

Determinação cromatográfica de multiresíduos de agrotóxicos (atrazina, diuron, clorpirifós, picoxistrobina e tebuconazol) em águas residuais de indústria agroquímica

Chromatographic determination of pesticide multiresidues (atrazine, diuron, chlorpyrifos, picoxistobin and tebuconazole) in wastewater of agrochemical industry

Sérgio Marcos de Lima¹, Maria Cristina Solci²

^{1,2} Universidade Estadual de Londrina (UEL), Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, CEP 86057-970, Campus Universitário, Londrina, Paraná, Brasil.

¹sergiomdlima@hotmail.com, ²solci@uel.br

Resumo

Na produção de agrotóxicos, é preocupante a contaminação cruzada entre os agroquímicos, cuja contaminação pode causar a ineficácia em campo, comprometendo a qualidade do produto. O controle de qualidade e reaproveitamento dos resíduos gerados por indústrias agroquímicas devem fazer uso de técnicas analíticas que garantam a qualidade da água utilizada, descartando a possibilidade de contaminações cruzadas no processo produtivo. Os procedimentos analíticos adotados para esse controle devem ser rápidos e confiáveis, permitindo a determinação de vários compostos com propriedades químicas variadas. Nesta perspectiva, este estudo visou o desenvolvimento e validação de método para a determinação cromatográfica com detecção por espectrometria de massas de atrazina, diuron, clorpirifós, picoxistrobina e tebuconazol em amostras de águas residuais. O método foi validado através da seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão. O método foi seletivo e específico para os analitos com limite de detecção entre 0,01 e 0,07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e de quantificação na faixa de 0,07 e 0,27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A recuperação dos analitos esteve na faixa de 75 e 103 % demonstrando exatidão. A aplicação em amostras de águas residuais demonstrou vantagem analítica em termos de redução de solventes e em equipamentos para a determinação dos cinco compostos de interesse.

Palavras-chave: Pesticidas, Cromatografia de gases, CG-EM, Validação.

Abstract

In the production of pesticides, cross-contamination among agrochemicals is worrying, the contamination of which can cause inefficiency in the field, compromising the quality of the product. Quality control and reuse of waste generated by agrochemical industries should make use of analytical techniques that ensure the quality of the water used, discarding the possibility of cross-contamination in the production process. The analytical procedures adopted for this control must be fast and reliable, allowing the determination of various compounds with varied chemical properties. In this perspective, this study aimed the development and validation of a method for chromatographic determination with mass spectrometric detection of atrazine, diuron, chlorpyrifos, picoxistobin and tebuconazole in wastewater samples. The method was validated through selectivity, linearity, detection and quantification limits, accuracy, and precision. The method was selective and specific for compounds with detection limit between 0.01 and 0.07 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and quantification limit in the range of 0.07 and 0.27 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The compounds recovery was in the range of

75 and 103% demonstrating accuracy. The application in wastewater samples showed analytical advantage in terms of solvents and equipment reduction for the determination of five compounds of interest.

Keywords: Pesticides, Gas Chromatography, GC-MS, Validation.

Introdução

O crescimento demográfico mundial, estimado em 9 bilhões de habitantes em 2050 [1], aumenta a preocupação com a demanda de alimentos para atender esse crescimento. A solução para a agricultura diante do crescimento mundial, foi aumentar a produtividade por hectare [2]. Nessa perspectiva o uso de agrotóxicos vem sendo massivamente aplicados para o controle de pragas (animais e vegetais) e doenças de plantas [3].

O termo agrotóxico também chamados de defensivos agrícolas, biocidas, pesticidas e praguicidas foi introduzido pelas legislações estadual e federal nos últimos anos. Sua classificação quanto à composição química pode ser dividida em três principais grupos: compostos inorgânicos, compostos de origem vegetal e compostos orgânicos. A classificação também pode ser dada considerando à sua ação como inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas e quanto à estrutura química como organoclorados, organofosforados, piretróides, tiocarbamatos, derivados de ureia, entre outros [4].

