

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA –PPGQ

WILSON ZIMMERMAM SANTOS JUNIOR

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MÉTODO PARA  
DETERMINAÇÃO DE TRIFLURALINA EM MATERIAL  
PARTICULADO ATMOSFÉRICO

Dissertação de Mestrado

Curitiba

2016

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA –PPGQ

WILSON ZIMMERMAM SANTOS JUNIOR

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MÉTODO PARA  
DETERMINAÇÃO DE TRIFLURALINA EM MATERIAL  
PARTICULADO ATMOSFÉRICO

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Química, do programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientadora: Prof Dra. Erika Pereira Felix

Coorientadora: Dra. Jossy K. B. Bernardelli

Curitiba

2016

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**

---

S237d Santos Junior, Wilson Zimmermam  
2016 Desenvolvimento e aplicação de método para determinação  
de trifluralina em material particulado atmosférico  
/ Wilson Zimmermam Santos Junior.-- 2016.  
87 f.: il.; 30 cm.

Texto em português, com resumo em inglês.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Química,  
Curitiba, 2016.  
Bibliografia: p. 78-87.

1. Química - Dissertações. 2. Atmosfera. 3. Análise  
cromatográfica. 4. Ar - Poluição. 5. Herbicidas. 6.  
Material particulado. I.Felix, Erika Pereira. II.Bernardelli,  
Jossy Karla Brasil. III.Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Química.  
IV. Título.

CDD: Ed. 22 -- 540

---

**Biblioteca Ecoville da UTFPR, Câmpus Curitiba**

**Termo de Aprovação**

Título da Dissertação nº 003

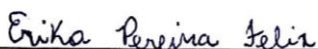
DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TRIFLURALINA EM MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO

Por

WILSON ZIMMERMAM SANTOS JUNIOR

Dissertação apresentada às 14 horas do dia 09 de dezembro de 2016, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, na área de concentração Química Analítica, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

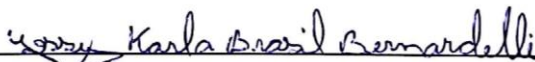
Banca Examinadora:



Profa. Dra. Erika Pereira Felix (Orientadora)

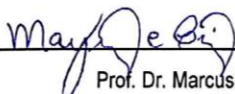
Programa de Pós-Graduação em Química

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR



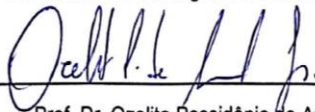
Dra. Jossy Karla Brasil Bernardelli (Coorientadora)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR



Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz

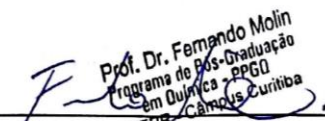
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR



Prof. Dr. Ozelito Possidônio de Amarante Junior

Universidade Federal do Rio Grande - FURG

Visto da coordenação:

  
Prof. Dr. Fernando Molin  
Coordenador do PPGQ

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por sempre estar comigo

Aos meus pais por tudo que fizeram por mim.

A todos que de alguma forma me ajudaram nesta difícil empreitada de muitas lágrimas, alegrias e novos conhecimentos.

## RESUMO

Poluição atmosférica é qualquer forma de matéria ou energia que possa tornar o ar nocivo à saúde humana, a fauna, a flora e aos materiais. Neste contexto encontra-se o material particulado atmosférico, que além de causar inúmeras doenças respiratórias, pode carrear uma grande gama de substâncias tóxicas, dentre elas os agrotóxicos utilizados na agricultura. Este trabalho tem por objetivo desenvolver e aplicar um método analítico para a determinação de Trifluralina em material particulado atmosférico. Primeiramente foi avaliada a limpeza dos filtros utilizados na amostragem e os possíveis interferentes oriundos do solvente. Em seguida foram avaliadas as condições cromatográficas para a análise do herbicida via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD do inglês High performance liquid chromatography) e para cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (GC-MS/MS do inglês Gas Chromatography triple quadrupole mass spectrometry). Para esses dois equipamentos foram avaliados os limites de detecção e quantificação, a extensão da faixa linear e a seletividade. Devido à baixa concentração do analito na matriz foram avaliadas duas condições de pré-concentração em rotaevaporador. Em seguida foram testadas a extração via: banho de ultrassom, agitação mecânica e Soxhlet. Todas as extrações foram realizadas utilizando uma mistura composta por acetona:diclorometano:hexano na proporção de 1:2:1. Após definir o método de extração foi avaliada a etapa de *clean up* utilizando 1 g de florissil como adsorvente e uma solução eluente composta por acetona:hexano na proporção 1:1. Com a definição das condições cromatográficas, do método de extração, *clean up* e pré-concentração foram realizados teste de fortificação e recuperação, em três níveis de concentração, em uma amostra de material particulado isenta do herbicida para avaliar a exatidão e a precisão do método e também avaliar a presença de um possível efeito de matriz. Por fim foi realizada a quantificação da Trifluralina presente no material particulado coletado em Arapongas-PR. A calcinação realizada para limpeza dos filtros mostrou-se eficaz e removeu possíveis interferentes que poderiam coeluir com o analito. Ambas as técnicas cromatográficas apresentaram baixos limites de detecção e quantificação, sendo que o limite de detecção do HPLC-DAD foi de  $37,2 \text{ pg m}^{-3}$  e o limite de quantificação foi de  $124 \text{ pg m}^{-3}$ ; o GC-MS/MS apresentou limite de detecção de  $0,39 \text{ pg m}^{-3}$  e limite de quantificação de  $1,29 \text{ pg m}^{-3}$ , ambas as técnicas também apresentaram seletividade para a determinação da Trifluralina em material particulado atmosférico. As extrações realizadas por equipamento Soxhlet e por banho de ultrassom apresentaram boas recuperações, o mesmo não foi observado para a agitação mecânica. A etapa de *clean up* apresentou capacidade de remover possíveis interferentes e também mostrou ser uma etapa essencial para o método analítico, pois removeu substâncias e assim evitou o entupimento das membranas de filtração de  $0,2 \text{ }\mu\text{m}$ . Os testes de fortificação e recuperação demonstraram que o método é exato e preciso para a determinação da Trifluralina em material particulado atmosférico e também demonstrou um intenso efeito de matriz associado, o qual foi corrigido utilizando a técnica da superposição de matriz. O material particulado atmosférico coletado na região de Arapongas PR apresentou baixas concentrações de Trifluralina (aproximadamente  $2 \text{ pg m}^{-3}$ ) e em alguns casos o herbicida não foi detectado.

Palavras-Chaves: Atmosfera. Cromatografia. Material Particulado Atmosférico. Poluição atmosférica. Trifluralina.

## ABSTRACT

Air pollution is any form of matter or energy that can make air harmful to human health, fauna, flora and materials. Among the many forms of pollution is the atmospheric particulate material, which in addition to causing numerous respiratory diseases can carry a wide range of toxic substances, among them the agrochemicals used in agriculture. This work aims to develop and apply an analytical method for the determination of Trifluralin in atmospheric particulate material. Firstly, the cleaning of the filters used in the sampling and the possible interferences from the solvent. A sampling plan was established to be carried out in the city of Arapongas, Paraná. Two solutions of Trifluralin at a concentration of  $1.21 \text{ mg L}^{-1}$  in methanol and ethyl acetate were prepared. Then the chromatographic conditions for the analysis of the herbicide were evaluated by high performance liquid chromatography coupled to a diode array detector (HPLC-DAD) and for gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS). For these two devices the limits of detection and quantification, the extension of the linear range and the selectivity were evaluated. Due to the low concentration of the analyte in the matrix two preconcentration conditions were evaluated in rotavaporator. Then the extraction was tested via: the ultrasonic bath, mechanical agitation and extraction via Soxhlet. All extractions were performed using a 1: 2: 1 mixture of acetone: dichloromethane: hexane. After defining the extraction method, the clean up step was evaluated using 1 g of florisil as an adsorbent and an eluting solution composed of 1: 1 acetone: hexane. The chromatographic conditions, extraction method, clean up and preconcentration were performed fortification and recovery in a sample of the herbicide-free particulate material to evaluate the accuracy and precision of the method and also to evaluate the presence of a possible effect of matrix. Finally, quantification of Trifluralin present in the collected particulate material of Arapongas-PR was carried out. This test was carried out in three levels of fortification. Calcination was effective and removed potential interferents that could coelute with the analyte. Both chromatographic techniques had low limits of detection and quantification, with the limit of detection of HPLC-DAD was  $37.2 \text{ pg m}^{-3}$  and the limit of quantification was  $124 \text{ pg m}^{-3}$ , whereas GC-MS / MS showed a detection limit of  $0.39 \text{ pg m}^{-3}$  and a limit of quantification of  $1.29 \text{ pg m}^{-3}$ , both techniques also showed selectivity for the determination of Trifluralin in atmospheric particulate material. The extraction performed by Soxhlet equipment and by ultrasonic bath showed good recoveries, the same was not observed for the mechanical agitation. The clean up step presented the ability to remove possible interferents and also proved to be an essential step for the analytical method, removal of these substances prevented the clogging of the  $0.2 \text{ }\mu\text{m}$  filtration membranes. Fortification and recovery tests demonstrated that the method is accurate and accurate for the determination of Trifluralin in atmospheric particulate material and also demonstrated an intense associated matrix effect which was corrected using the matrix superimposition technique. The atmospheric particulate material collected in the Arapongas PR region presented low concentrations of Trifluralin and in some cases the herbicide was not detected. The proposed method proved to be accurate, accurate and capable of detecting and quantifying Trifluralin present in atmospheric particulate material even at low levels of contamination.

Keywords: Atmospheric. Atmospheric Particulate Material. Air Pollution. Chromatography. Trifluralin.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Formula Estrutural da Trifluralina	.....	24
Figura 2: Representação esquemática de uma separação cromatográfica, seguida de um cromatograma de resposta em função do tempo	.....	29
Figura 3: a) foto dos amostradores de grandes volumes (AGV-PTS). b) Componentes do amostrador	.....	35
Figura 4: Localização dos pontos de amostragem, na cidade de Araçongas-PR	.....	36
Figura 5: Fluxograma das etapas de preparo da amostra até a análise por GC-MS/MS	.....	44
Figura 6: Cromatograma referente à análise por HPLC-DAD para injeção de 30 µL dos extratos após a limpeza dos filtros, utilizando uma coluna C18 e acetonitrila:água, na proporção 80:20 e vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> , comprimento de onda de 274 nm	.....	46
Figura 7: Cromatograma da eluição isocrática para 30 µL de uma solução 2 mg L <sup>-1</sup> de Trifluralina, com fase móvel acetonitrila e água (90:10), nas vazões de 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mL min <sup>-1</sup> , analisado no comprimento de onda de 274 nm	.....	48
Figura 8: Cromatograma da eluição isocrática para 30 µL de uma solução 2 mg L <sup>-1</sup> de Trifluralina, com fase móvel acetonitrila e água (80:10), nas vazões de 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mL min <sup>-1</sup> , analisado no comprimento de onda de 274 nm	.....	48
Figura 9: Cromatograma de uma amostra de material particulado atmosférico na ausência e presença de 2 mg L <sup>-1</sup> de Trifluralina, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, na vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> , usando como fase estacionária uma coluna C18, sendo injetado 30 µL e analisado no comprimento de onda 274 nm	.....	49
Figura 10: Cromatograma da eluição por gradiente de um extrato de material particulado atmosférico enriquecido com 7 mg L <sup>-1</sup> de Trifluralina, na vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> , usando como fase estacionária uma coluna C18, sendo injetado 30 µL e analisado no comprimento de onda 274 nm	.....	50
Figura 11: Curvas analíticas da Trifluralina, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> , usando uma coluna C18, em concentrações que variaram 0,8 a 100 mg L <sup>-1</sup> (n = 3), nos comprimentos de onda de 205 e 274 nm	.....	51



Figura 12: Estudo dos resíduos, para as curvas analíticas construídas em 205 e 274 nm, com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 100 mg L <sup>-1</sup>	.....	52
Figura 13: Curvas analíticas da Trifluralina, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> em uma coluna C18, sendo injetado 30 µL em concentrações de 0,8 a 60 mg L <sup>-1</sup> (n = 3), nos comprimentos de onda de 205 e 274 nm	.....	53
Figura 14: Estudo dos resíduos, para a curva analítica construída em 205 e 274 nm, com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 60 mg L <sup>-1</sup> .	.....	54
Figura 15: Curva analítica construída no comprimento de onda de 274 nm, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de 0,2 mL min <sup>-1</sup> em uma coluna C18, com soluções de Trifluralina em concentrações que variam de 0,8 a 5 mg L <sup>-1</sup> (n = 4)	.....	54
Figura 16: Estudo dos resíduos, para a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 5 mg L <sup>-1</sup>	.....	55
Figura 17: Cromatograma obtido pela injeção de 1 µL de uma solução de Trifluralina na concentração de 300 µg L <sup>-1</sup> em CG-MS/MS no modo MRM, utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min <sup>-1</sup> .	.....	62
Figura 18: Cromatograma obtido pela injeção de 1 µL de uma solução de Trifluralina na concentração de 15 µg L <sup>-1</sup> em CG-MS/MS no modo MRM, utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min <sup>-1</sup>	.....	63
Figura 19: Curva analítica construída com soluções pela injeção de 1 µL de uma solução de Trifluralina em concentrações que variaram de 2,5 a 500 µg L <sup>-1</sup> em CG-MS/MS no modo MRM, utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min <sup>-1</sup> (n = 3).	.....	64
Figura 20: Estudo dos resíduos referente a Figura 19, para a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 2,5 a 500 µg L <sup>-1</sup>	.....	64
Figura 21: Curva analítica construída com soluções pela injeção de 1 µL de uma solução de Trifluralina em concentrações que variaram de 2,5 a 100 µg L <sup>-1</sup> em CG-MS/MS no modo MRM, utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min <sup>-1</sup> (n = 3)	.....	65

- Figura 22: Estudo dos resíduos referente a Figura 21, para a ..... 66  
curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que  
variaram de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$
- Figura 23: Curva analítica construída com soluções pela injeção ..... 67  
de 1  $\mu\text{L}$  de uma solução de Trifluralina em concentrações que  
variaram de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM,  
utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de  
arraste na vazão de 1,6  $\text{mL min}^{-1}$  ( $n = 3$ )
- Figura 24: Estudo dos resíduos referente a Figura 23, para a ..... 67  
curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que  
variaram de 5 a 15  $\mu\text{g L}^{-1}$
- Figura 25: Curvas analíticas da Trifluralina, utilizando uma ..... 70  
mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de  
0,2  $\text{mL min}^{-1}$  em uma coluna C18, sendo injetado 30  $\mu\text{L}$  em  
concentrações de 0,8 a 60  $\text{mg L}^{-1}$  ( $n = 3$ ), nos comprimentos de  
onda de 205 e 274 nm

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas da Trifluralina	..... 25
Tabela 2: Uso da cromatografia e seus detectores na determinação de pesticidas	..... 30
Tabela 3 : Condições cromatográficas de vazão e composição da fase móvel para eluição isocrática por HPLC DAD	..... 37
Tabela 4: Equação de reta e coeficiente de determinação (R) das curvas analíticas demonstradas na Figura 11	..... 51
Tabela 5: Tabela 3: Equação de reta e coeficiente de determinação (R) das curvas analíticas demonstradas na Figura 13	..... 53
Tabela 6: Limites de detecção e quantificação instrumental para HPLC-DAD	..... 56
Tabela 7: Avaliação das condições de pré-concentração, analisados por HPLC-DAD	..... 57
Tabela 8: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações via ultrassom, em três ciclos de 3 minutos cada utilizando 50 mL da solução extratora em cada ciclo e analisados por HPLC-DAD	..... 58
Tabela 9: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações via agitação mecânica em três ciclos de 3 minutos cada utilizando 50 mL da solução extratora em cada ciclo e analisados por HPLC-DAD	..... 59
Tabela 10: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações feitas utilizando equipamento Soxhlet, durante um período de 24 horas a 3 ciclos por hora utilizando 200 mL de solução extratora e analisado em HPLC-DAD	..... 60
Tabela 11: Limite de detecção e quantificação encontrados para a cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (GC-MS/MS)	..... 68
Tabela 22: Avaliação da diferença de resposta analítica oriunda do efeito de matriz em análise utilizando GC-MS/MS utilizando uma coluna DB5 de 30 m, Hélio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min <sup>-1</sup>	..... 69
Tabela 33: Equação de reta e coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> ) das curvas analíticas demonstradas na Figura 25	..... 70
Tabela 44: Avaliação da recuperação de Trifluralina em material particulado atmosférico	..... 71

Tabela 15: Concentração de Trifluralina encontrada no material .....  
particulado atmosférico da região norte do estado do Paraná,  
analisado por GC-MS/MS, utilizando calibração externa.

