Meio Ambiente. P. 142, 2012.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos: DOQ-CGCRE-008. Brasília, 2010.

ISMAEL, L. L.; ROCHA, E. M. R. Estimativa de contaminação de águas subterrâneas e superficiais por agrotóxicos em área sucroalcooleira, Santa Rita/PB, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, [s.l.], v. 24, n. 12, p.4665-4676, dez. 2019.

JACOMINI, A. E. *et al.* Assessment of ametryn contamination in river water, river sediment, and mollusk bivalves in São Paulo State, Brazil. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 60, n. 3, p. 452-461, 2010.

KOLBERG, D. *et al.* Development and independent laboratory validation of a simple method for the determination of paraquat and diquat in potato, cereals and pulses. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [s.l.], v. 404, n. 8, p.2465-2474, 1 set. 2012.

KOPYTKO, M; CHALELA, G; ZAUSCHER, F. Biodegradation of two commercial herbicides (Gramoxone and Matancha) by the bacteria *Pseudomonas putida*. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, v. 5, n. 2, 2002.

KUMAR, N. *et al.* Harmful effects of pesticides on human health. *Ann. Agri. Bio. Res.* 17, p. 125-127, 2012.

LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography–mass spectrometry-based techniques: a review. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [s.l.], v. 389, n. 6, p.1663-1683, 1 jun. 2007.

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

LANÇAS, F. M. Cromatografia Líquida com Interação Hidrofílica (HILIC). *Scientia Chromatographica*, [s. L.], v. 2, n. 1, p.49-57, jun. 2010.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente. *Scientia Chromatographica*, [s.l.], v. 5, n. 1, p.27-46, 2013. Editora Cubo Multimedia.

LAUMANN, V. Pesticide and Health Hazards: Facts and Figures. Pesticide Action Network International, Hamburg, Germany, 2012.

LAWAL, A. et al. Multi-pesticide Residues Determination in Samples of Fruits and Vegetables Using Chemometrics Approach to QuEChERS-dSPE Coupled with Ionic Liquid-Based DLLME and LC–MS/MS. *Chromatographia*, [s.l.], v. 81, n. 5, p.759-768, 6 abr. 2018. Springer Nature.

LEONG, W. *et al.* Application, monitoring and adverse effects in pesticide use: The importance of reinforcement of Good Agricultural Practices (GAPs). *Journal Of Environmental Management*, [s.l.], v. 260, p.1-12, abr. 2020.

LI, Y. & YUAN, T. Detection of pyrethroid pesticide residues in concentrate juice. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, v. 18, p. 1774–1775, 2008.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O Estado da Arte da Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência. *Quím. Nova*, v.32, n.1, p. 214-222. 2009.

MANNING-BOG, A. B. *et al.* The herbicide Paraquat causes up-regulation and aggregation of B1-synuclein in Mice. *Journal of Biological*, Baltimore, v. 277, p. 1641-1644, 2002.

MARCHESAN, E.; SARTORI, G. M. S.; AVILA, L. A. de. Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 40, n. 5, p. 1053-1059, 2010.

MARTINS, T. Herbicida Paraquat: conceitos, modo de ação e doenças relacionadas. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, [s.l.], v. 34, n. 2, p.175-183, 21 dez. 2013. Universidade Estadual de Londrina.

MASTERS, B. *et al.* Reducing the risk of herbicide runoff in sugarcane farming through controlled traffic and early-banded application. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 180, p. 29-39, 2013.

MATOS, F. da S. de. Determination of glyphosate and AMPA in water samples by direct injection in capillary Ion Chromatography and LC-MS/MS. *Rio Grande do Sul*, p.23-25, 2014.

MATTOS, M. L. T. *et al.* Monitoramento ambiental do glyphosate e do seu metabólito (ácido aminometilfosfônico) na água de lavoura de arroz irrigado. *Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, Curitiba, v.12, n. 1, p.145-154, 2002.

MATUSZEWSKI, B. K. Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC-MS bioanalysis. *Journal of Chromatography B*, v.830, p. 293-300, 2006.