O controle de agrotóxicos no Brasil envolve um sistema de vários órgãos governamentais em esfera federal, estadual e municipal. O processo de produção e comercialização de agrotóxicos é rigorosamente controlado pela União [5]. O termo fabricante é utilizado para os estabelecimentos que produzem componentes (princípio ativo, produto técnico, matérias primas, ingrediente inertes e aditivos utilizados na fabricação de agrotóxicos e afins). O formulador é quem efetivamente produz os agrotóxicos ou afins. E o manipulador é o estabelecimento autorizado a fracionar e reembalar os agrotóxicos e afins [6].

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

Neste estudo, foram selecionados os compostos em função da necessidade de monitoramento em efluente industrial (água) gerados após a limpeza de tanques e equipamentos durante os processos de produção. Estes agrotóxicos possuem características distintas no aspecto físico-químico como polaridade e volatilidade e essas diferenças de propriedades influenciam na determinação.

A atrazina ($C_8H_{14}ClN_5$) é um herbicida que atua de modo de ação seletiva, sistêmica com atividade residual e foliar. Clorpirifós ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$) é inseticida que pertence à classe dos organofosforados de amplo espectro e acaricida usados para controlar pragas de solo e folhagem [7]. O diuron ($C_9H_{10}Cl_2N_2O$) é um herbicida pré-emergente pertencente à família fenilamida e da subclasse de feniluréia [8]. É conhecido como um herbicida fotossistema II, que atua de modo sistêmico, sendo absorvido pelas raízes, inibindo fortemente a fotossíntese [9]. O princípio ativo picoxistrobina ($C_{18}H_{16}F_3NO_4$) é um fungicida para cereais de amplo espectro usados para controlar ampla gama de doenças, incluindo ferrugem e bolor [7]. O tebuconazol ($C_{16}H_{22}ClN_3O$) é um fungicida eficaz contra várias doenças foliares em cereais e outras culturas agrícolas. Possui ação sistêmica e persistente de 20-25 dias no ambiente [10].

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

Em uma empresa não é viável manter um equipamento para cada formulação, visto que isso dependeria de um espaço físico maior devido ao portfólio diversificado das empresas agroquímicas, sendo assim necessário um planejamento prévio de utilização dos formuladores e uma boa prática de limpeza para revezamento de produção de diferentes agrotóxicos. As vendas sazonais, acordo com as necessidades dos clientes e do campo, permitem que haja a rotatividade entre a produção de produtos durante o ano. Devido a formulação e produção dessas diversidades de agrotóxicos, com propriedades e classes diferentes, surgiu a necessidade de análises multiresiduais do processo de produção, onde é de extrema importância que ocorra a devida descontaminação das linhas produtivas e equipamento entre cada produção. Sem um controle cuidadoso, a contaminação por ingredientes ativos previamente presentes nos equipamentos pode ocorrer e possivelmente causar efeitos adversos em culturas sensíveis e tratadas ou em espécies não alvo, como por exemplo fitotoxicidade [11]. Uma política de prevenção a contaminação deve ser seguida à risca dentro de toda empresa que produza defensivos agrícolas para diminuir os riscos de contaminação cruzada.

A diversidade na fabricação de agrotóxicos e a necessidade de determinar estes contaminantes em

águas residuais decorrentes do processo industrial, laboratórios de controle utilizam diferentes técnicas para acompanhamento dos processos levando ao alto custo nesta etapa industrial. A ausência de técnicas que atendam à determinação em nível de traços dos agrotóxicos produzidos, em única etapa, instigou ao planejamento deste trabalho. Sendo assim, foi escolhida a técnica cromatográfica de gases acoplada à espectrometria de massas a ser validada para a separação e quantificação de específicos agrotóxicos produzidos em empresa local, possibilitando a determinação dos contaminantes em efluentes industriais, reduzindo o número de equipamentos empregados para análise dos agrotóxicos individualmente e consequentemente o consumo de solventes durante a análise.

Experimental

Equipamentos, reagentes e soluções

Empregou-se o cromatógrafo a gás AGILENT modelo 7890B equipado com injetor automático modelo 7693 (Wilmington, Estados Unidos). Utilizou-se coluna analítica capilar de baixa polaridade AGILENT HP5-MS (19091S-433), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 μm . Para a detecção utilizou-se o espectrômetro de massa AGILENT modelo 5977A (Wilmington, Estados Unidos), do tipo *single quadrupole* de ionização por impacto de elétrons a 70 eV com varredura de 1 a 800 m/z. A aquisição de dados e o tratamento dos dados foi realizada pelo *software* OpenLab CDS.