Tabela 16: Concentração de Trifluralina encontrada no material .....  
particulado atmosférico da região norte do estado do Paraná,  
analisado por GC-MS/MS utilizando superposição de matriz.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

EMBRAP – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPA - Environmental Protection Agency

GC-MS/MS – Gas Chromatography mass spectrometry

HPLC - High Performance Liquid Chromatography

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ISO – International Organization for Standardization

Koa – Coeficiente de partição octanol ar

Kow - Coeficiente de partição Octanol água

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de Quantificação

MAPA - Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento

MP10 – Material Particulado com diámetro de partícula menor que 10 µm

OMS – Organização Mundial da Saúde

PPI – Pré-Plantio Incorporado

RPM – Rotações por minuto

PTS – Partículas totais em suspensão

PVDF - Fluoreto de polivinilideno

Tr - Tempo de Retenção

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	19
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	20
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	20
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	20
<b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	21
<b>4.1 Material Particulado atmosférico</b> .....	21
<b>4.2 Defensivos agrícolas</b> .....	22
4.2.1 Trifluralina .....	23
<b>4.3 Métodos analíticos</b> .....	26
4.3.1 Cromatografia .....	28
<b>4.4 Ferramentas Estatísticas</b> .....	31
4.4.1 Figuras de Mérito .....	31
<b>5. METODOLOGIA</b> .....	33
<b>5.1 Preparo dos materiais e soluções</b> .....	33
5.1.1 Limpeza das vidrarias .....	33
5.1.2 Preparo das soluções .....	33
5.1.3 Limpeza dos filtros .....	34
5.1.4 Calibração do amostrador de grande volume (AGV) .....	34
<b>5.2 Amostras</b> .....	35
<b>5.3 Condições para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</b> .....	36
<b>5.4 Figuras de mérito para a cromatografia líquida</b> .....	37
5.4.1 Seletividade .....	37
5.4.2 Estudos da faixa linear .....	38
5.4.3 Limites de detecção e quantificação do equipamento .....	38
<b>5.5 Avaliação das condições de pré-concentração</b> .....	39
<b>5.6 Avaliação dos métodos de extração</b> .....	39
5.6.1 Avaliação da extração por banho de ultrassom.....	39
5.6.2 Avaliação da extração por mesa agitadora .....	40
5.6.3 Avaliação da extração via Soxhlet .....	40
<b>5.7 Avaliação da etapa de <i>clean up</i></b> .....	40
<b>5.8 Condições para a Cromatografia gasosa acoplada a detector de massas</b> .....	41
5.9 Figuras de mérito para cromatografia gasosa acoplada a detector de massas .....	42
5.9.1 Seletividade do método.....	42
5.9.2 Estudo da faixa linear.....	42
5.9.3 Estudo da faixa de trabalho.....	42

5.9.4 Limites de detecção e quantificação .....	42
<b>5.10 Avaliação do Efeito de matriz associado .....</b>	<b>43</b>
<b>5.11 Testes de recuperação .....</b>	<b>43</b>
<b>5.12 Determinação da Trifluralina em material particulado atmosférico (PTS) ...</b>	<b>45</b>
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>46</b>
<b>6.1 Limpeza dos filtros .....</b>	<b>46</b>
<b>6.2 Condições para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .....</b>	<b>47</b>
<b>6.3 Figuras de mérito para a cromatografia líquida.....</b>	<b>49</b>
6.3.1 Seletividade .....	49
6.3.2 Estudo da faixa linear.....	50
6.3.3 Estudo da faixa de trabalho.....	54
6.3.4 Limites de detecção e quantificação .....	55
<b>6.4 Avaliação das condições de pré-concentração.....</b>	<b>56</b>
<b>6.5 Avaliação dos procedimentos de extração.....</b>	<b>57</b>
6.5.1 Avaliação da extração por banho de ultrassom.....	57
6.5.2 Avaliação da extração por mesa agitadora .....	58
6.5.3 Avaliação da extração via Soxhlet .....	59
<b>6.6 Avaliação da etapa de <i>clean up</i> .....</b>	<b>61</b>
<b>6.7 Condições para a Cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.....</b>	<b>61</b>
6.7.1 Equipamento e condições Cromatográficas .....	61
6.8 Figuras de mérito para cromatografia gasosa acoplada a detector de massas .....	62
6.8.1 Seletividade .....	62
6.8.2 Determinação da faixa linear.....	63
6.8.4 Determinação dos limites de detecção e quantificação .....	67
<b>6.9 Avaliação do efeito de matriz.....</b>	<b>68</b>
<b>6.10 Teste de recuperação na matriz.....</b>	<b>70</b>
<b>6.11 Determinações da Trifluralina em material partícula atmosférico (PTS) .....</b>	<b>71</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>77</b>
<b>9. REFERENCIAS .....</b>	<b>78</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde, o bem-estar e a qualidade ambiental está cada vez mais evidente, podendo ser observada pela ampla difusão nos meios de comunicação, isto obriga as grandes companhias a investirem em produtos, menos danosos ao meio ambiente, em novas formas produtivas e principalmente, obriga o poder público a criar leis mais restritivas, com o intuito de melhorar a qualidade de vida das pessoas, porém, o ar que respiramos parece estar na contra mão desta tendência. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a péssima qualidade do ar, tanto em ambientes internos quanto em ambientes externos, foi responsável por 11,6 % das mortes em todo o mundo, totalizando 3 milhões de mortos no ano de 2012 (O GLOBO, 2016).

Com a finalidade de tentar garantir a qualidade do ar, foi criada a Resolução CONAMA nº 03/1990. Nela é estabelecida que “poluição atmosférica é qualquer forma de matéria ou energia em quantidade, concentração, tempo ou característica que possam tonar o ar impróprio ou nocivo à saúde, inconveniente ao bem estar público ou danoso a fauna e a flora” (BRASIL, 1990).

Os poluentes presentes no ar são divididos em duas grandes classes: primários e secundários. Poluentes primários são substâncias diretamente liberadas na atmosfera, tais como os óxidos de nitrogênio (NOx), óxidos de enxofre e material particulado. Já poluentes secundários são resultantes de reações químicas entre os contaminantes primários e os constituintes da atmosfera (QUEIROZ, JACOMINO e MENEZES, 2007), tais como ozônio e o material particulado mais fino.

Dentre os poluentes atmosféricos, o material particulado é o mais visível, por se tratar de uma grande gama de partículas sólidas e líquidas com diâmetro médio que pode estar na ordem de 0,001 µm a 0,5 mm. Por ser proveniente das mais diferentes fontes, o material particulado apresenta as mais variadas composições e características, tanto físicas quanto químicas,



tendo a capacidade de adsorver uma grande quantidade de substâncias, polares e apolares (MANAHAN, 2012).

A produção agrícola está fortemente associada ao aumento nas concentrações de material particulado na atmosfera, devido ao aumento da mecanização das colheitas, principalmente durante o manejo do solo nas etapas de adubagem, semeadura e aplicação de defensivos agrícolas (QIU e PATTEY, 2008). Este aumento na concentração de material particulado geralmente acarreta inúmeros danos ambientais e também complicações a saúde das populações próximas (KASUMBA et al., 2011).

Em áreas agrícolas, além do material particulado, o ar pode estar contaminado com os insumos agrícolas, tais como fertilizantes e defensivos agrícolas. Segundo a ANVISA, o Brasil é o maior consumidor de defensivos agrícolas do mundo, sendo consumidos 936 mil toneladas apenas na safra 2010/2011 (ANVISA, 2013). Os ingredientes ativos usados na formulação dos defensivos podem estar presentes na atmosfera tanto na fase gasosa como adsorvidos ao material particulado, sendo que a distribuição entre as fases depende das propriedades físico-químicas de cada substância, como pressão de vapor do líquido, temperatura de condensação e coeficiente de partição octanol ar ( $K_{oa}$ ) (ODABASI e CETIN, 2012); além disso, condições ambientais como temperatura, umidade e concentração do material particulado presente no ambiente também afetam essa distribuição (COSCOLLÀ et al., 2011).

A crescente necessidade por alimentos fez com que houvesse um aumento significativo na utilização de defensivos agrícolas. Por se tratar de uma questão de saúde pública, alguns países do mundo, como México (KASUMBA et al., 2011) e Espanha (COSCOLLÀ et al., 2008), fazem rotineiramente o monitoramento dos defensivos agrícolas, presentes tanto no material particulado, quanto em fase gasosa, pois estes vêm sendo encontrados em áreas rurais e urbanas, mesmo aquelas mais afastadas das grandes regiões agrícolas (COSCOLLÀ et al., 2011).

No Brasil a contaminação do ar por agrotóxicos é negligenciada, devido à falta de dados e estudos referentes a presença destes compostos na atmosfera. Aliado a isso, não existe legislação que delimite níveis para estes

compostos, comprometendo, assim, a saúde e o bem estar da população. Metodologias mais rápidas, sensíveis e seletivas podem contribuir para o aumento de estudos relacionados a essas substâncias na atmosfera, gerando assim dados que podem auxiliar o poder público a criar leis que possam limitar a presença destas substâncias na atmosfera.

## 2. JUSTIFICATIVA

Segundo o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) a utilização de defensivos agrícolas no Brasil aumentou 155% nos últimos 10 anos, quase o dobro da média mundial. São inegáveis os benefícios que estas substâncias trouxeram para a agricultura e para a economia mundial; por outro lado, seu uso crescente vem acarretando danos, tanto ao ambiente quanto a saúde das pessoas.

O estado do Paraná um dos maiores produtores de soja e milho do Brasil (EMBRAPA, 2016) e é um dos estados brasileiros que mais consome defensivos agrícolas (IBAMA, 2013). As áreas de cultivo estão mais concentradas na região norte do estado, acarretando assim uma maior contaminação do ambiente, em virtude do maior uso de insumos agrícolas, reduzindo assim a qualidade do ar da região. Isto somado à pequena abrangência da Resolução CONAMA nº 03/1990, a qual não restringe a presença de nenhum composto orgânico volátil (COV) e/ou semi volátil presente no material particulado (BRASIL,1990), faz com que este tipo de contaminação seja negligenciada pelos órgãos públicos, pelas indústrias, pelos grandes produtores agrícolas e pela população em geral.

Este trabalho faz parte de um amplo projeto em parceria com o Ministério Público do Paraná, o Ministério Público do Trabalho e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) para avaliar a contaminação por agrotóxicos na região de Arapongas Paraná. O interesse pela região de estudo foi o grande número de denúncias realizadas pela população local, ao ministério público do Paraná. Este projeto está sendo desenvolvido por professores da UTFPR membros dos programas de pós-graduação em química e em ciências ambientais com o objetivo de desenvolver e validar um método para determinar a concentração de agrotóxicos em diferentes matrizes ambientais, além de avaliar toxicidade e ecotoxicidade dos compostos. Os resultados obtidos irão auxiliar o Ministério Público na tomada de decisões com intuito de proteger o meio ambiente e a saúde da população.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Desenvolver e aplicar um método analítico para determinação de Trifluralina em material particulado atmosférico, coletado na região de Arapongas no estado do Paraná.

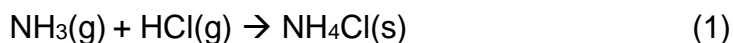
#### **3.2 Objetivos específicos**

- Comparar diferentes métodos de extração de Trifluralina do material particulado.
- Comparar a determinação de Trifluralina por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e a determinação por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (GC-MS/MS).
- Avaliar a seletividade, os limites de detecção e quantificação e a extensão da faixa linear para ambas as técnicas cromatográficas.
- Verificar a exatidão e a precisão do método proposto.
- Quantificar a Trifluralina presente no material particulado atmosférico da região de Arapongas, Paraná.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Material Particulado atmosférico

Material Particulado é a nomenclatura utilizada para as partículas sólidas ou líquidas em suspensão na atmosfera com diâmetros que podem variar de 0,002 a 100  $\mu\text{m}$  (FINLAYSON-PITTS & PITTS, JR., 1999). Estas podem ser liberadas diretamente (primárias), através da queima de combustíveis, pela construção civil, atividades industriais e agricultura, durante o manejo do solo (COSCOLLÀ et al., 2011; MENEZES e CATALUNA, 2008). Também podem ser formadas por reações químicas entre os próprios constituintes da atmosfera e algumas substâncias de origem natural ou antrópica (secundárias) (MAIOLI, 2011). Estas são as mais prejudiciais à saúde humana, devido ao seu menor tamanho médio, que resulta em uma maior capacidade de serem absorvidas pelo organismo, além de apresentarem maior capacidade de adsorver substâncias tóxicas. Uma das principais fontes geradoras dessas partículas ( $\text{MP}_{10}$  e  $\text{MP}_{2,5}$ ) são as reações de neutralização que ocorrem na própria atmosfera, como a representada na equação 1 (BAIRD e CANN, 2011).



Além da origem, primária e secundária, o material particulado pode ser classificado pelo diâmetro médio de suas partículas como: Partículas Totais em Suspensão (PTS,) cujo diâmetro médio é inferior a 50  $\mu\text{m}$  (BAIRD e CANN, 2011), partículas respiráveis, cujo diâmetro médio varia entre 0,1 e 2,5  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{2,5}$ ) e partículas inaláveis, cujo diâmetro médio varia entre 2,5 a 10  $\mu\text{m}$  ( $\text{PM}_{10}$ ) (QUEIROZ, JACOMINO e MENEZES, 2007). Este tamanho determina os mecanismos de transporte no ar e deposição na superfície (MAIOLI, 2011). Partículas grandes, cujo diâmetro médio é superior a 100  $\mu\text{m}$ , não representam grandes riscos e são pouco estudadas, pois apresentam um baixo tempo de residência na atmosfera, sendo facilmente depositadas na superfície do solo (BAIRD e CANN, 2011).

A legislação brasileira, Resolução CONAMA nº 03/1990, estabelece dois padrões de qualidade do ar. O primário, que visa proteger a saúde e o bem estar das pessoas, e o secundário, mais restritivo, visando proteger todo o

ecossistema. No padrão primário a concentração de PTS não deve ultrapassar, mais de uma vez ao ano,  $240 \mu\text{g m}^{-3}$  em um período de 24 horas, e a média anual não deve ser superior a  $80 \mu\text{g m}^{-3}$ . Para o padrão secundário, o limite estabelecido é de  $150 \mu\text{g m}^{-3}$ , em um período de 24 horas, e a média anual não pode ser superior a  $60 \mu\text{g m}^{-3}$  (BRASIL, 1990). Para as partículas inaláveis o valor de  $150 \mu\text{g m}^{-3}$  foi considerado como limite máximo para um período de 24 horas, não podendo ser ultrapassado mais de uma vez ao ano, e a concentração média anual não pode ser superior a  $50 \mu\text{g m}^{-3}$ , tanto para o padrão primário quanto para o padrão secundário (BRASIL, 1990). Esta legislação não estabelece limites para compostos orgânicos e/ou inorgânicos associados ao material particulado atmosférico. Mesmo assim há inúmeros estudos voltados a determinar a presença de cátions e ânions (FREITAS e SOLCI, 2009; MASIOL 2015) presente no material particulado e substâncias orgânicas. Pois a presença de determinadas substâncias podem inferir sobre as origens do material particulado e da poluição.

#### **4.2 Defensivos agrícolas**

Segundo o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), defensivos agrícolas, pesticidas ou agroquímicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas, bem como de ambientes urbanos, hídricos e industriais (MAPA, 2015). No Brasil existem 366 ingredientes ativos (substâncias que apresentam ação sobre os organismos de interesse) registrados no ministério da agricultura, os quais estão distribuídos em mais de 200 grupos químicos diferentes e dão origem a 1458 produtos diferentes (AGROFIT, 2015).

Os defensivos agrícolas são classificados frente ao organismo que se deseja controlar, por exemplo: produtos que controlam plantas invasoras (herbicidas), insetos (inseticidas), fungos (fungicidas), bactérias (bactericidas), ácaros (acaricidas) e ratos (rodenticidas). Também são considerados defensivos agrícolas os reguladores de crescimento, que aceleram o amadurecimento e a floração de plantas (SCHIESARI, 2012).