MESQUITA, J. L. *Resex Acaú-Goiana*. 2015. <https://marsemfim.com.br/resex-acau-goiana>.

MORAES, P.V.D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.9, n. 3, p. 22-35, 2010.

MOREIRA, J. C. *et al.* Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. *Ciência & Saúde Coletiva*, vol. 7, n. 2, p. 299-311, 2002.

MUENDO, B. M.; LALAH, J. O.; GETENGA, Z. M. Behavior of pesticide residues in agricultural soil and adjacent River Kuywa sediment and water samples from Nzoia sugarcane belt in Kenya. *The environmentalist*, v. 32, n. 4, p. 433-444, 2012.

OLIVEIRA, J. L. M. *et al.* Environmental behavior and toxicity of herbicides atrazine and simazine. *Ambiente e Agua-An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, v. 8, n. 1, p. 133-143, 2013.

OKADA, E. *et al.* A simple and rapid direct injection method for the determination of glyphosate and AMPA in environmental water samples. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, [s.l.], v. 411, n. 3, p.715-724, 10 dez. 2018.

PASUPULETI, Raghavendra Rao; TSAI, Pei-chien; PONNUSAMY, Vinoth Kumar. A fast and sensitive analytical procedure for monitoring of synthetic pyrethroid pesticides' metabolites in environmental water samples. *Microchemical Journal*, [s.l.], v. 148, p.355-363, jul. 2019. Elsevier BV.

PATUSSI, C.; BUNDCHEN, M. Avaliação in situ da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de Tradescantia clone 4430. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 18, p. 1173-1178, 2013.

PEALEZ, V. *et al.* A (des)coordenação de políticas para a indústria de agrotóxicos no Brasil. *Revista Brasileira de Inovação*. Campinas/SP, v. 14, p. 153-178, 2015.

PEÑAHERRERA-COLINA, L. A. *et al.* Persistência biológica de ametryn, diuron e oxyfluorfen no solo. *Ciênc. Agrotec.*, Lavras, v. 29, n. 5, p. 980-987, set./out., 2005.

PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, [s.l.], v. 64, n. 1, p.1-15, jan. 2009.

PERON, A. P. *et al.* Ação tóxica do herbicida paraquat sobre o homem. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, v. 7, n. 3 set./dez. 2003.

PESTICIDEINFO, <http://www.pesticideinfo.org>. 2008.

PIGNATI, W. A. *et al.* Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

POIGER, T. *et al.* Occurrence of the herbicide glyphosate and its metabolite AMPA in surface waters in Switzerland determined with on-line solid phase extraction LC-MS/MS. *Environmental Science And Pollution Research*, [s.l.], v. 24, n. 2, p.1588-1596, 27 out. 2016. Springer Nature.

POSE-JUAN, E. *et al.* The dissipation rates of cyprodinil, fludioxonil, procymidone and vinclozoline during storage of grape juice. *Food Control*, v. 17, p. 1012–1017, 2006.

PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. *Scientia Chromatographica*, [s.l.], v. 3, n. 1, p.51-64, 2011.

PRITCHARD, D. W. What is an estuary: Physical viewpoint. In: Lauff, G.H. (ed.), *Estuaries*, pp.3-5, American Association for the Advancement of Science, Washington, DC, EUA.1967.

RAMOS, A. de S.; OLIVEIRA, V. de P. S. de; ARAÚJO, T. M. de R. Qualidade da água: parâmetros e métodos mais utilizados para análise de água de recursos hídricos superficiais. *Holos Environment*, [s.l.], v. 19, n. 2, p.205-219, 1 jul. 2019.

REBELO, A. M. Desenvolvimento e validação de método analítico, via LC-ESI-MS/MS, para determinação de agrotóxicos em arroz irrigado (*Oryza sativa*, L.) [tese]. [Curitiba]: Universidade Federal do Paraná, p. 220, 2014.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-789, 2004.

ROMAN, E. S. Como funcionam os herbicidas: da biologia à aplicação. Berthier, 2007.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal Of Chromatography A*, [s.l.], v. 885, n. 1-2, p.217-236, jul. 2000.