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

Para a filtração das amostras foram utilizados filtros PVDF (WHATMAN) de 0,45 μm . No preparo das soluções utilizou-se vidrarias volumétricas calibradas e certificadas RBC de volume nominal 10, 25 e 50 mL. Foram utilizadas micropipetas de volume variável de 200, 1000 e 5000 μL (BRAND). Foram utilizados frascos de vidro transparentes com tampa e septo de teflon (AGILENT).

A água utilizada nas fortificações foi de poço artesiano e as amostras foram resíduos industriais (água) de lavagem de equipamento e linhas de transferência de produtos da fábrica. Para preparo das soluções empregou-se acetona grau HPLC (MERCK). O gás de arraste foi hélio 99,999% (WHITE MARTINS). Os padrões foram fornecidos por CHEM SERVICE (atrazina 99,1% de pureza e picoxistrobina 98,2%) e DR. EHRENSTORFER (diuron 98,9%, clorpirifós 98,6% e tebuconazol 98,3%). As soluções padrão foram preparadas em acetona, estocadas em freezer, protegidas da luz.

Foram escolhidos dois níveis de concentração para o preparo das fortificações conforme sugerido pela

ABNT [12]. As soluções foram preparadas partindo de uma solução *Mix* contendo todos os padrões, Em seguida foram preparadas 14 soluções independentes sendo 7 amostras para cada nível (nível 1 e nível 2). As 14 soluções foram preparadas pesando-se aproximadamente 500 ± 50 mg de água de poço em balão volumétrico de 10 mL, em seguida adicionado 0,20 mL da solução *Mix* para amostras de recuperação nível 1 e 0,30 mL para as amostras de recuperação nível 2 e aferido com acetona.

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

Tabela 1 - Concentração dos analitos na solução *Mix* e nas amostras de fortificação nível 1 (N1) e nível 2 (N2).

Padrões	atrazina	diuron	clorpirifós	picoxistrobina	tebuconazol
Conc. na solução <i>Mix</i> ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	6,82	8,30	7,49	8,25	7,39
Conc. fortificação N1	0,27	0,33	0,30	0,33	0,30
Conc. fortificação N2	0,41	0,50	0,45	0,50	0,44

Preparo de amostras

As amostras foram coletadas em frascos PET (polietileno tereftalato) de 250 mL, decorrentes da limpeza e descontaminação de equipamentos e linhas de transferência após o término e/ou troca de produção entre produtos. As amostras são de matriz em água e foram estocados em freezer e protegidas da luz. Para as análises foram pesados 5 g de amostra em balão volumétrico de 10 mL e aferido o volume com acetona. Cada amostra foi filtrada em filtro PVDF (fluoreto de polivinilideno) de $0,45 \mu\text{m}$ e injetada do equipamento.

Otimização das variáveis cromatográficas

A otimização de separação e identificação dos compostos foi realizada através de injeções individuais de cada composto de concentração $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ no modo *Scan* (Varredura de massas) com varredura de espectro de 50 a 600 m/z. Para identificação dos compostos, após a aquisição dos espectros de massas das soluções individuais, os espectros foram enviados para a biblioteca (NIST 14) do *software* do equipamento para a confirmação e escolha dos seus respectivos íons moleculares, onde os dois de maior intensidade de cada componente foram monitorados pelo método proposto. Programação da rampa de temperatura do forno

O equipamento utilizado para o estudo foi validado de acordo com o programa de garantia da qualidade atendendo os requisitos da ISO 17025 [13]. O equipamento possui programa de manutenção preventiva, verificações e calibrações periódicas.

Validação do método

Após a otimização das condições de separação e detecção, a validação do método foi realizada de acordo com os critérios de validação conforme estabelecido na norma ABNT [12]. Desta forma os parâmetros selecionados para a validação do método de análise de pesticidas em efluente industrial foram seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão/recuperação, repetitividade e precisão.