O grande problema das lavouras é o crescimento de ervas daninhas, as quais competem com a cultura de interesse por espaço, água e nutrientes. Esta competição pode causar uma redução no rendimento da lavoura em até 90% (GUIMARÃES, 2007 apud BELTRÃO, 2004), o que faz com que em grandes propriedades os produtores utilizem os herbicidas, devido a sua facilidade de aplicação e eficiência no combate as ervas daninhas (GUIMARÃES, 2007). Como o Brasil é o segundo maior produtor de soja e o terceiro maior produtor de milho do mundo (EMBRAPA, 2015), a demanda por essas substâncias é alta.

Estudos demonstram que os pesticidas apresentam grande potencial carcinogênico, teratogênico e funcionam como disruptores endócrinos (moléculas que apresentam estruturas químicas muito próximas a de hormônios, gerando assim interferência no sistema endócrino). Além disso, são bioacumulativos e persistentes no ambiente (baixa taxa de decomposição). Por estes motivos, muitos ingredientes ativos, como o DDT, já foram banidos (PERES, 2003). Segundo dados da OMS por ano pode haver até um milhão de casos de intoxicação involuntária por agrotóxicos e até dois milhões de internações por ingestão voluntária de agrotóxicos (WHO,1990). Este tipo de intoxicação é mais evidente em país em desenvolvimento, devido à baixa escolaridade, condições precárias de trabalho e a pulverização incorreta do produto. Esses fatores associados geraram altas taxas de intoxicação na população rural do Mato Grosso do Sul entre os anos de 1992 a 2002 (RECENA, 2006).

A legislação brasileira define limites toleráveis para o herbicida Trifluralina em corpos aquáticos, segundo a resolução Conama 357/05, para águas doces de classe 1, a concentração de Trifluralina não pode ser superior a  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$  (Brasil, 2005). Porém, a legislação brasileira não estipula limites para esta substância em outras matrizes ambientais como solo e ar.

#### 4.2.1 Trifluralina

A Trifluralina, de fórmula estrutural representada na Figura 1, apresenta a fórmula molecular  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$ , e é um ingrediente ativo do grupo das Dinitroanilina encontrado na forma de um sólido cristalino de coloração laranja-amarelada. Apresenta a seguinte nomenclatura oficial 2,6 dinitro-N,N-dipropil-4-

trifluormetilamina, segundo a IUPAC (EPA, 1994). Suas principais propriedades físico-químicas estão presentes na Tabela 1.

Este herbicida é classificado como Pré-Plantio e Incorporado (PPI), logo sua incorporação ao solo deve ser feita antes da semeadura, antes da germinação das sementes, sendo que seu uso é recomendado para matar ervas daninhas nos cultivos de soja, milho e algodão (FIT, 2014). Seu mecanismo de ação consiste na formação de um complexo entre o herbicida e a proteína tubulina, impedindo a polimerização da proteína, acarretando na não formação dos microtúbulos, os quais são responsáveis pelo emparelhamento e separação dos cromossomos durante a mitose. A seletividade deste herbicida ocorre devido aos diferentes tipos de tubulina presentes em cada espécie de planta (OLIVEIRA JR, 2011). A Trifluralina teve seu uso proibido na Europa desde 2008, devido a sua alta toxicidade frente a organismos aquáticos (EUROPEAN UNION, 2012).

Figura 1: Fórmula Estrutural da Trifluralina

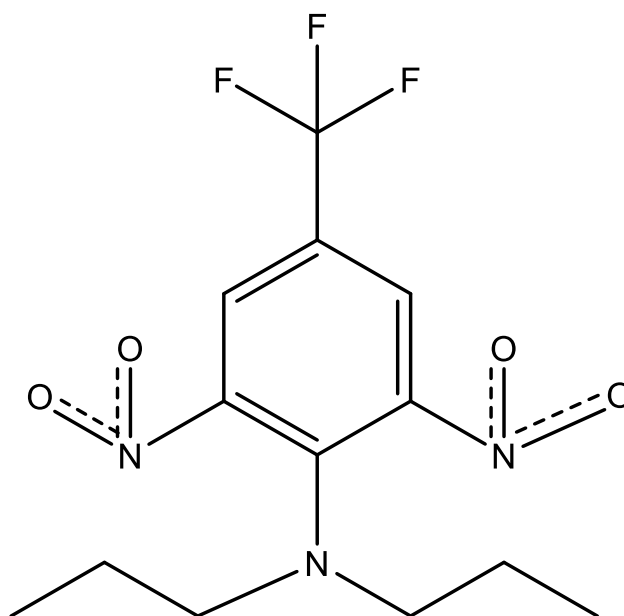




Tabela 1: Propriedades físico-químicas da Trifluralina.

Propriedade	Valores
Massa molar	335,28 g mol <sup>-1</sup>
Constante de Henry	10,2
Pressão de vapor	9,5 mPa (25 °C)
Solubilidade em água	0,221 mg L <sup>-1</sup>
Solubilidade em hexano e acetona	250000 mg L <sup>-1</sup>
Solubilidade em metanol	142000 mg L <sup>-1</sup>
Ponto de Fusão	47,2°C
Dose letal para 50% da população (DL <sub>50</sub> )	500 mg kg <sup>-1</sup> para ratos
Número CAS	1582-09-8

Fonte: PPDB 2015

Mesmo sendo incorporada ao solo a Trifluralina apresenta propriedades físico-químicas, como elevada pressão de vapor, que possibilitam sua transferência entre as demais matrizes ambientais como a água e o ar. Sua presença em água é regida fundamentalmente pela solubilidade, a qual é regida pela polaridade da substância (MANAHAN, 2012).

Por meio da volatilização a Trifluralina pode chegar a atmosfera, onde será encontrada tanto no material particulado quanto na fase gasosa, podendo ser transportada a curtas distancia quando presente na fase gasosa (FOREMAN, 2000) e por longas distâncias, quando associado ao material particulado (HOLMÉN, 2013). A distribuição entre essas duas fases é dependente da pressão de vapor (substâncias com pressão de vapor superior a 0,01 Pa (10 mPa) tende a permanecer em maior quantidade na fase gasosa, já substâncias com pressão de vapor menor que 0,00001 Pa (0,01 mPa) tende a permanecer associadas ao material particulado, se a pressão de vapor estiver entre esses valores a substância estará presente em ambas as fases),

solubilidade em água, concentração de partículas, temperatura e humidade relativa (COSCOLLA et al., 2011).

Alguns estudos avaliaram a presença da Trifluralina tanto na fase gasosa como associada ao material particulado atmosférico, estes estudos demonstram que a concentração desta espécie pode variar significativamente de um local para outro como de um ano para outro em uma mesma localidade. Sanusi et al. (2000) avaliou a presença deste herbicida na atmosfera de Strasbourg na França no ano de 2000, neste estudo a Trifluralina apresentou concentrações que variam de 743 à 3800  $\text{pg m}^{-3}$ , este mesmo autor em 2001 não detectou a presença do herbicida na mesma localidade (SAURET, 2001). Estudos realizados na mesma região nos anos de 2002 e 2003 apresentaram concentrações que variaram de valores próximos ao LD à 179  $\text{pg m}^{-3}$  e de valores próximos ao LD à 182  $\text{pg m}^{-3}$ , respectivamente (SCHEYER, 2007). Em 2013 Coscollà et al. (2014) avaliaram a presença deste composto em PTS em uma área rural próximo a Valência na Espanha, neste estudo o herbicida encontrado na fração PTS apresentou concentração de 27  $\text{pg m}^{-3}$  (COSCOLLÀ et al., 2014). Em 2011 na mesma região a Trifluralina foi encontrada em  $\text{PM}_{10}$  em concentrações que variaram de 2,16 à 10,36  $\text{pg m}^{-3}$  (COSCOLLÀ et al., 2011). Schummer et al. (2010) avaliou a presença do herbicida presente simultaneamente na fase gasosa quanto associado ao material particulado em uma região agrícola de Strasbourg na França, neste estudo a Trifluralina foi detectada em 9 das 10 amostras analisadas e apresentou concentração média de 0,12  $\text{ng m}^{-3}$  (SCHUMMER et al., 2010). No estado do Paraná a Trifluralina foi detectada na água de abastecimento da região de Londrina na concentração de 0,0041  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ANDREOLI, 1999). A Trifluralina também foi encontrada em produtos alimentares como leite (REJCK, 2017) e sucos de frutas (ALBERO et al., 2005; TOPUZ et al., 2005).

### **4.3 Métodos analíticos**

Toda análise deve passar, necessariamente, por algumas etapas, as quais agrupadas recebem a denominação de protocolo analítico (RIBEIRO, 2008). Estas etapas estão intimamente ligadas à substância de interesse e a matriz. Dentre elas pode-se destacar: planejamento, amostragem, extração,

*clean up*, pré-concentração e, por fim, a determinação propriamente dita (SKOOG, 2014).

A etapa de planejamento é sem dúvida muito importante, pois nela deve ser feita a verificação das propriedades físico-químicas das substâncias de interesse, com o intuito de evitar a degradação da amostra durante o armazenamento ou durante as etapas da análise. Deve-se conhecer a área de estudo e traçar o plano de amostragem, com o intuito de garantir uma amostra representativa do todo; verificar a necessidade das etapas *de clean up* e pré-concentração e por fim validar o método utilizando amostras certificadas, na ausência destas, usar métodos oficiais para comparação (RIBANI et al., 2004).

A amostragem deve gerar uma quantidade de amostra que seja representativa do todo e não deve ser tendenciosa, por isso é sem dúvida uma das etapas mais complexas do protocolo analítico (SKOOG, 2014).

A extração visa transferir os analitos de uma matriz para um solvente ou mistura de solventes, ao qual a substância apresenta maior afinidade. Em uma extração determinadas propriedades físico-químicas do analito devem ser levadas em consideração, para obter a maior transferência possível; são elas: pressão de vapor, solubilidade, massa molar, polaridade, etc (MITRA, 2003). As razões para se adotar uma técnica de extração são as mais diversas, como: a complexidade da matriz, a existência de substâncias incompatíveis com a instrumentação analítica e os baixos níveis de concentração (QUEIROZ, COLLINS e JARDIM, 2001).

Os grandes problemas encontrados em análises de amostras reais é a baixa concentração dos analitos e o efeito de matriz, o qual consiste na presença de uma ou mais substâncias com propriedades semelhantes a do analito; estas podem reagir com o analito ou gerar uma resposta instrumental errônea (SKOOG, 2014). Os processos de *clean up* visam remover estas substâncias. Já as etapas de pré-concentração são normalmente utilizadas quando o analito encontra-se em baixas concentrações na ordem de traços (SKOOG, 2014).

Por fim a validação segundo a ANVISA “deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados” (RIBANI et al., 2004).

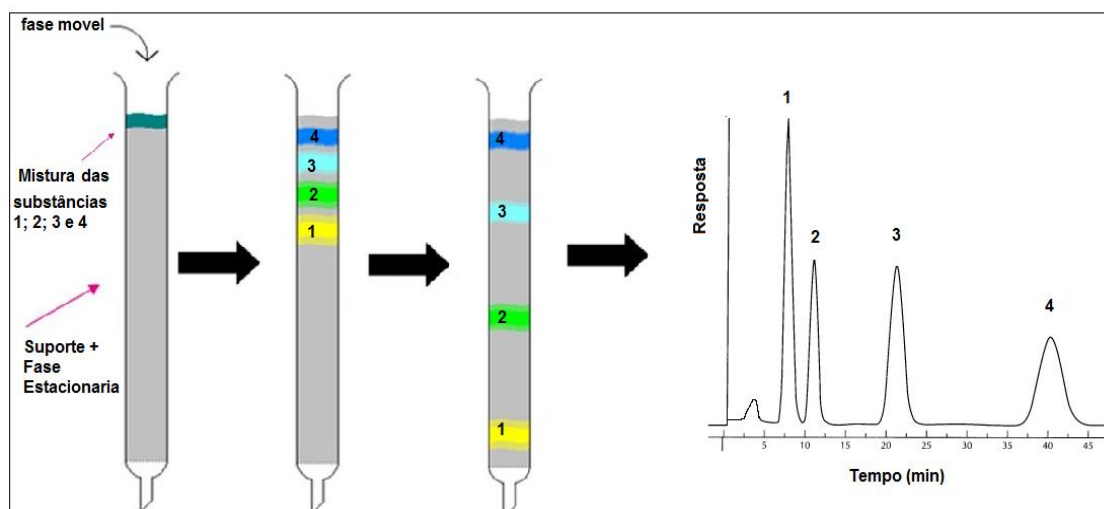
#### 4.3.1 Cromatografia

O Termo cromatografia foi utilizado pela primeira vez em 1903 pelo Russo Mikhail S. Tswett, o qual tinha como objetivo separar pigmentos vegetais. Esta técnica apresenta o mesmo princípio dos processos de extração, na qual há uma distribuição do soluto entre duas ou mais fases não miscíveis (HAGE, 2012).

Todos os tipos de cromatografia são compostos por dois componentes essenciais: a fase estacionária e a fase móvel. A fase estacionária tem a função de retardar o movimento dos compostos ou retê-los. Essa fase pode ser suportada em tubo (coluna cromatográfica), pode ser feita de papéis funcionalizados ou pode ser suportada em uma placa de vidro ou alumínio. A fase móvel apresenta a finalidade de mover-se pela coluna com o intuito de arrastar os compostos até a saída da mesma, sendo que a separação ocorre pela diferença de velocidade de migração dos compostos, a qual é dependente da sua afinidade pela fase estacionaria (SKOOG, 2014).

No final de uma análise cromatográfica os compostos saem da coluna e chegam até um detector, o qual gera um gráfico de resposta em função do tempo, como demonstrado na Figura 2. Este gráfico, conhecido como cromatograma, pode ser utilizado tanto em análises qualitativas, pela posição do pico no eixo dos tempos, quanto quantitativas, cuja altura ou área do pico é proporcional a concentração da substância na amostra (SKOOG, 2014).

Figura 2: Representação esquemática de uma separação cromatográfica, seguida de um cromatograma da resposta em função do tempo



A cromatografia em coluna é classificada em função da natureza da fase móvel, da fase estacionária e da interação entre o analito e as fases. Em relação à fase móvel a cromatografia pode ser classificada em: cromatografia líquida, na qual um líquido ou uma mistura de líquidos é responsável por carrear as substâncias pela coluna até o detector; cromatografia gasosa, na qual um gás inerte é responsável por carrear as substâncias da coluna até o detector; e a cromatografia por fluido supercrítico, nela a fase móvel encontra-se acima das condições críticas de temperatura e pressão (COLLINS, 2006).

No caso da determinação de defensivos agrícolas presentes na atmosfera, a cromatografia gasosa acoplado a detector de massas é amplamente utilizada devido a sua maior seletividade, menor uso de solventes orgânicos e menor limite de detecção. Já a cromatografia líquida (HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*) é normalmente utilizada quando os compostos de interesse são muito polares, sensíveis a altas temperaturas ou pouco voláteis (KOSIKOWSKA e BIZIUK, 2010). Em relação aos detectores, as melhores repostas são obtidas utilizando os espectrômetros de massas (MS), juntamente com os detectores de captura de elétrons (ECD). Porém detectores mais simples como o UV-DAD e ionização por chama (FID) também geram bons resultados (KOSIKOWSKA e BIZIUK, 2010). Estes detectores são utilizados para a determinação de agrotóxicos nas mais diversas matrizes. Na

Tabela 2 estão alguns estudos que utilizaram esses detectores na identificação e quantificação de agrotóxicos nas mais variadas matrizes.