SAMSIDAR, A.; SIDDIQUEE, S.; SHAARANI, S. Md. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends In Food Science & Technology*, [s.l.], v. 71, p.188-201, jan. 2018.

SANCO (EUROPEAN COMMISSION), Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis, 4ª Edição, Documento N° SANCO/12495/2011, 01 de Fevereiro 2012, Bruxelas, Bélgica. 2012.

SANNINO, A., BOLZONI, L., & BANDINI, M. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 1036, 161–169, 2004.

SANTE. 11813/2017: Method Validation & Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food & Feed. Eu: Dg Sante, 2017. 46 p. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945.pdf>. Acessado em: 05 mar. 2018.

SANTOS, A. M., GALVÍNCIO, J. D., MOURA, M. S. B. Mudanças climáticas e o escoamento superficial na bacia hidrográfica do rio Goiana-Pernambuco-Brasil. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, n. 81, p. 51-65, 2013.

SANTOS, E. A. Contaminação por herbicidas em corpos hídricos da microbacia do Córrego Rico (SP) e aspectos toxicológicos de atrazine a juvenis de *Piaractus mesopotamicus*. 2013. 83p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

SAUR, L. *et al.* Efeitos do envelhecimento na atividade locomotora de *Drosophila melanogaster* como modelo de Parkinsonismo. In: Salão de Iniciação Científica Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul, 10., 2009, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: EDIPUCRS, 2009. p. 283-285

SCRIBNER, E. A. *et al.* Concentration of glyphosate, its degradation product, aminomethylphosphonic acid and glufosinat in ground and surface water, rainfall, and soil samples collected in the United States, 2001-2006. 2007.

SERRA, A.; DOMINGOS, F.; PRATA, M. M. Intoxicação por Paraquat. *Acta Médica Portuguesa*, Lisboa, v. 16, p. 25-32, 2003.

SHARMA, D. *et al.* Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. *Talanta*, [s.l.], v. 82, n. 4, p.1077-1089, 15 set. 2010.

SILVA, A. A.; SILVA, J. F. Herbicidas: comportamento no solo. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa: UFV, cap.5, p. 189-248, 2007.

SILVA, J. M. da; ZINI, C. A.; CAMARÃO, E. B. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de agrotóxicos em sedimentos por cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente com micro detector de captura de elétrons. *Química Nova*, [s.l.], v. 33, n. 3, p.591-597, 2010.

SILVA, C. G. A. da; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H. Hydrophilic Interaction Chromatography (HILIC): State of the Art and Aplications. *Química Nova*, [s.l.], p.210-220, 2016.

SINDAG-Sindicato Nacional de Empresas de Aviação Agrícola. Aplicação aérea funciona? 2012

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOLOMON, K.; THOMPSON, D. Ecological Risk Assessment for Aquatic Organisms from Over-Water Uses of Glyphosate. *Journal Of Toxicology And Environmental Health, Part B*, [s.l.], v. 6, n. 3, p.289-324, jan. 2003. Informa UK Limited.

SOLOMON, K. R. *et al.* Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: a critical review. *Critical reviews in toxicology*, v. 38, n. 9, p. 721-772, 2008.

SOROLLA, M. G. *et al.* Photocatalytic degradation of paraquat using nanosized Cu-TiO₂/SBA-15 under UV and visible light. *Journal of Environmental Sciences*, v. 24, 2012.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. Estudo eletroanalítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultramicroeletrodos. *Química Nova*, São Paulo, v. 26, n. 5, set./out. 2003.

SOUZA, N. R. da S. Desenvolvimento de metodologia para avaliação de resíduos de agrotóxicos em café torrado. 2015. 106 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015

SRINIVASAN, P. Paraquat: a unique contributor to agriculture and sustainable development. Prasanna Srinivasan. India, 2004.

STEINBORN, A. *et al.* Development of a QuEChERS-Based Method for the Simultaneous Determination of Acidic Pesticides, Their Esters, and Conjugates Following Alkaline Hydrolysis. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [s.l.], v. 65, n. 6, p.1296-1305, 7 fev. 2017.