Linearidade e curvas analíticas

A linearidade e as curvas analíticas foram obtidas através do preparo das soluções analíticas de concentração 0,07 a 0,33 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Cada solução padrão foi injetada 2 vezes no cromatógrafo, os dados foram processados automaticamente pelo *software* de aquisição de dados do próprio equipamento. Após definidos os parâmetros de identificação dos compostos e as faixas de concentrações, todas as análises foram processadas pelo software do equipamento onde foram obtidos os gráficos de resposta analítica versus concentração e a equação da reta de regressão do modelo linear. A faixa de aplicação foi definida em função da linearidade e dos limites de quantificação e detecção do método.

Seletividade

A seletividade do detector de espectro de massa é considerada de alta seletividade e especificidade, ela é definida como a habilidade do método para determinar com acuracidade e especificidade o analito de interesse na presença de outros componentes em uma matriz de amostra. Seguindo critérios da ABNT [12] foi avaliada a presença de interferentes no sinal analítico de interesse. A avaliação ocorreu da seguinte forma: examinando 3 injeções de cada solução sendo branco amostra (matriz da amostra), branco solvente (acetona), padrão analítico de cada composto. A seletividade do método foi garantida pela ausência dos íons qualificador e quantificador no tempo de retenção dos compostos em amostra do branco amostra (água) e do branco solvente (acetona). Para garantir a seletividade a proporção do íon qualificador em relação ao quantificador deve reproduzir e normalmente aceita-se uma variação de até 30% [14].

Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados a partir da relação sinal-ruído dos íons selecionados para cada analito. Para o LD foram considerados 5 injeções da menor concentração do analito que foi detectada pelo equipamento e que apresentou a relação sinal/ruído maior do que 3. Para o LQ foram considerados 5 injeções da solução de calibração de menor concentração com a relação sinal/ruído maior de que 10, onde o desvio padrão relativo (DPR) entre as cinco medidas seja menor do

que o DPR calculado pela equação estendida de Hortwitz [12].

Exatidão (recuperação)

Conforme critérios da ABNT [12], foram preparados 2 níveis de fortificações em água de poço (matriz). A norma não cita especificamente quais são esses 2 níveis, portanto optou-se por um nível próximo ao limite de quantificação e um segundo nível próximo ao ponto do meio da curva analítica.

Precisão

Para avaliar a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, seguindo critérios da ABNT [12]. A precisão foi determinada por meio do ensaio de repetitividade e precisão intermediária.

Repetitividade

A repetitividade do instrumento foi avaliada pela injeção de 7 soluções independentes, preparadas com adição de padrão analítico dos compostos de interesse na amostra. O ensaio ocorreu no mesmo dia, no mesmo equipamento onde foram injetadas as sete soluções preparadas de acordo com a fortificação nível 2 (repetitividade 1). Foi feito o tratamento estatístico da média, estimativa do desvio padrão, teste de Grubbs para avaliar a existência de valores dispersos e desvio padrão relativo, ao qual deve estar em conformidade com o valor determinado pela equação estendida de Horwitz conforme critérios da ABNT [12]. Para a repetitividade 2, o ensaio foi executado alterando o dia da análise e o analista. Em seguida procedeu conforme a repetitividade 1.

Precisão intermediária

A precisão intermediária foi obtida seguindo critérios da ABNT [12] combinando os dados das repetitividades 1 e 2 e aplicando o tratamento estatístico pelos cálculos da média, estimativa do desvio padrão, teste de Grubbs e o desvio padrão relativo, ao qual deve estar em conformidade com o valor determinado pela equação de Horwitz.

Aplicação do método em amostras reais

O método desenvolvido foi empregado na análise de 19 amostras de água de efluente industrial decorrente de descontaminação de linhas, tanques e equipamentos de fabricação e envase de defensivos agrícolas.

Resultados e discussão

De acordo com o Inmetro [14] o método desenvolvido neste trabalho pode ser considerado método não normalizado, visto ser desenvolvido no próprio laboratório industrial. A validação da metodologia escolhida adotou a normatização da ABNT [12], cujos critérios para a análise de pesticidas em baixa concentração, deve ser feita através dos parâmetros de validação como seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade e faixa linear de trabalho, precisão e recuperação.

Otimização da separação cromatográfica

Após a otimização das condições cromatográficas, a melhor condição de separação e detecção dos analitos é apresentada na tabela 2.