Tabela 5: Uso da cromatografia e seus detectores na determinação de pesticidas

Referência	Matriz	Substâncias analisadas	Detector
Fuentes, Baez e Reyes (2006)	Água	4 pesticidas	GC ECD
Tanabe et al. (1996)	Águas superficiais	29 pesticidas	GC-MS
Scheyer et al. (2007)	Água da chuva	9 pesticidas	GC-MS
Karasali et al. (2006)	Emulsão comercial	5 pesticidas	GC FID
Topuz et al. (2005)	Suco de Fruta	5 pesticidas	HPLC-DAD
Rejcczake e Tuzinski (2017)	Leite	30 Pesticidas	HPLC-DAD
Yahia e Elsharkawy (2014)	Peixe	17 pesticidas	GC-MS
Garrison et al. (2014)	Ar	HPAs, organoclorados, organofosforados e Bifenilas	GC-MS
Yao et al. (2006)	Ar	23 pesticidas	GC ECD

## 4.4 Ferramentas Estatísticas

### 4.4.1 Figuras de Mérito

Os resultados gerados em análises, simples ou complexas, quando não confiáveis podem levar a tomada de decisões equivocadas, podendo acarretar prejuízos irreparáveis. Com a finalidade de garantir a confiabilidade de uma análise, todo procedimento deve passar por uma etapa de validação (RIBANI et al., 2004). Validação é definida pela ISO 17025 como sendo a “confirmação por testes e apresentações de evidências objetivas de que determinados requisitos são preenchidos para um dado uso intencional” (ISO, 1999).

No Brasil a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto de Metrologia), além de serem as principais agências credenciadoras, são responsáveis por gerar recomendações de como proceder a validação. Estas recomendações geralmente são genéricas, o que dá flexibilidade para que possam ser adaptadas a qualquer método (RIBANI et al., 2004).

Os principais parâmetros a serem analisados durante a validação de um método são: Seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e limite de quantificação.

Seletividade é a capacidade de determinar uma espécie química de interesse, presente em uma matriz ou mistura contendo inúmeros compostos que possam interferir na determinação do analito. Uma das formas mais comuns de se determinar a seletividade de um método é utilizando uma amostra livre do analito e uma amostra enriquecida e comparar as respostas obtidas (VALDERRAMA, 2009). Quando não for possível obter uma amostra livre do analito, deve-se utilizar a metodologia da adição de padrão ou comparar os resultados obtidos com os resultados de uma técnica comprovadamente seletiva (HAGE, 2012).

A linearidade é a capacidade de um equipamento fornecer uma resposta diretamente proporcional a concentração do analito. Esta resposta é linear para uma certa faixa de concentração e depende do analito e do instrumento de medida. A curva analítica é feita de forma empírica, na qual a resposta é obtida utilizando padrões de concentrações conhecidas. A linearidade é atribuída ao

coeficiente de determinação, o qual indica o quanto, e até quando, a resposta é diretamente proporcional a concentração do analito (SKOOG, 2014).

A precisão representa o quanto os resultados foram próximos entre si, já a exatidão representa o quanto os resultados se aproximaram de um valor verdadeiro (SKOOG, 2014). A precisão pode ser avaliada através do coeficiente de variação, o qual para análises de contaminantes em nível traço e resíduos de pesticidas não deve ser superior a 20 % (RIBANI et al., 2004; BRITO et al., 2003).

Robustez é a capacidade que um método tem de não sofrer variação considerável em sua resposta frente a variações como: temperatura, umidade, analista etc (VALDERRAMA, 2009).

O limite de detecção é a menor concentração que pode ser distinguida de um ruído do equipamento com certo nível de confiabilidade (SKOOG, 2014). O limite de detecção pode ser estimado pela curva analítica utilizando a equação (2).

$$LD = \frac{K S_b}{m} \quad (2)$$

Em que  $m$  é a inclinação da reta ou coeficiente angular da reta (curva analítica),  $k$  deve ser superior a 3 e  $S_b$  é o desvio padrão do branco.

O limite de quantificação representa a menor quantidade de analito que pode ser quantificado com uma incerteza máxima de 10% (VALDERRAMA, 2009). Ele pode ser medido pela relação sinal/ruído ou utilizando a curva analítica, como mostrado na equação (3).

$$LQ = 10 * \frac{S_b}{m} \quad (3)$$

Em que  $S_b$  é o desvio padrão do branco e  $m$  é a inclinação da reta ou coeficiente angular da reta (curva analítica).



## 5. METODOLOGIA

A Trifluralina faz parte da classe de contaminantes normalmente presentes em baixas concentrações no ambiente, portanto é essencial avaliar a eficiência de algumas etapas fundamentais, para determinar sua concentração em material particulado atmosférico, como: limpeza dos materiais e dos filtros utilizados na coleta, métodos de extração, pré-concentração e *clean up*. Por isto, foi desenvolvido e aplicado um método para a determinação da concentração de Trifluralina em material particulado atmosférico, via cromatografia líquida de alto desempenho, com detector de arranjo de diodos (HPLC DAD), e por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS/MS).

### 5.1 Preparo dos materiais e soluções

#### 5.1.1 Limpeza das vidrarias

Primeiramente as vidrarias não volumétricas foram lavadas com solução detergente (extran<sup>®</sup>) em ultrassom por 15 minutos, a 45 °C; em sequência, os materiais foram enxaguados com água corrente, em seguida, três vezes com água ultrapura (Milli-Q Direct 8 UV). Por fim, estas vidrarias foram calcinadas em forno mufla à 400 °C (SPLarbor, modelo SP1200) por 4 horas (EPA 508, 1995).

As vidrarias volumétricas foram lavadas apenas com a solução detergente (extran<sup>®</sup>) em ultrassom por 15 minutos, à temperatura ambiente; em seguida foram enxaguadas com água corrente e três vezes com água ultrapura.

#### 5.1.2 Preparo das soluções

Primeiramente foram preparadas duas soluções de Trifluralina na concentração de 1,12 g L<sup>-1</sup>, sendo a primeira em metanol e a segunda em acetato de etila, ambos grau HPLC. Soluções com concentrações menores foram preparadas por diluição a partir dessas soluções, utilizando como solvente uma mistura de acetonitrila e água, na proporção 80:20 para medidas no HPLC DAD e em acetato de etila para medidas no GC-MS/MS. Foi preparada uma solução extratora composta por acetona:diclorometano:hexano na proporção de 1:2:1, sendo todos os solventes grau HPLC

(KOSIKOWSKA e BIZIUK, 2010). Esta solução foi utilizada para realizar as extrações da Trifluralina das amostras de material particulado e para avaliar a limpeza dos filtros de amostragem.

A solução de eluição utilizada na etapa de *clean up* é composta por uma mistura de acetona:hexano na proporção de 1:1, devido à alta solubilidade da Trifluralina nesta mistura de solventes (PPDB, 2015; HOLMÉN et al., 2013).

### 5.1.3 Limpeza dos filtros

Foram avaliados dois procedimentos para a limpeza dos filtros de fibra de vidro da marca Whatman, retangular (20,3 x 25,4 cm e diâmetro de poros de 0,45  $\mu\text{m}$ ) esses foram utilizados nas campanhas de amostragem de material particulado PTS.

O primeiro método consistiu na calcinação dos filtros a 400 °C, por quatro horas, em forno mufla (SPLarbor, modelo SP1200). Em seguida, foi feita a extração desses filtros utilizando 200 mL da solução extratora em um sistema Soxhlet por 12 horas (KOSIKOWSKA e BIZIUK, 2010) ou via ultrassom com 50 mL de solução extratora. Estes extratos foram pré-concentrados até a secura e reconstituídos em 1 mL de uma solução composta por acetonitrila e água na proporção 80:20 e analisados por HPLC DAD.

No segundo método foi feita uma extração em um equipamento Soxhlet, por 24 horas, com 500 mL de uma solução de limpeza composta por acetona:hexano, na proporção de 1:1 (KOSIKOWSKA BIZIUK, 2010). Após esta etapa o filtro foi calcinado, extraído e analisado como descrito anteriormente.

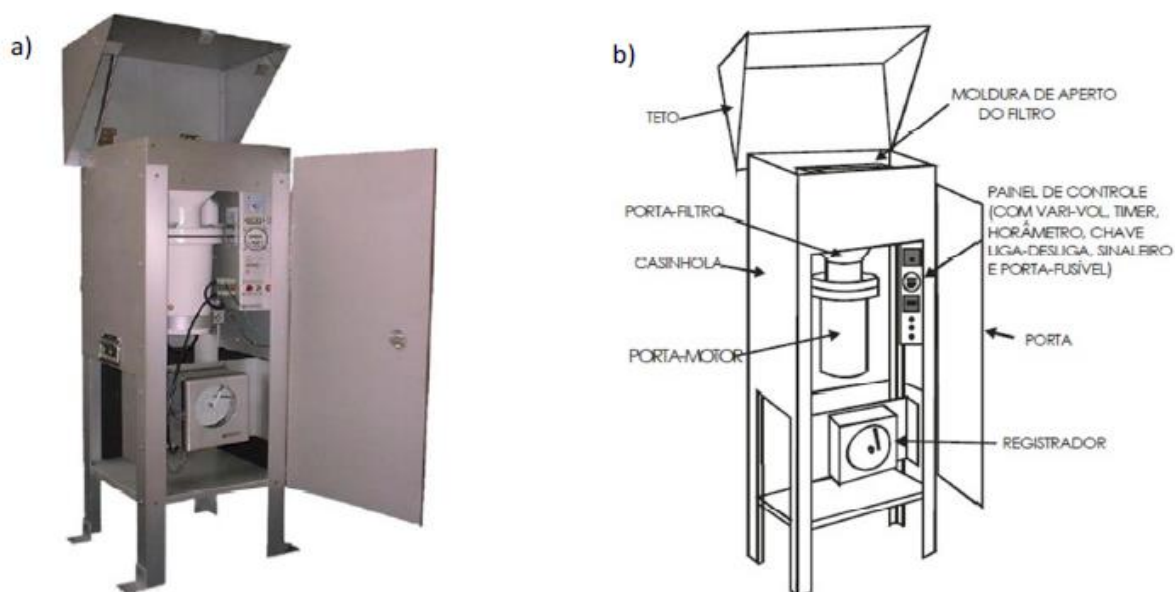
### 5.1.4 Calibração do amostrador de grande volume (AGV)

O equipamento para coleta de PTS, ilustrado na Figura 3 apresenta um sistema de bombas de sucção de ar, e uma cabeça seletora de partículas, a qual permite a passagem de partículas com diâmetro igual ou inferior a 50  $\mu\text{m}$  (PTS).

A calibração da vazão, para ambos os equipamentos, é baseada na diferença de nível entre os dois manômetros (diferença de pressão). Para tal foi utilizado um Calibrador Padrão de Vazão (CPV) no local onde é inserido o filtro

coletor de partículas. Juntamente com o CPV foi colocada uma placa contendo 18 perfurações padrão. Ligou-se o equipamento e mediu-se o desnível (em centímetros) nos dois manômetros, com placas de 18, 13; 10; 9 e 8 furos. Estes valores foram colocados em uma planilha de cálculo fornecida pela empresa Energética (DIAS, 2012).

Figura 3: a) Foto do amostrador de grandes volumes (AGV-PTS).  
b) Componentes do amostrador



## 5.2 Amostragens

Foram feitas coletas de material particulado atmosférico (PTS), em um período de 24 horas, nas cidades de Curitiba, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR, sede Ecoville) entre os dias 12 a 20 de Abril de 2016, e de Arapongas nos dias 10 e 11 de Maio de 2016, ambas no Paraná. As amostras foram coletadas na UTFPR com o intuito de avaliar parâmetros de validação. Na cidade de Arapongas o amostrador (PTS) foi utilizado por dois dias consecutivos (10/05/16 e 11/05/16). No primeiro dia o equipamento foi instalado em um posto de saúde, que foi escolhido por se tratar de uma área residencial (-23.493276 sul, -51.424408 leste). No segundo dia o equipamento foi instalado em uma residência as margens da rodovia, muito próxima a uma indústria de produção de agroquímicos (-23.497920sul, -51.423395 leste). Nesse ponto, outra amostragem foi realizada em 28 de setembro de 2016. A localização dos pontos de amostragem pode ser visualizada na Figura 4.

Figura 4: Localização dos pontos de amostragem, na cidade de Arapongas-PR.



Os filtros contendo o material particulado foram dobrados ao meio e colocados em uma folha de papel almaço. Esta foi acondicionada em um saco de polipropileno, o qual permaneceu em gelo durante o transportado até as dependências da UTFPR, onde foram armazenados em freezer, a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , até o momento da extração.

### 5.3 Condições para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Soluções de Trifluralina em acetonitrila e água na proporção 80:20, com concentração de  $2\text{ mg L}^{-1}$ , foram injetadas em um equipamento HPLC DAD, modelo Prominence da marca Shimadzu, equipado com uma unidade degaseificadora, um detector de arranjo de diodos e uma coluna de sílica C18 da marca Agilent, modelo Poroshell, de dimensões  $150\text{ mm} \times 4,6\text{ mm} \times 2,7\text{ }\mu\text{m}$  de diâmetro de partícula. Essa solução foi injetada de forma isocrática, nas condições mostradas na Tabela 3, com o intuito de avaliar o tempo de retenção da Trifluralina.

Tabela 3: Condições cromatográficas de vazão e composição da fase móvel para eluição isocrática por HPLC DAD

Condição	Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	Proporção de água (%)	Proporção de Acetonitrila (%)
A	0,2	10	90
B	0,3	10	90
C	0,4	10	90
D	0,5	10	90
E	0,2	20	80
F	0,3	20	80
G	0,4	20	80
H	0,5	20	80

## 5.4 Figuras de mérito para a cromatografia líquida

### 5.4.1 Seletividade

Para avaliação da seletividade foi injetado, de forma isocrática na condição E, um extrato de material particulado coletado na cidade de Curitiba, por não se tratar de uma região agrícola e não haver produção de Trifluralina na região próxima à universidade, possibilitando assim a obtenção de amostras isentas do analito. Em seguida foi injetada a mesma amostra porém fortificada com 2 mg L<sup>-1</sup> de Trifluralina.

Também foi avaliada uma eluição do extrato fortificado com 7 mg L<sup>-1</sup> de Trifluralina, na forma de gradiente, caso a eluição isocrática não apresentasse seletividade. Este método inicia a corrida cromatográfica utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 60:40 por 10 minutos; após este período a fase móvel passa de 60% de acetonitrila para 90% em 50 minutos, permanece nesta condição por 15 minutos. Em seguida há uma etapa de limpeza da coluna na qual a fase móvel é modificada para 100% de acetonitrila em

15 minutos, esta condição é mantida por 15 minutos para a limpeza da coluna. Após esta etapa as condições iniciais foram restabelecidas. Esta eluição ocorreu com um tempo total de 1 hora e 45 minutos na vazão de  $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ .

#### 5.4.2 Estudos da faixa linear

Foi construída uma curva analítica utilizando soluções nas concentrações de 0,8, 1, 2, 10, 20, 40, 60 e  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de Trifluralina; cada nível de concentração foi preparado em triplicata. Juntamente a elas foram preparados três brancos analíticos. Estas soluções foram analisadas utilizando a condição E, descrita na Tabela 2.

As áreas dos picos cromatográficos, obtidos nos comprimentos de onda de 205 e 274 nm, foram integradas, utilizando o próprio software do equipamento (LCsolution). A partir das áreas obtidas nas diferentes concentrações, foi construída a curva analítica, plotando o valor das áreas em função da concentração; em seguida foi avaliado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e o estudo de resíduos para avaliar o ajuste da curva e se a distribuição dos pontos apresenta alguma tendência (FERREIRA, 2015).

Para a faixa de trabalho, foram construídas quatro curvas analíticas no comprimento de onda de 274 nm, nas concentrações: 0,8; 1; 2; 3; 4 e  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . A partir destas quatro curvas foram comparadas as variações das respostas instrumentais para cada concentração e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Por fim foi feito o estudo de resíduos de uma curva construída utilizando a média das respostas em cada nível de concentração (FERREIRA, 2015).

#### 5.4.3 Limites de detecção e quantificação do equipamento

Os limites de detecção e quantificação foram calculados considerando, respectivamente, 3 e 10 vezes o desvio padrão dos sinais do “branco” dividido pelo coeficiente angular da curva construída no item 5.4 (SKOOG, 2014). Esses limites foram calculados em solução ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e convertidos para amostras de ar ( $\text{pg m}^{-3}$ ). Para tal, foi adotado o volume de  $1584 \text{ m}^3$ , o qual é equivalente a 24 horas de amostragem à vazão de  $1,1 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$ , dando origem a equação 4.

$$Lx_{ar} = \frac{Lx_{solução}}{1,59 * 10^6} \quad (4)$$

Em que  $Lx$  é o limite de detecção ou o limite de quantificação.