TEÓFILO, R. F. Planejamentos Experimentais para a Otimização da Resposta Voltamétrica na Determinação do Herbicida Glifosato em Solo, Água e Vegetais. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2003.

TIMOFEEVA, I. *et al.* A. On-line insyringe sugaring-out liquid-liquid extraction coupled with HPLC-MS/MS for the determination of pesticides in fruit and berry juices. *Talanta*, v. 167, p. 761–767, 2017.

TSAO, Yun-chen et al. Simultaneous Determination and Quantitation of Paraquat, Diquat, Glufosinate and Glyphosate in Postmortem Blood and Urine by LC–MS–MS. *Journal Of Analytical Toxicology*, [s.l.], v. 40, n. 6, p.427-436, 23 jun. 2016. Oxford University Press (OUP).

USEPA. United States Environmental Protection Agency. The Incorporation of Water Treatment Effects on Pesticide Removal and Transformations in Food Quality Protection Act (FQPA) Drinking Water Assessments. 2018

VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. *Journal Of Chromatography A*, v. 921, n. 2, p.227-236, 2001.

VIDAL, R. A. Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas. Porto Alegre: Palotti, 1997.

WATERS CORPORATION (Estados Unidos). Beginners Guide to UPLC: Ultra-Performance Liquid Chromatography. New Jersey: Wiley, 2014. 56 p.

WHO - World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality. ed. 40. 2017.

ZHANG, L. *et al.* A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. Cent. Eur. J. Chem. 10, p. 900-925, 2012.

ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA A REALIZAÇÃO DE ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA – SISBIO (ICMBIO MMA) N° 69273-1



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 69273-1	Data da Emissão: 16/05/2019 08:07:02	Data da Revalidação*: 16/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA	CPF: 027.084.144-02
Nome da Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coletar amostras de água	04/2019	12/2019

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Karla Patricia de Sousa Barbosa Teixeira	Pesquisadora	007.628.134-58	Brasileira
2	henrique carlos marinho pereira da silva	Pesquisador	032.648.004-89	Brasileira

Observações e ressalvas

1	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa n.º 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0692730120190516

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 69273-1	Data da Emissão: 16/05/2019 08:07:02	Data da Revalidação: 16/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARIA CAROLINA SILVEIRA COSTA SILVA	CPF: 027.084.144-02
Nome da Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Reserva Extrativista Acaú-Goiana	PB	Marinho	Não	Dentro de UC Federal

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Universidade Federal de Pernambuco - UFPE	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa n.º 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0692730120190516

Página 2/3

ANEXO B – DECISÃO EDITORIAL DO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO NA EDIÇÃO DA REVISTA IBEROAMERICANA DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS

[RICA] Decisão editorial

Carlos Eduardo Silva <carlos.eduardo@cbpciencia.com.br>
Para: Maria Carolina Silveira Costa Silva <linacostas@gmail.com>

6 de janeiro de 2020 18:48

Maria Carolina Silveira Costa Silva,

Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, "INVESTIGAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS EM RIOS DA RESERVA EXTRATIVISTA ACAÚ-GOIANA".

É com muita satisfação que informamos que seu artigo foi ACEITO para publicação na edição da **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais (RICA V11 N02 2020)**, QUALIS Referência B1 (2017-2020), para lançamento em até 60 dias após pagamento (com exceção de atraso por falta de quantidade mínima de artigos na edição), da Sustainere Publishing (selo editorial da CBPC - Companhia Brasileira de Produção Científica).



Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais Arquivos Notícias Sobre ▾

QUALIS A4 Em breves

QUALIS Referência 2017-2020 B1



Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais Tarifas Português (Brasil)

Submissões

Submissões

Submissões

Fila Arquivos

Minhas Submissões Designadas 🔍 Buscar Nova Submissão

2020 Maria Carolina Silveira Costa Silva, Henrique Carlos Marinho Pereira da Silva, ... Edição ▾

1 de 1 submissões