Tabela 2 - Condições cromatográficas para a separação e quantificação dos compostos de interesse.

Parâmetros de injeção: Lavagem do solvente Descarte da amostra Volume de injeção Modo de injeção	5 vezes 3 vezes 1,0 µL Split 1:10
Temperaturas: Vaporizador Interface Fonte de íons Quadrupolo	230 °C 300 °C 280 °C 150 °C
Programação de temperatura do forno (coluna): Temperatura inicial Aquecimento de 20 °C/min Aquecimento de 30 °C/min Aquecimento de 10 °C/min	160 °C por 4 min 180 °C por 7,8 min 210 °C por 6 min 240 °C por 10 min
Fluxo do gás de arraste (He)	1,0 mL min ⁻¹
Modo de aquisição	SIM
Tempo de corrida	32,8 min

Com os espectros de massa, foi confirmada a identificação dos analitos (99,92 a 99,99 %). Os tempos de retenção (t_R) dos analitos foram obtidos com tolerância de $\pm 0,5$ min. A proporção do íon qualificador em relação ao quantificador teve boa reprodução com variação de até 30% para todos analitos [14]. Os íons quantificador, qualificador e os tempos de retenção dos analitos são apresentados na tabela 3, sendo o quantificador o primeiro íon de maior intensidade e o segundo íon, o qualificador.

Tabela 3 - Tempo de retenção dos compostos e seus respectivos íons monitorados.

Íons monitorados	Tempo de retenção, min	Quantificador e qualificador
Diuron	≈ 5,1	187 e 189
Atrazina	≈ 13,0	200 e 215
Clorpirifós	≈ 19,0	197 e 199
Picoxistrobina	≈ 23,7	145 e 335
Tebuconazol	≈ 29,5	125 e 250

O cromatograma com o perfil de separação dos analitos nas condições otimizadas pode ser observado da figura 1.

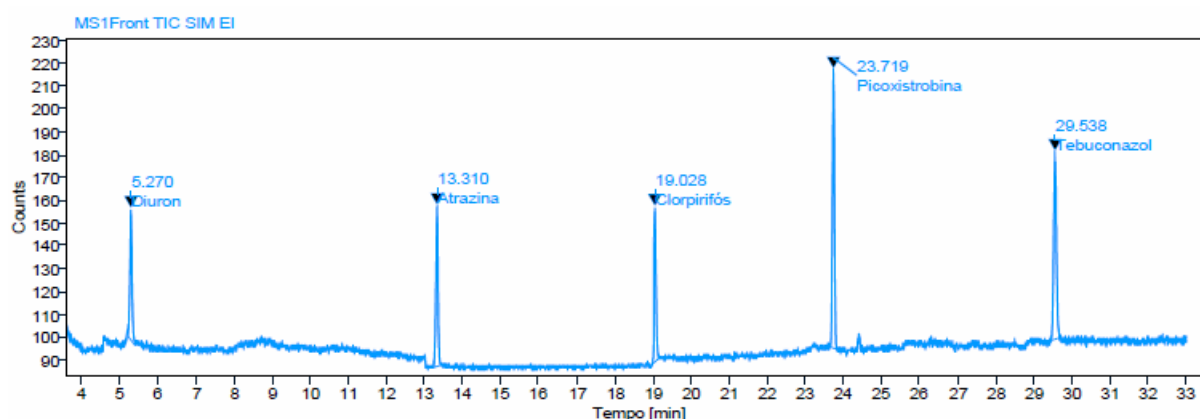


Figura 1 - Perfil cromatográfico típico de uma solução em acetona contendo os compostos em estudo obtidos nas condições cromatográficas descritas na tabela 2.

Validação e garantia de qualidade

Obtidas as melhores condições cromatográficas para a separação e detecção dos analitos, a validação do método seguiu-se conforme os critérios da ABNT [12]. Os parâmetros da validação são descritos na sequência.

Seletividade

O teste de seletividade mostrou-se apropriado para a determinação dos analitos em estudo. Não foi identificado nenhum interferente no tempo de retenção dos analitos nos brancos, isto é, branco solvente (acetona) e branco amostra (água).