### 5.5 Avaliação das condições de pré-concentração

Foram avaliadas duas condições de pré-concentração, ambas realizadas em um rotaevaporador da marca IKA, modelo RV10 CONTROL. Para tal foram adicionados 200  $\mu$ L de uma solução padrão de Trifluralina, na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, em 20 mL da solução extratora composta por acetona:diclorometano:hexano na proporção 1:2:1; em seguida foi avaliada a pré-concentração evaporando o solvente à 55°C e -150 mmHg e a 36°C a -400 mmHg até sua completa secagem; a solução foi reconstituída em 1 mL de uma solução composta por água e acetonitrila na proporção 20:80; ambos os ensaios foram realizados em triplicata e as recuperações foram avaliadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC DAD).

### 5.6 Avaliação dos métodos de extração

Foram avaliadas, em triplicata, três métodos de extração: extração em banho de ultrassom, agitação mecânica (mesa agitadora) e Soxhlet. Todos os métodos de extração foram avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência e o método que apresentou as melhores recuperações foi aplicado para as amostras de material particulado atmosférico, analisadas por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas.

#### 5.6.1 Avaliação da extração por banho de ultrassom

Os filtros calcinados foram divididos em quatro partes, sendo que uma delas foi contaminada apenas com o acetato de etila utilizado no preparo dos padrões e as outras três partes foram contaminadas com 100  $\mu$ L da solução de Trifluralina em três níveis de concentração (10 mg L<sup>-1</sup>, 30 mg L<sup>-1</sup> e 50 mg L<sup>-1</sup>), os quais foram denominados níveis N.1; N.2 e N.3, respectivamente. Esses filtros foram submetidos a extração utilizando 50 mL da solução extratora em banho de ultrassom por 3 minutos, a potência de 132 W e frequência de 40 kHz. Esse processo foi realizado 3 vezes e os extratos (totalizando 150 mL) foram combinados e filtrados. Para isso, foi utilizada uma membrana de fibra de vidro, com diâmetro de poro de 0,45  $\mu$ m e 47 mm de diâmetro. Em seguida, os

extratos foram pré-concentrados e analisados por cromatografia líquida de alto desempenho, na condição E descrita em 5.3.

#### 5.6.2 Avaliação da extração por mesa agitadora

Os filtros foram tratados, divididos e contaminados da forma descrita em 5.6.1, dando origem aos níveis denominados AG.1, AG.2 e AG.3. Os fragmentos foram colocados em erlenmeyers de 250 mL, com 50 mL de solução extratora; em seguida agitou-se, em mesa agitatória (marca TECNAL, modelo TE-1400), por 3 minutos na velocidade de 120 rpm (rotações por minuto). Este procedimento foi realizado três vezes e os extratos (totalizando 150 mL) foram filtrados em membranas de filtra de vidro, com diâmetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  e 47 mm de diâmetro. Em seguida, os extratos foram pré-concentrados e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência na condição E descrita em 5.3.

#### 5.6.3 Avaliação da extração via Soxhlet

Os filtros foram tratados, divididos e contaminados da forma descrita em 5.6.1, dando origem aos níveis denominados S1, S2 e S3. Os fragmentos foram colocados dentro de um equipamento Soxhlet contendo 200 mL de solução extratora, a qual permaneceu em refluxo por 24 horas a 3 ciclos por hora, totalizando 72 ciclos; após este período lavou-se os condensadores com 10 mL de solução extratora. Por fim os extratos foram pré-concentrados e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência na condição E descrita em 5.3.

### 5.7 Avaliação da etapa de *clean up*

A etapa de *clean up* foi avaliada de forma independente do método de extração adotado e foi utilizada para limpeza das amostras, visando eliminar substâncias interferentes que possam ter sido extraídas juntamente com a Trifluralina, possibilitando a redução do efeito de matriz. Além disso, pequenas partículas, que não foram removidas na etapa de filtração com membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de fibra de vidro, podem ser retidas (KOSIKOWSKA e BIZIUK, 2010).

Para a etapa de *clean up*, 100 g de florissil foram ativados em estufa a 135°C por 24 horas e armazenados em dessecador para evitar a absorção de umidade, a qual pode reduzir a área de interação entre o florissil e as



substâncias as quais se deseja remover. A coluna foi preparada com 1 g de florisil ativado e lã de vidro em um cartucho de polipropileno, com capacidade de 6 mL.

Os ensaios foram realizados com o intuito de avaliar se a coluna iria reter a Trifluralina ou se haveriam perdas significativas do composto. Para tal, a coluna foi condicionada com 4 mL de uma solução composta por hexano:acetona na proporção de 1:1. Em seguida foram acrescentados 200  $\mu$ L de uma solução de Trifluralina na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, a qual foi eluída com 4 mL da mesma solução utilizada no condicionamento da coluna. O eluato foi pré-concentrado, até a secura e reconstituído com 1 mL de uma solução composta por água e acetonitrila na proporção 20:80 e posteriormente analisado por cromatografia líquida de alta eficiência de forma isocrática na condição E descrita em 5.3.

### **5.8 Condições para a Cromatografia gasosa acoplada a detector de massas**

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso da marca Agilent, modelo GC 7890, acoplado a detector de massas (modelo 7000), uma coluna de sílica fundida da marca Sigma Aldrich de 30 metros de comprimento e diâmetro de 0,25 mm (5%fenil), o injetor e o detector a 280 °C e utilizando hélio como gás de arraste na vazão de 1,6 L min<sup>-1</sup> e operando no modo splitless. Foi preparada uma solução de Trifluralina em acetato de etila 300  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, a qual foi injetada no equipamento a temperatura inicial do forno de 60 °C, a qual permaneceu por 1 minuto. Em seguida a temperatura foi elevada até 120 °C à 40 °C min<sup>-1</sup>. Por fim a temperatura foi elevada até 240 °C à 10 °C min<sup>-1</sup>. As áreas dos picos foram obtidas através do software (QQQ Quantitative Analysis) do próprio equipamento. Sendo o tempo total de corrida de 14,5 minutos. O equipamento foi programado para monitorar os fragmentos de relação massa carga; 264 e 206, oriundos do íon de relação massa carga 306 (COSCOLLÀ et al., 2014).

## 5.9 Figuras de mérito para cromatografia gasosa acoplada a detector de massas

### 5.9.1 Seletividade do método

Para a avaliação da seletividade foi injetado, nas condições descritas em 5.8, um extrato de material particulado coletado na UTFPR, Curitiba, por não se tratar de uma região agrícola e não haver produção de Trifluralina na região próxima à universidade, possibilitando assim a obtenção de amostras isentas do analito. Em seguida foi injetada a mesma amostra, porém fortificada com Trifluralina na concentração de  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 5.9.2 Estudo da faixa linear

Foram preparadas soluções de Trifluralina nas concentrações de 2,5; 5; 10; 15; 20; 25; 50; 60; 70; 80; 90; 100; 200; 300; 400 e  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ; cada um dos pontos foi feito em triplicata. Estas soluções foram analisadas como descrito em 5.8. Em seguida construiu-se o gráfico da área do pico cromatográfico em função da concentração.

Avaliou-se a linearidade através do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), também foi feito o ajuste da curva através do gráfico de resíduos e por fim foi avaliado se o gráfico de resíduos apresentava alguma tendência (FERREIRA, 2015).

### 5.9.3 Estudo da faixa de trabalho

Para a avaliação da linearidade da faixa de trabalho, foram construídas três curvas analíticas nas concentrações: 5; 8; 10; 12 e  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ . A partir destas três curvas foram comparadas as variações das respostas instrumentais para cada concentração e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Por fim foi feito o estudo de resíduos de uma curva construída utilizando a média das respostas em cada nível de concentração (FERREIRA, 2015).

### 5.9.4 Limites de detecção e quantificação

Foi construída uma curva analítica contendo 5 pontos, com concentrações de Trifluralina de 5, 8, 10, 12 e  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo cada ponto feito em triplicata. Em seguida foram analisados três brancos analíticos. A partir do desvio padrão dos brancos ( $S_b$ ) e do coeficiente angular da curva ( $m$ ), foram calculados os limites de detecção e quantificação (LD e LQ), considerando 3 e

10 vezes o desvio padrão dos sinais do “branco” dividido pelo coeficiente angular da curva construída. Em seguida os limites em ar foram calculados como descrito em 5.4.3.

### 5.10 Avaliação do Efeito de matriz associado

A matriz pode acrescentar erros à análise, os quais podem gerar acréscimos ou atenuações do sinal analítico. Para avaliar o efeito proporcionado pela matriz, foi realizada a análise de uma amostra de PTS coletada em Curitiba e fortificada com 100 µL de uma solução na concentração de 100 µg L<sup>-1</sup> de Trifluralina. Esta amostra foi quantificada utilizando calibração externa e uma curva analítica construída com o extrato da matriz (superposição de matriz). Foi realizado um teste t para avaliar se houve diferença entre os resultados para 95 % de confiança. Também foram avaliadas três curvas analíticas correspondentes a cada uma das duas metodologias; a partir delas foi proposta uma relação que possa corrigir o efeito proporcionado pela matriz. Esta relação é composta por dois coeficientes (A e B), sendo A a razão entre o coeficiente angular da reta obtida pelo método da calibração externa ( $a_{ps}$ ) e o coeficiente angular da curva obtida pelo método de superposição de matriz ( $a_{pm}$ ), logo  $A = a_{ps} / a_{pm}$ . Já o coeficiente B é composto pela subtração entre o coeficiente linear obtido pelo método da calibração externa ( $b_{ps}$ ) e o coeficiente linear obtido pelo método da superposição de matriz ( $b_{pm}$ ) dividido pelo coeficiente angular da curva obtida pelo método de superposição de matriz, gerando  $B = (b_{ps} - b_{pm})/a_{pm}$ . A partir destes coeficientes a relação é construída e apresenta o seguinte formato:

$$C_{real} = AC + B \quad (5)$$

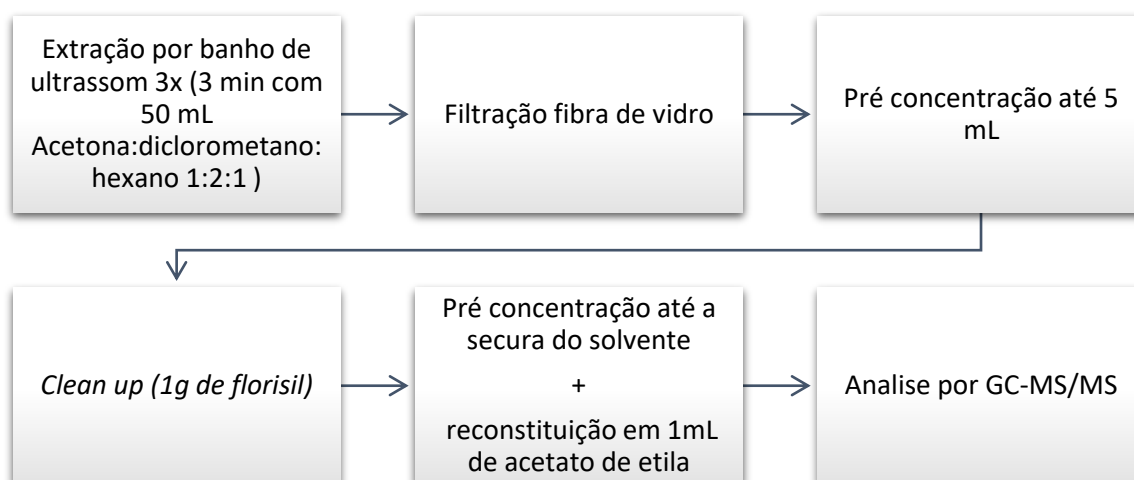
Em que C é a concentração obtida utilizando o método de calibração externa (não leva em conta o efeito de matriz associado),  $C_{real}$  é a concentração levando em conta o efeito de matriz (PINHO et al., 2009).

### 5.11 Testes de fortificação e recuperação na matriz

Os testes de recuperação foram realizados em 3 concentrações distintas (5; 10 e 15 µg L<sup>-1</sup>) em triplicata. Para cada concentração utilizou-se um filtro, contendo uma amostra de PTS, dividido em quatro partes; três delas foram enriquecidas com 50, 100 ou 150 µL de uma solução padrão de Trifluralina na

concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  e na outra foi adicionado o mesmo volume de acetato de etila. Essas amostras passaram pelo procedimento de extração por banho de ultrassom (descrito em 5.6.1), com pré-concentração até aproximadamente 5 mL à  $36^\circ\text{C}$  e  $-400 \text{ mmHg}$ , em seguida passaram pela etapa de *clean up*, como descrito em 5.7. Por fim os extratos foram pré-concentrados novamente em rotaevaporador à  $36^\circ\text{C}$  e  $-400 \text{ mmHg}$ , até a completa secura do solvente, ressolubilizados em 1 mL de acetato de etila, grau HPLC, e filtrados em membrana de Fluoreto de polivinilideno (PVDF) de  $0,2 \mu\text{m}$ . A Figura 5 apresenta um fluxograma das etapas

Figura 5: Fluxograma das etapas de preparo da amostra até a análise por GC-MS/MS



Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (CG-MS/MS), nas condições descritas em 5.8. A quantificação do analito foi utilizada uma curva analítica utilizando o método de superposição de matriz, a qual consiste em construir a curva analítica a partir do extrato da matriz de PTS ausente do analito para reduzir o efeito associado a matriz (PINHO et al.,2009).

Os valores obtidos foram comparados com os valores esperados, avaliando a recuperação do analito e o coeficiente de variação (CV). A recuperação do analito deve ser superior a 70 % e inferior a 120 %, já o

coeficiente de variação não deve ser superior a 20 % (RIBANI et al., 2004; EUROPEAN COMMISSION, 2013).

### **5.12 Determinação da Trifluralina em material particulado atmosférico (PTS )**

Os filtros, contendo o material particulado amostrado, foram retirados do freezer, cortados ao meio e cada metade passou pelos procedimentos descritos em 5.11.

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (CG-MS/MS), nas condições descritas em 5.8. Para a quantificação do analito foi utilizada uma curva analítica utilizando o método da superposição de matriz e de calibração externa para avaliar possíveis efeitos da matriz.

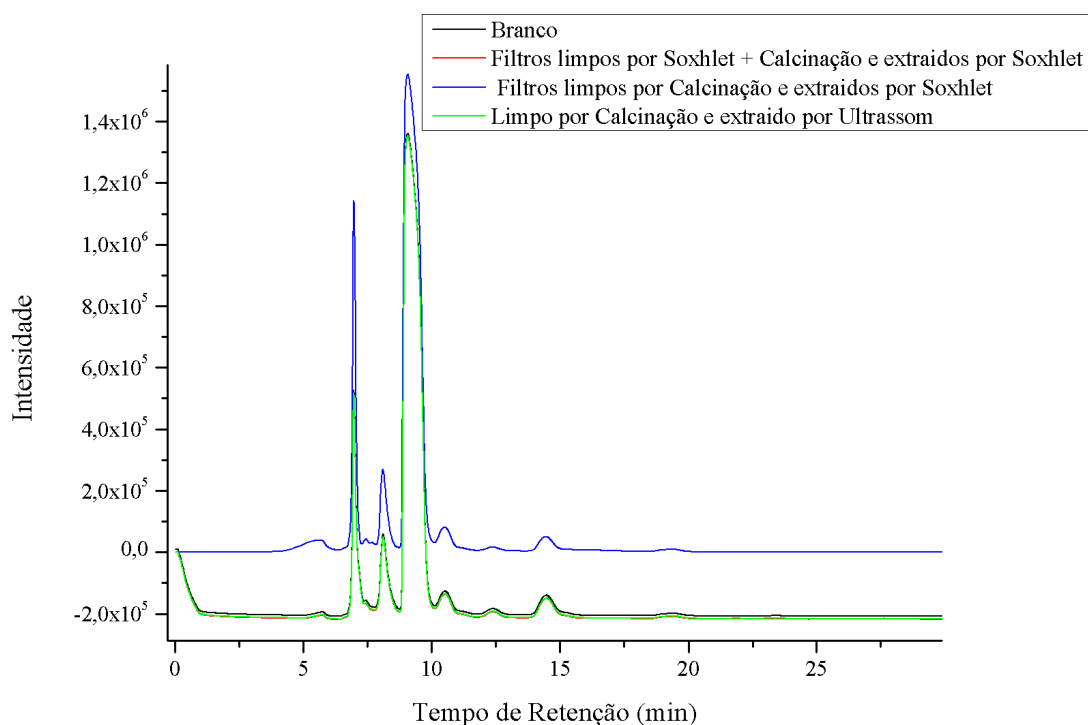
Para o método da superposição de matriz foi coletada uma amostra de material particulado em Curitiba, nas dependências da UTFPR sede Ecoville entre os dias 12 e 20 de abril de 2016. Estas amostras foram coletadas, pois não apresentam resíduos do analito e por estar muito próximo a uma rodovia o material particulado atmosférico pode apresentar composição semelhante ao material particulado coletado em Arapongas. Esta amostra foi preparada como descrito anteriormente e este extrato foi utilizado para diluir o padrão da Trifluralina, produzindo assim soluções de concentração 0; 3; 5; 10; 15 e 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Já a curva de calibração externa foi construída diluindo o padrão de Trifluralina em acetato de etila grau HPLC, na mesma faixa de concentração.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Limpeza dos filtros

Na Figura 6 estão representados os cromatogramas referentes à injeção do extrato obtido após a limpeza dos filtros: via Soxhlet e calcinação (linha vermelha); apenas calcinação (com extração via soxhlet, linha azul, e com extração via ultrassom, linha verde); e em preto um “branco” dos solventes (acetona:diclorometano: hexano na proporção de 1:2:1). Nele pode-se notar a presença de alguns picos associados aos solventes, nos tempos de retenção (tr) de 7,07; 8,07; 9,00; 10,47 e 14,41 minutos, os quais não interferiram na quantificação do herbicida Trifluralina (tr = 22,8 minutos). A resposta oriunda apenas dos solventes apresentou o mesmo perfil dos filtros limpos por solvente e calcinados. O mesmo resultado foi observado quando os filtros foram extraídos por Soxhlet (azul) e por ultrassom (verde), portanto observa-se uma sobreposição dos cromatogramas apresentados na Figura 6.