Função analítica e linearidade

A linearidade obtida por meio da construção de curvas analíticas exibiu coeficientes de correlação acima 0,99 exigido pela norma ABNT [12]. Na tabela 4 são apresentados os valores mínimos e máximos das concentrações usadas na construção das curvas analíticas utilizadas para avaliar o parâmetro da linearidade de cada composto no procedimento de validação.

Tabela 4 - Equações do modelo linear, faixa de concentração e coeficiente de correlação (r) dos compostos em estudo para o estudo de linearidade.

Composto	Faixa de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Equação do modelo linear	Coeficiente de correlação (r)
Atrazina	0,08 – 0,27	$y = 1602,112 x + 23,191$	0,9918
Clorpirifós	0,09 – 0,27	$y = 1445,716 x + 8,915$	0,9975
Diuron	0,07 – 0,26	$y = 3911,320 x + 71,884$	0,9911
Picoxistrobina	0,07 – 0,33	$y = 1659,987 x + 23,630$	0,9996
Tebuconazol	0,13 – 0,30	$y = 1746,220 x + 7,269$	0,9914

Limites de detecção e quantificação

O preparado da solução LD teve como critério o ajuste feito de forma a permitir a obtenção da relação sinal ruído sendo 3 vezes maior que o ruído da linha de base [12]. Essa relação foi determinada automaticamente pelo *software* do equipamento (OpenLab CDS). Os limites de detecção para cada analito foram calculados através da média dos resultados das cinco injeções da solução LD. O preparo da solução LQ teve como critério o ajuste feito de forma a permitir a obtenção da relação sinal ruído sendo 10 vezes maior que o ruído da linha de base [12]. Os limites de quantificação para cada analito foram calculados através das cinco determinações da solução de calibração de menor concentração, ou seja, o primeiro nível da faixa linear que obteve a relação sinal/ruído maior de que 10, onde o desvio padrão relativo (DPR) entre as cinco determinações foi menor que o DPR calculado pela equação estendida de Horwitz. A tabela 5 apresenta os resultados para LD e LQ, desvio padrão, média e desvio padrão relativo pela equação de Horwitz, cujos resultados atendem ao critério de aceitação da norma [12].

Tabela 5 – Média (S/R), desvio da média (STD), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), desvio padrão relativo (DPR) e desvio padrão relativo pela equação de Horwitz.

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

Exatidão (recuperação)

O método obteve recuperação adequada entre a quantidade do analito analisado e a quantidade teórica esperada para o ensaio de fortificação nível 1 e 2 em matriz (água de poço). Os analitos apresentaram recuperação aceitável, atendendo ao estipulado pela norma [12] que descreve que para impurezas de concentração nominal < 0,1% a recuperação tolerável é de 75 a 125 %. Na tabela 6 são apresentados os valores de recuperação, com seus desvios padrão relativo para o as fortificações nível 1 e 2 de cada composto.

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

Tabela 6 - Recuperações obtidas a partir das fortificações nível 1 e nível 2 de cada composto do estudo.

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

Precisão: repetitividade e precisão intermediária

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

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

equação de Horwitz. Os resultados da repetitividade e precisão intermediária são representados na tabela 7.

Tabela 7 - Repetitividade e precisão intermediária dos cinco compostos em estudo.

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

Todos os compostos do estudo apresentaram repetitividade e precisão dentro do recomendado pela ABNT que cita que o desvio padrão relativo deve ser menor que o desvio padrão relativo calculado pela equação de Horwitz [12].

Aplicação da metodologia desenvolvida em amostras reais

A aplicação da metodologia desenvolvida em amostras reais (efluente industrial) foi eficiente, onde foi possível detectar e quantificar os analitos em amostras de descontaminação de equipamentos industriais. Os valores encontrados não necessitam de comparação com a legislação vigente, por serem resultados apenas para acompanhamento da limpeza, cujos efluentes contaminados retornam para o processo de produção do mesmo produto. A tabela 8 apresenta os resultados obtidos em amostras reais coletadas durante o processo de fabricação de agrotóxicos.

Tabela 8 – Concentração de agrotóxicos em amostras de efluente industrial.