Figura 6: Cromatograma referente à análise por HPLC-DAD para injeção de 30  $\mu\text{L}$  dos extratos após a limpeza dos filtros, utilizando uma coluna C18 e acetonitrila:água, na proporção 80:20 e vazão de 0,2  $\text{mL min}^{-1}$ , comprimento de onda de 274 nm.



A simples calcinação mostrou-se uma boa estratégia para a limpeza dos filtros por manter a integridade dos filtros, eliminar a utilização de solventes orgânicos de alta pureza, reduzir a geração de resíduos, diminuir a exposição dos analistas a substâncias tóxicas a saúde e por remover possíveis substâncias que pudessem interferir na determinação da Trifluralina. A limpeza via Soxhlet em muitos casos danificou os filtros devido ao manuseio dos mesmos ainda úmidos. Coscollà et al. (2008) sugeriram que a limpeza dos filtros fosse feita em equipamento Soxhlet, seguida de uma etapa de calcinação, porém não apresentou um estudo que comprove a necessidade desta etapa. Já Kosikowska e Biziuk (2010) sugeriram que os filtros fossem submetidos apenas a um tratamento térmico antes da amostragem.

## **6.2 Condições para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

Na Figura 7 estão representados os cromatogramas para a Trifluralina a  $2 \text{ mg L}^{-1}$  nas condições A, B, C e D, para vazões de fase móvel de 0,2; 0,3; 0,4 e  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , respectivamente, as quais utilizaram eluição na forma isocrática, com fase móvel composta por acetonitrila e água na proporção 90:10. Na Figura 8 estão representados os cromatogramas para a trifluralina nas condições E, F, G e H, para vazões de fase móvel de 0,2; 0,3; 0,4 e  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$  respectivamente, utilizando eluição isocrática com fase móvel composta por acetonitrila e água na proporção 80:20.

A redução no tempo de retenção com o aumento da vazão foi observada, conforme esperado. Houve também um pequeno alargamento, que não alterou a simetria dos picos, com a redução da vazão; porém as áreas se mantiveram iguais, demonstrando a robustez do equipamento.

Figura 7: Cromatograma da eluição isocrática para 30  $\mu\text{L}$  de uma solução 2  $\text{mg L}^{-1}$  de Trifluralina, com fase móvel acetonitrila e água (90:10), nas vazões de 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5  $\text{mL min}^{-1}$ , analisado no comprimento de onda de 274 nm.

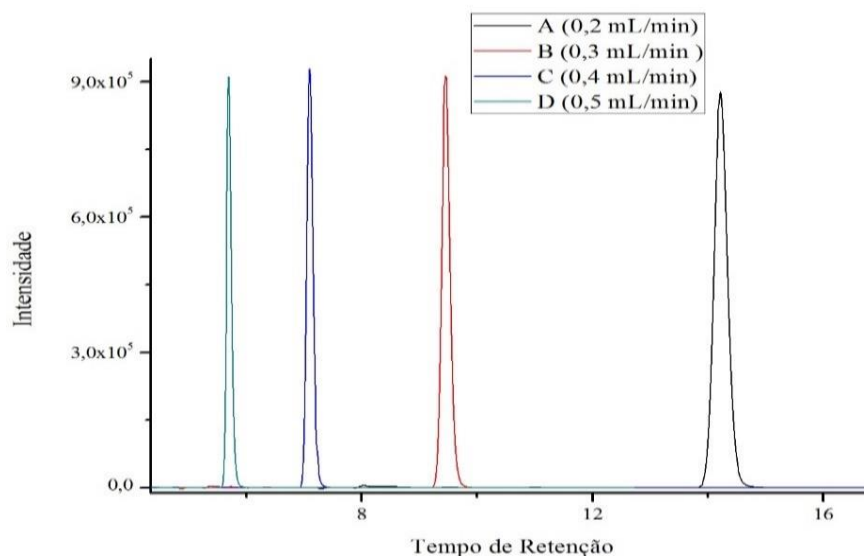
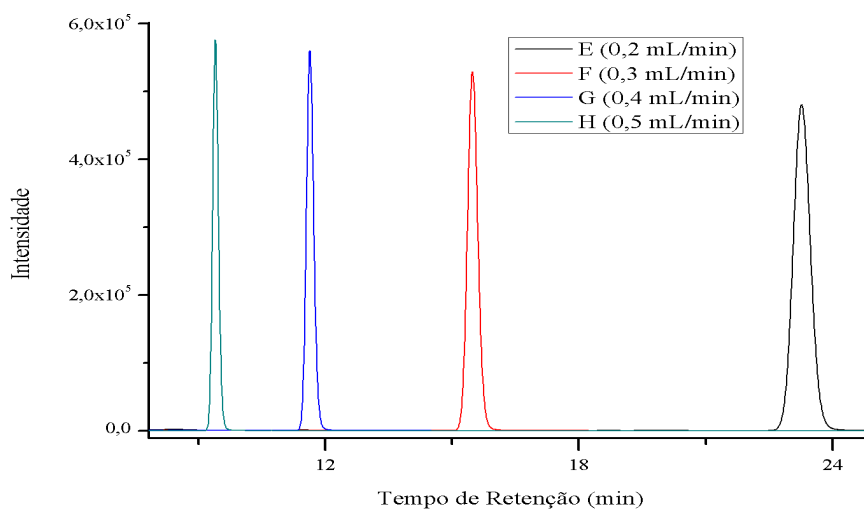


Figura 82: Cromatograma da eluição isocrática para 30  $\mu\text{L}$  de uma solução 2  $\text{mg L}^{-1}$  de Trifluralina, com fase móvel acetonitrila e água (80:10), nas vazões de 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5  $\text{mL min}^{-1}$ , analisado no comprimento de onda de 274 nm.



De forma semelhante ao caso anterior, também notou-se a redução do tempo de retenção com o aumento da vazão; por outro lado um pequeno alargamento dos picos quando comparado com o ensaio anterior. Esta diferença pode estar associada com a menor força de eluição da fase móvel utilizada (80:20), a qual reteve mais o analito (NETO, 2009).

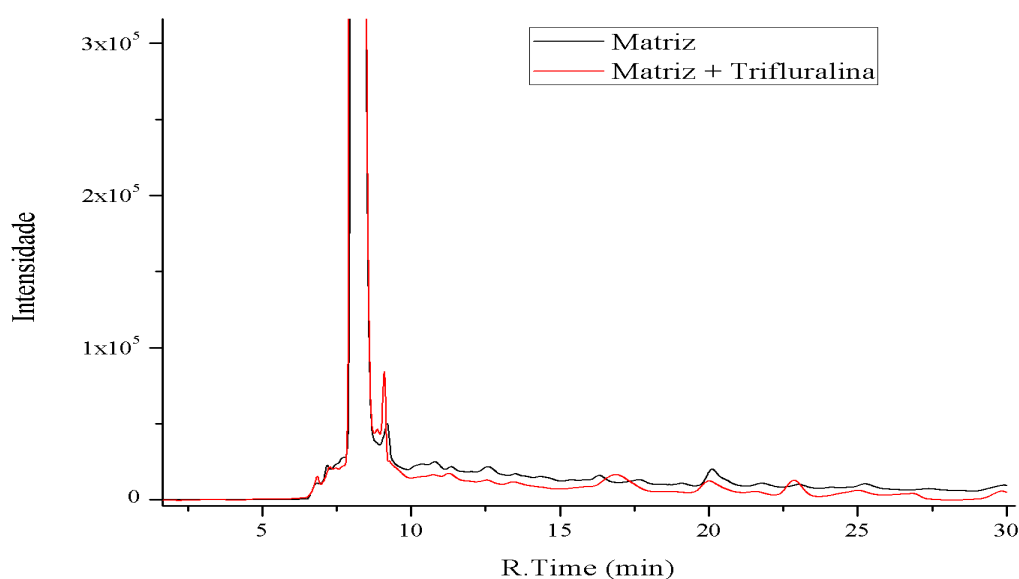


### 6.3 Figuras de mérito para a cromatografia líquida

#### 6.3.1 Seletividade

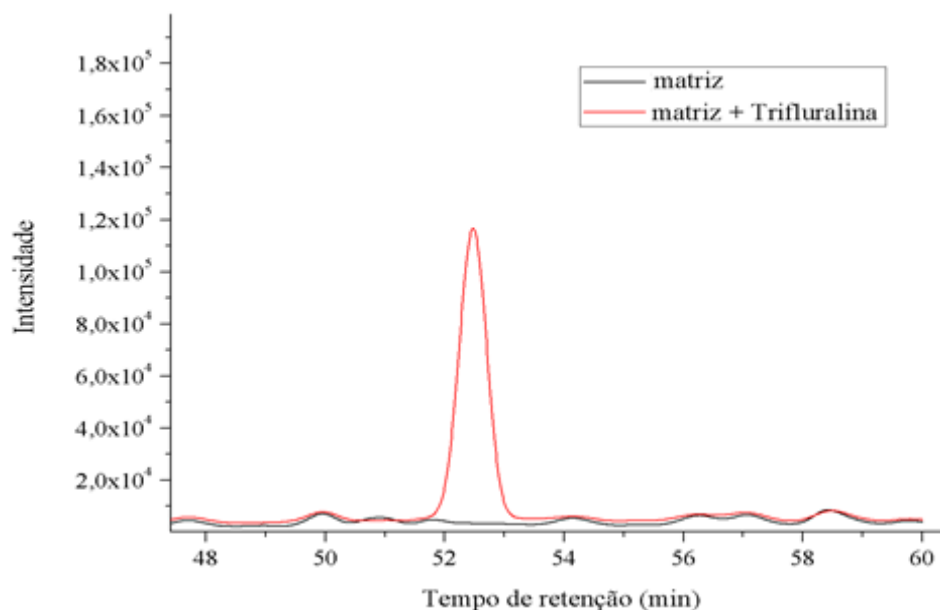
Para avaliar a seletividade primeiramente foi realizada uma eluição de forma isocrática, nela foi utilizada uma amostra de material particulado enriquecida com Trifluralina na concentração de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  e uma na ausência do composto; esta forma de eluição apresentou baixa resolução entre o pico da Trifluralina e o de uma substância interferente presente na matriz no tempo de retenção de 22,8 min, demonstrado na Figura 9.

Figura 93: Cromatograma de uma amostra de material particulado atmosférico na ausência e presença de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de Trifluralina, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, na vazão de  $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ , usando como fase estacionária uma coluna C18, sendo injetado  $30 \mu\text{L}$  e analisado no comprimento de onda 274 nm.



Um extrato na ausência de Trifluralina e outro fortificado com  $7 \text{ mg L}^{-1}$ , foram eluídos de forma gradiente; nesta forma de eluição o problema de seletividade foi solucionado, pois não houve coeluição de substâncias interferentes próximas a Trifluralina, a qual apresentou tempo de retenção de 52,4 minutos. Na Figura 10 encontra-se o cromatograma do extrato na ausência de Trifluralina (matriz) e a matriz fortificada (matriz + Trifluralina).

Figura 10: Cromatograma da eluição por gradiente de um extrato de material particulado atmosférico enriquecido com  $7 \text{ mg L}^{-1}$  de Trifluralina, na vazão de  $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ , usando como fase estacionária uma coluna C18, sendo injetado  $30 \mu\text{L}$  e analisado no comprimento de onda  $274 \text{ nm}$ .



### 6.3.2 Estudo da faixa linear

Para a determinação da extensão da faixa linear foram construídas curvas analíticas, as quais estão presentes na Figura 11, as curvas analíticas foram obtidas a partir de soluções de Trifluralina em concentrações que variaram de  $0,8$  a  $100 \text{ mg L}^{-1}$  e foram analisadas nos comprimentos de onda de  $205$  e  $274 \text{ nm}$ , os valores dos coeficientes de determinação e as equações das retas estão presentes na Tabela 4. Nota-se que ambas as curvas apresentaram valores satisfatórios para os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) (FERREIRA, 2015).

Figura 11: Curvas analíticas da Trifluralina, fase móvel acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de 0,2 mL min<sup>-1</sup>, usando uma coluna C18, sendo injetado 30 µL em concentrações que variaram 0,8 a 100 mg L<sup>-1</sup> (n = 3), nos comprimentos de onda de 205 e 274 nm.

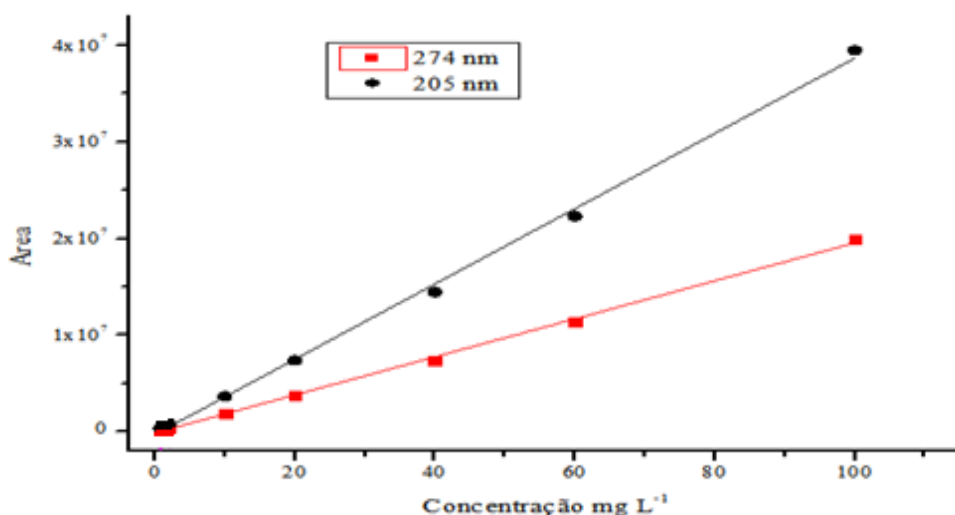
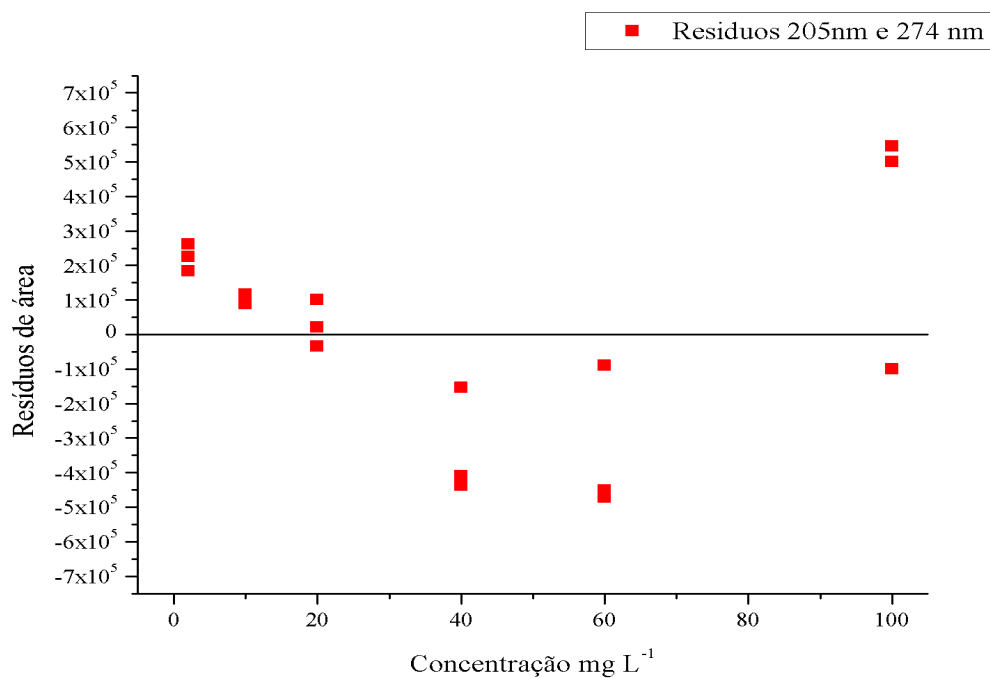


Tabela 4: Equação de reta e coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) das curvas analíticas demonstradas na Figura 11.

Comprimento de Onda	Equação	R <sup>2</sup>
205	$y = 389366,478x - 276288,946$	0,997
274	$y = 196684,501x - 111684,692$	0,998

Porém apenas o coeficiente de determinação não é suficiente para garantir que um conjunto de dados apresenta um comportamento linear, pois o método dos mínimos quadrados parciais tende a ajustar a curva para que seja minimizada a soma dos quadrados das diferenças, ajustando assim o modelo (FERREIRA, 2015). Na Figura 12 está representado o estudo do comportamento dos resíduos referente as curvas da Figura 11.

Figura 42: Estudo dos resíduos, para as curvas analíticas construídas em 205 e 274 nm, com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 100 mg L<sup>-1</sup>



Para identificar um comportamento linear, o gráfico de resíduos (Figura 12) deve apresentar pontos distribuídos de forma aleatória e próximos a linha do zero (Ferreira, 2015). Porém observa-se que os resíduos têm a tendência de formar uma parábola, demonstrando a dependência dos resultados e a não linearidade de 0,8 até 100 mg L<sup>-1</sup>.

Porém, quando se avalia concentrações de 0,8 a 60 mg L<sup>-1</sup>, não se nota uma melhoria no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), que passa de 0,998 para 0,999 para a curva construída em 274 nm e de 0,997 para 0,999 para a curva construída em 205 nm. Estas curvas estão representadas na Figura 13 e as equações de reta juntamente com os de coeficiente de determinação ( $R^2$ ) estão presentes na Tabela 5.

Figura 5: Curvas analíticas da Trifluralina, utilizando uma mistura de acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de  $0,2 \text{ mL min}^{-1}$  em uma coluna C18, sendo injetado  $30 \mu\text{L}$  em concentrações de  $0,8$  a  $60 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 3$ ), nos comprimentos de onda de  $205$  e  $274 \text{ nm}$ .

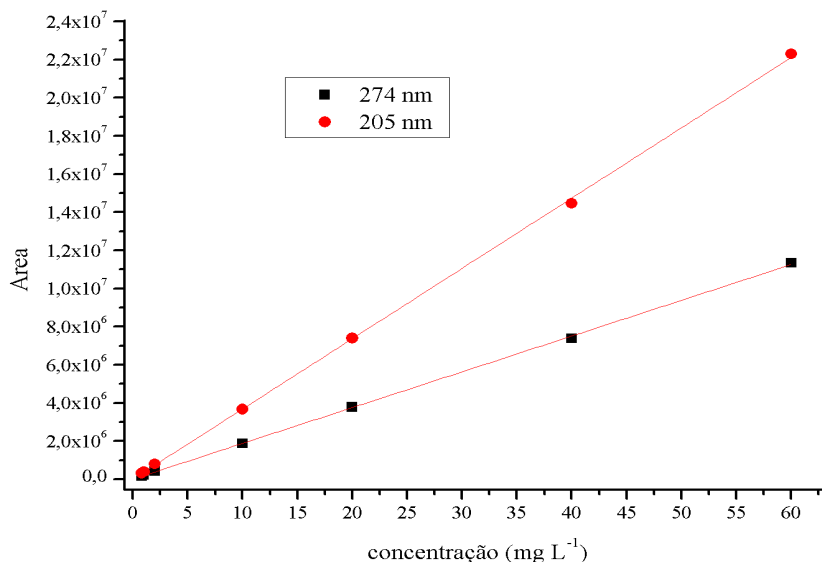
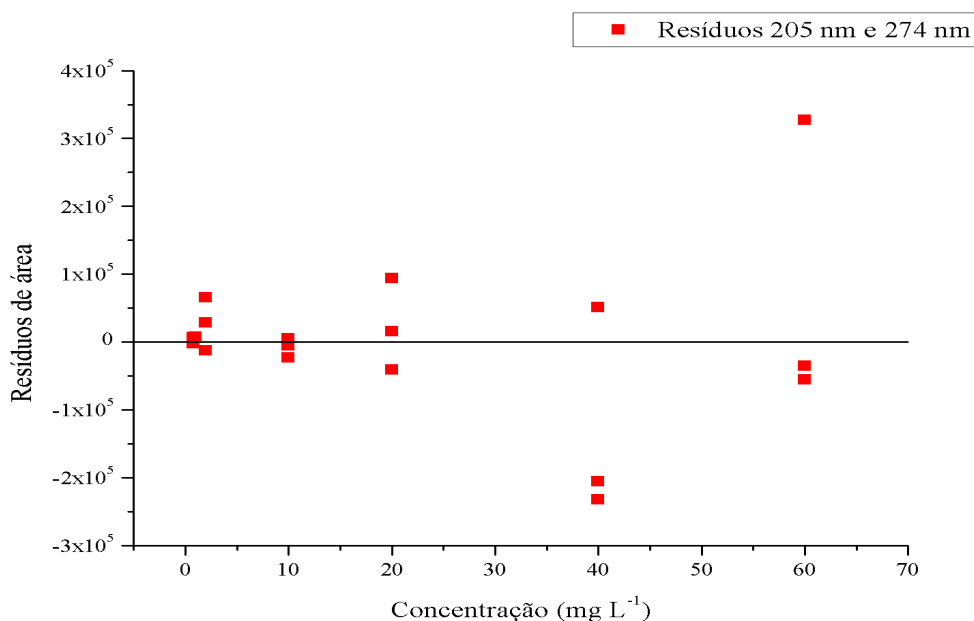


Tabela 6: Equação de reta e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das curvas analíticas demonstradas na Figura 13

Comprimento de onda	Equação	$R^2$
205	$y = 368958,656x - 15182,336$	0,999
274	$y = 187598,939x + 7474,541$	0,999

Avaliando o gráfico de resíduos representado na Figura 14, pode-se notar a distribuição aleatória dos pontos, por consequência a independência dos resíduos, e próxima do zero demonstrando que concentrações de  $0,8$  a  $60 \text{ mg L}^{-1}$  apresentam uma resposta cromatográfica diretamente proporcional a concentração do analito.

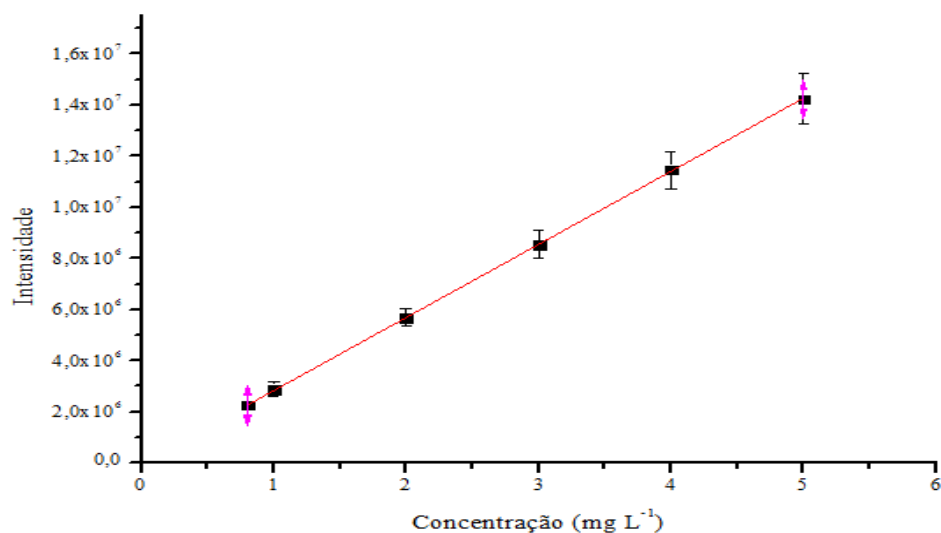
Figura 14: Estudo dos resíduos, para a curva analítica construída em 205 e 274 nm, com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 60 mg L<sup>-1</sup>.



### 6.3.3 Estudo da faixa de trabalho

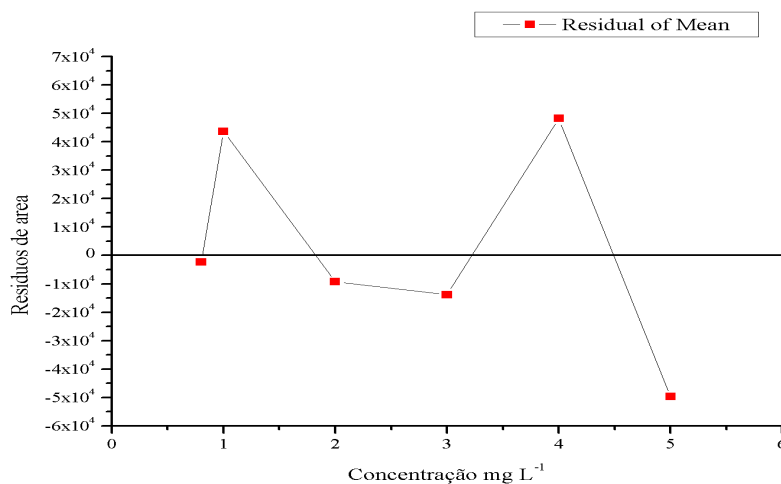
Também foi avaliada a linearidade da faixa de trabalho. A Figura 15 contempla a curva analítica construída no comprimento de onda de 274 nm, com soluções que variam de 0,8 a 5 mg L<sup>-1</sup> de Trifluralina, em triplicata e o desvio padrão de cada ponto analisado, para a avaliação da faixa de trabalho.

Figura 65: Curva analítica construída no comprimento de onda de 274 nm, fase móvel acetonitrila e água na proporção 80:20, vazão de 0,2 mL min<sup>-1</sup> em uma coluna C18, sendo injetado 30 µL em concentrações de 0,8 a 5 mg L<sup>-1</sup> (n=3).



O coeficiente de determinação (R) apresentou valor de 0,999 demonstrando uma forte correlação entre a resposta instrumental e a concentração (BRITO, 2003). A reta (Figura 15) apresenta a seguinte equação  $y = 272550x + 23758,754$ . O gráfico de resíduos referente a esta curva analítica está representado na Figura 16.

Figura 76: Estudo dos resíduos, para a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 0,8 a 5 mg L<sup>-1</sup>



A faixa estudada apresentou linearidade, comprovada pelo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>) e pela distribuição aleatória dos resíduos. Devido a boa resposta definiu-se a faixa de trabalho de 0,8 a 5 mg L<sup>-1</sup>.

#### 6.3.4 Limites de detecção e quantificação

Utilizando os coeficientes angulares da curva analítica do item anterior, juntamente com o desvio padrão das respostas do “branco”, calculou-se os limites de detecção e quantificação instrumental do HPLC-DAD. Na Tabela 6 estão apresentados esses limites, tanto em solução quanto em ar.

Tabela 6: Limites de detecção e quantificação instrumental para a trifluralina analisada por HPLC-DAD

Comprimento de onda	LD	LQ
205 nm (solução)	65,3 $\mu\text{g L}^{-1}$	217,7 $\mu\text{g L}^{-1}$
274 nm (solução)	57,3 $\mu\text{g L}^{-1}$	191,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
205 nm (ar)	42,0 $\text{pg m}^{-3}$	140,0 $\text{pg m}^{-3}$
274 nm (ar)	37,2 $\text{pg m}^{-3}$	124,0 $\text{pg m}^{-3}$

Devido a maior inclinação da reta obtida em 205 nm, esperava-se que a maior sensibilidade do composto neste comprimento de onda fosse gerar limites de detecção e quantificação menores que os obtidos em 274 nm. Porém isso não ocorreu devido ao maior desvio padrão do branco obtido no comprimento de onda de 205 nm.

Esses limites foram considerados satisfatórios, pois vários estudos encontraram concentrações de Trifluralina no material particulado atmosférico superiores ao limite de quantificação do HPLC-DAD. Dentre estes estudos pode-se destacar o estudo de Sanusi et al. (2000), neste estudo a Trifluralina apresentou concentrações que variam de 743 a 3800  $\text{pg m}^{-3}$  e o estudo de Borrás *et al.* (2011) que registou concentrações que variaram de 80 a 300  $\text{pg m}^{-3}$ .

#### 6.4 Avaliação das condições de pré-concentração

Duas condições de pré concentração foram avaliadas para definir a condição que gera as menores perdas e que apresente a melhor precisão entre os resultados. Na Tabela 7 encontram-se os valores de recuperação da Trifluralina nas duas condições de pré-concentração testadas. Sendo a condição 1 realizada a 55 °C e -150 mmHg e a condição 2 realizada a 36 °C e -400 mmHg.



Tabela 7: Avaliação das condições de pré-concentração, analisados por HPLC-DAD

	Concentração esperada (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração final (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação média (%)	Desvio padrão médio	Coefficiente de variação (%)
Condição 1	2,00	1,30	65,1	0,13	10,04
Condição 2	2,00	1,48	73,6	0,012	0,81

Estes resultados demonstram que altas temperaturas podem aumentar significativamente as perdas do analito, devido a sua volatilização, além de aumentar a variação entre os resultados, incidindo em mais fontes de erro no preparo das amostras. Borrás et al. (2011) realizou a pré-concentração em rotaevaporador a 40°C e não relatou perdas significativas dos pesticidas analisados, dentre eles a Trifluralina.

### 6.5 Avaliação dos procedimentos de extração

A partir do estudo de diferentes procedimentos de extração foi possível determinar as principais fontes de erro e as principais causas de perdas do analito durante as etapas de extração. Pode-se destacar dois fatores, a fotodecomposição, pois o tempo de meia vida da Trifluralina, quando exposta a luz, é de aproximadamente 20 minutos, dependendo das condições de iluminação, e a perda por volatilização, principalmente quando são utilizadas altas temperaturas durante o processo de pré-concentração (BORRAS et al., 2011).

#### 6.5.1 Avaliação da extração por banho de ultrassom

A extração da Trifluralina, adicionada a um filtro de coleta, foi realizada por banho de ultrassom e a recuperação obtidas encontra-se na Tabela 8. Nela estão representados os níveis de recuperação da Trifluralina das amostras N1;

N2 e N3, descontando os valores dos brancos, após o procedimento de extração por ultrassom. A recuperação foi considerada satisfatória para todos os níveis, uma vez que a média de recuperação foi superior a 70% e inferior a 120% e os coeficientes de variação foram inferiores a 20% (RIBANI et al., 2004). Além disso, as recuperações foram próximas as encontradas por Borrás et al. (2011), sendo que no estudo deste autor foram realizadas duas extrações com isoctano em banho de ultrassom.

Tabela 8: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações via ultrassom, em três ciclos de 3 minutos cada utilizando 50 mL da solução extratora em cada ciclo e análise por HPLC-DAD

Nível	Concentração esperada (mg L <sup>-1</sup> )	Porcentagem de recuperação (%)	Concentração média obtida (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
N1	1	95,0	0,95	0,15	15,70
N2	3	93,1	2,80	0,25	8,92
N3	5	91,0	4,55	0,38	8,40

#### 6.5.2 Avaliação da extração por mesa agitadora

Os resultados obtidos por agitação mecânica em três ciclos de 3 minutos encontram-se na Tabela 9, nela estão os níveis de recuperação o desvio padrão e o coeficiente de variação para cada um dos níveis de fortificação (AG1, AG2 e AG3).