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)					
Amostra	Atrazina	Clorpirifós	Diuron	Picoxistrobina	Tebuconazol
1	0,190	ND	ND	ND	ND
2	0,182	ND	ND	ND	ND
3	0,297	ND	ND	0,206	0,187
4	ND	ND	ND	0,218	0,144
5	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	0,340	ND	ND	ND
7	ND	<LQ	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	0,452	0,391
10	ND	ND	ND	0,256	0,222
11	ND	ND	ND	ND	ND

12	ND	0,333	ND	0,264	0,201
13	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	0,081	ND	ND
15	ND	ND	<LQ	ND	ND
16	ND	ND	ND	ND	ND
17	ND	ND	0,529	ND	ND
18	ND	ND	0,510	ND	ND
19	ND	ND	ND	ND	ND

ND = não detectado; <LQ = abaixo do limite de quantificação.

Considerações finais

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

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

A aplicação do método em amostras de efluentes industrial gerados durante a descontaminação de equipamentos da fábrica demonstrou a otimização e vantagem analítica em termos de economia financeira e tempo para análise de rotina, permitindo a detecção e quantificação de cinco compostos em uma única análise. A otimização reduziu o volume de solventes orgânicos consumidos nas análises e o número de equipamentos necessários para a determinação dos cinco compostos em estudo, sendo que era necessário o emprego de quatro equipamentos. Na metodologia apresentada ocorre a utilização de apenas um CG-EM. Mesmo com a redução do consumo de solventes orgânicos devido a não utilização dos métodos por CLAE, não houve a redução significativa no custo da análise devido ao alto custo do gás hélio empregado na técnica cromatográfica. Entretanto, o volume de efluentes orgânicos gerados por CLAE e a disponibilidade de equipamentos para outras análises justifica a aplicação do método proposto.

O procedimento mostrou alto desempenho em eficiência e resolução cromatográfica com possível otimização no tempo de análise. Embora este tempo não seja visto como longo para empresa, é possível ajustar a rampa de temperatura de forma a diminuir os tempos de retenção dos compostos sem perda de resolução.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Referências

- [1] ORGANIZAÇÃO DA NAÇÕES UNIDAS (ONU). População mundial. Disponível em: <http://www.onu.org.br>>. Acessado em 01/05/2021
- [2] L. C. A. Barbosa, “Os pesticidas, o homem e o meio ambiente”. Minas Gerais: UFV, 215 p. 2004.
- [3] F. Peres; J. C. Moreira; G. S. Dubois, “É veneno ou é remédio?” Rio de Janeiro: FIOCRUZ, v. 1,. 41 p., 2003.
- [4] S. H. G. Brondi, “Determinação de multiresíduos de agrotóxicos em águas de abastecimento do município de Araraquara: Ribeirão das Cruzes, Ribeirão das Anhumas e Córrego do Paiól”. Tese, (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.
- [5] Á. Á. N. Inácio, “Análise de Risco: Uma Ferramenta para a Fiscalização de Agrotóxicos e Afins no Brasil. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, 2013.
- [6] BRASIL, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei no 7.802 de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília: Presidência da República, 2002.
- [7] IUPAC. Pesticides properties database, 2021. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Acesso em: 03/03/2021.
- [8] S. Giacomazzi; N. Cochet. Environmental impact of diuron transformation: a review. Chemosphere, 56 (2004) 1021-1032.
- [9] H. R. Ali et al. Contamination of diuron in coastal waters around Malaysian Peninsular. Marine Pollution Bulletin, 85 (2014) 287-291.
- [10] E. D. Sancho et al. Short-term exposure to sublethal tebuconazole induces physiological impairment in male zebrafish (Danio rerio). Ecotoxicology and Environmental Safety, 73 (2010) 370-376.
- [11] CROPLIFE. “Prevenção de Contaminação na Fabricação de Produtos para Proteção de Culturas”. 1 ed. Bruxelas: Croplife internacional, 2015. 146 p. Disponível em: https://croplife.org/wp-content/uploads/2015/12/CPMCPPT-Portuguese_Nov2015_148-LR.pdf. Acesso em: 18 fevereiro 2020.
- [12] ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - **ABNT NBR14029:2016**, “Agrotóxicos e afins – Validação de métodos analíticos”. 3ªed. Versão corrigida 2017.

[13] ISO IEC 17025:2005. “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories”. 2005.

[14] SANCO/12571/2013. “Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed”. 2013.