Tabela 9: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações via agitação mecânica em três ciclos de 3 minutos cada utilizando 50 mL da solução extratora em cada ciclo e análise por HPLC-DAD

Nível	Concentração esperada (mg L <sup>-1</sup> )	Porcentagem de recuperação (%)	Concentração de média obtida (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
AG1	1	67,5	0,675	0,007	1,05
AG2	3	59,3	1,78	0,154	8,64
AG3	5	70,3	3,52	0,110	3,14

A extração por agitação mecânica é um método que apresentou uma boa precisão, o que é comprovado pelo baixo desvio padrão e baixo coeficiente de variação, o qual não foi superior a 20% em nenhum dos níveis estudados (RIBANI et al., 2004). Porém este método, nas condições adotadas, não obteve uma boa recuperação do analito, comprometendo a exatidão do método. Pode-se notar que em apenas um nível a recuperação ficou dentro do mínimo esperado, que é de 70% (RIBANI et al., 2004). Não foram encontrados relatos do uso da agitação mecânica para a extração do herbicida em material particulado atmosférico.

### 6.5.3 Avaliação da extração via Soxhlet

A avaliação da extração da Trifluralina utilizando 200 mL de solução extratora em um equipamento soxhlet durante um período de 24 horas encontra-se na Tabela 10, nela estão os níveis de recuperação o desvio padrão e coeficiente de variação para cada um dos níveis de fortificação (S1, S2 e S3).

Tabela 10: Níveis de recuperação da Trifluralina em extrações feitas utilizando equipamento Soxhlet, durante um período de 24 horas a 3 ciclos por hora utilizando 200 mL de solução extratora e análise por HPLC-DAD.

Nível	Concentração esperada (mg L <sup>-1</sup> )	Porcentagem de recuperação (%)	Concentração média obtida (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
S1	1	76,3	0,76	0,06	8,0
S2	3	80,1	2,40	0,18	7,5
S3	5	86,0	4,30	0,11	2,7

Nota-se que o método apresentou boas recuperações, superiores a 70 %, e todos os níveis apresentaram um baixo desvio padrão e por consequência o método de extração apresentou uma boa precisão, a qual é evidenciada pelo baixo coeficiente de variação, sendo inferior a 20 % (RIBANI et al., 2004). Estes resultados são comparáveis aos resultados de Sadiki et al. (2008). Neste estudo o autor utilizou para a extração 400 mL de uma mistura de acetona e hexano na proporção de 1:1 e obteve recuperações da ordem de 90%. Por outro lado os coeficientes de variação encontrados por Sadiki et al. (2008) foram de 25 %, os quais foram superiores aos encontrados no presente estudo.

Os grandes problemas deste método de extração são o grande consumo de solvente, gerando grandes volumes de resíduos; o elevado tempo necessário para o preparo, o que causa um aumento no tempo de análise e consequentemente uma maior exposição do analista; e a grande quantidade energética demandada pelos equipamentos. Estas características estão na contramão dos princípios 1 e 6 empregados pela Química Verde, que dizem respeito a geração de resíduos e a eficiência energética (LENARDAO et al., 2003).

## 6.6 Avaliação da etapa de *clean up*

A florissil previamente ativada a 137°C, empacotada em uma seringa de polipropileno e acondicionada com 4 mL de uma solução composta por acetona:hexano na proporção de 1:1 não apresentou grandes perdas do analitos demonstrando ser um bom adsorvente para a etapa de *clean up*. Recuperou-se 82 % do analito inserido na coluna, a concentração final da solução analisada foi de 1,64 mg L<sup>-1</sup>. O desvio padrão entre as réplicas foi de 0,028 e o coeficiente de variação foi de 1,73 %. Estes resultados foram satisfatórios por não apresentar grandes perdas do analito, por não adsorver fortemente o herbicida e por apresentar uma boa repetibilidade, refletida no baixo desvio padrão entre as replicatas.

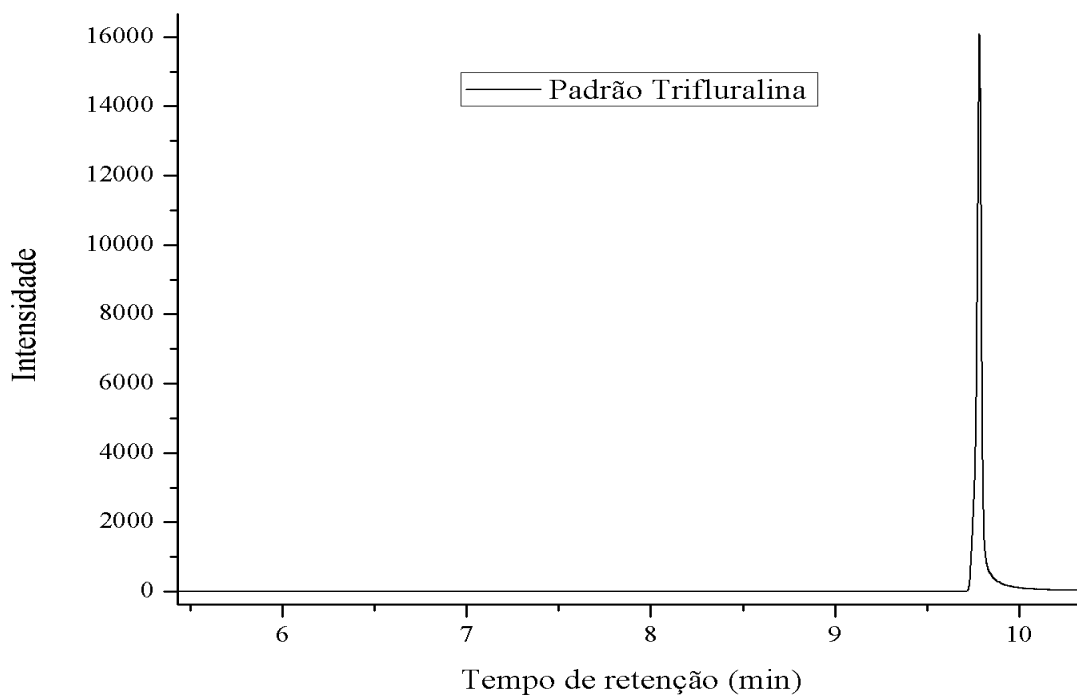
Esta etapa também mostrou-se importantíssima, pois testes realizados com o extrato da matriz que não passaram pela etapa de *clean up* acabaram saturando as membranas de PVDF hidrofílicas, demonstrando a eficiência da coluna de florissil na remoção de substâncias presentes no extrato, como a filtração em membrana de 0,2 µm é essencial para a análise em cromatografia gasosa acoplada a detector de massas a etapa de *clean up* tornou-se uma etapa fundamental para o método.

## 6.7 Cromatografia gasosa acoplada a detector de massas

### 6.7.1 Equipamento e condições Cromatográficas

Para a determinação do tempo de retenção da Trifluralina foi injetado uma solução padrão do composto na concentração de 300 µg L<sup>-1</sup>. Na Figura 17 está representado o cromatograma da Trifluralina obtido via cromatografia gasosa acoplada a detector de massas. Nota-se a presença de um pico fino, simétrico e com pouca presença de calda no tempo de retenção de 9,7 minutos, nas condições avaliadas.

Figura 87: Cromatograma obtido para a Trifluralina na concentração de  $300 \mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM, injeção de  $1 \mu\text{L}$ , utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Hélio como gás de arraste na vazão de  $1,6 \text{ mL min}^{-1}$ .

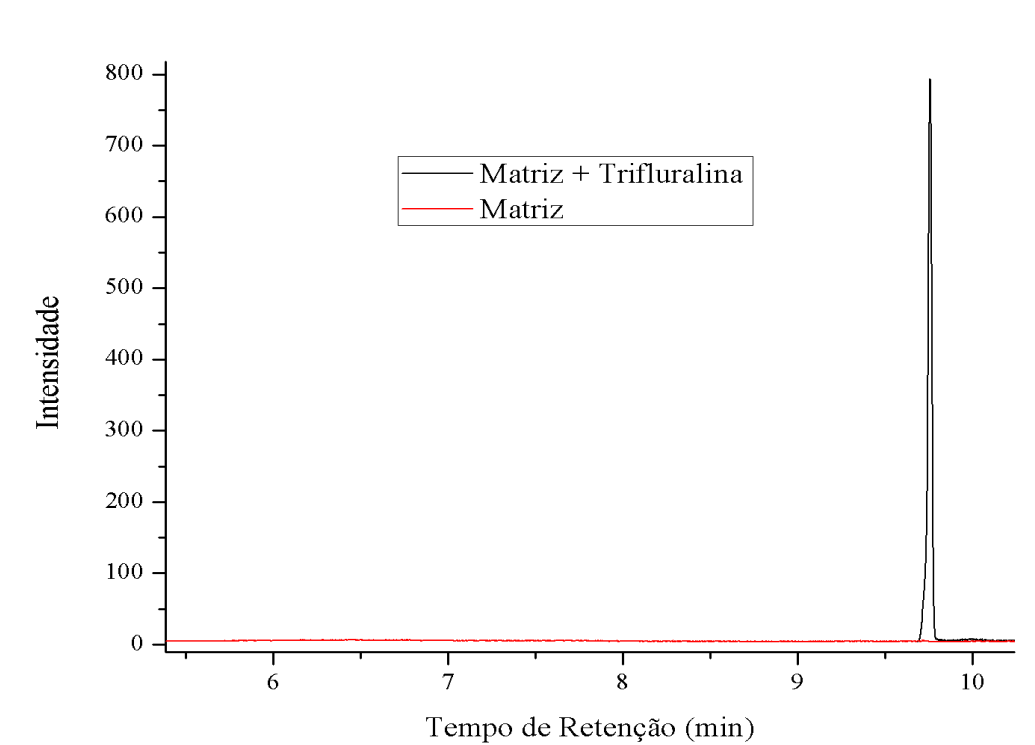


## 6.8 Figuras de mérito para a cromatografia gasosa acoplada a detector de massas

### 6.8.1 Seletividade

Foi injetado  $1 \mu\text{L}$  de um extrato de material particulado na ausência do herbicida em seguida foi injetado o mesmo volume do mesmo extrato, porém fortificado com  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  de Trifluralina o cromatograma da matriz isenta e fortificada com Trifluralina encontra-se na Figura 18.

Figura 18: Cromatograma obtido para a Trifluralina na concentração de  $15 \mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM, injeção de  $1 \mu\text{L}$ , utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Hélio como gás de arraste na vazão de  $1,6 \text{ mL min}^{-1}$

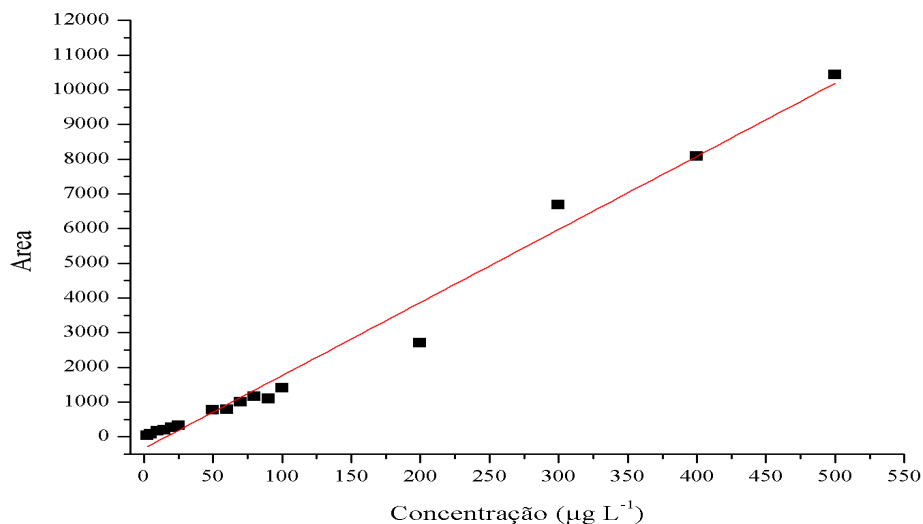


Observa-se a seletividade do método devido à ausência de picos referentes a substâncias interferentes e a inexistência de ombros no pico referente a Trifluralina. Porém pode-se observar uma sutil diferença entre o pico apresentado no item anterior e o pico apresentado na Figura 19, indicando um possível efeito de matriz associado, pois os componentes da matriz podem interferir em todo o sistema cromatográfico (PINHO et al., 2009).

#### 6.8.2 Determinação da faixa linear

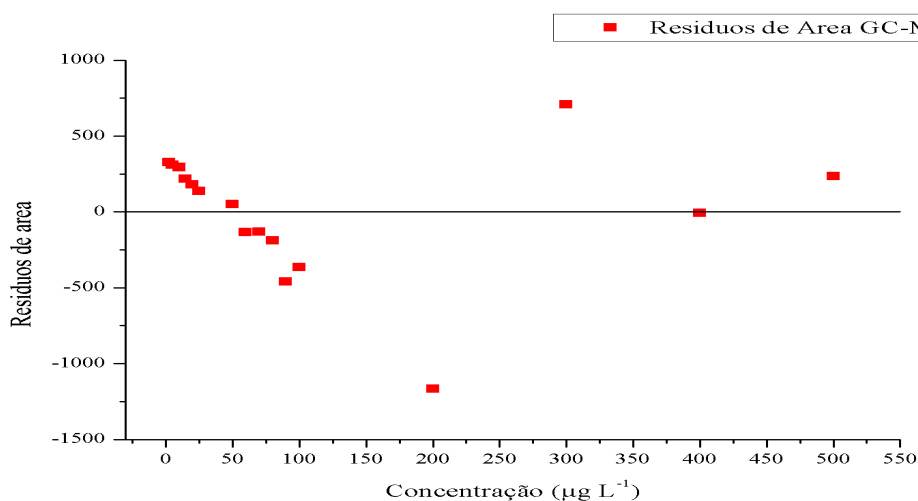
Para a determinação da extensão da faixa linear foi construída uma curva analítica com soluções de Trifluralina em concentrações que variaram de  $2,5$  a  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , cada ponto foi feito em triplicata. Na Figura 19 encontra-se o gráfico da área do pico em função da concentração contendo todas as soluções analisadas.

Figura 19: Curva analítica construída com soluções de Trifluralina em concentrações que variaram de 2,5 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM, injeção de 1  $\mu\text{L}$ , utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Hélio como gás de arraste na vazão de 1,6  $\text{mL min}^{-1}$  ( $n = 3$ ).



A curva analítica apresenta a seguinte equação  $y = 21,06x - 339,47$  e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,98, demonstrando uma forte correlação entre as áreas dos picos e a concentração (BRITO, 2003). Porém apenas o coeficiente de determinação não é suficiente para avaliar a linearidade da curva para toda a faixa estudada. Na Figura 20 encontra-se o gráfico de resíduos para a curva apresentada na Figura 19.

Figura 20: Estudo dos resíduos referente a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 2,5 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$

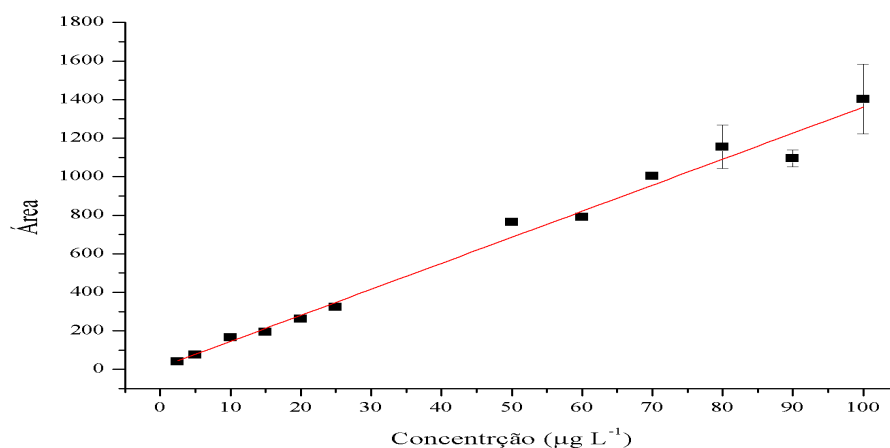




Nota-se que há uma tendência parabólica no gráfico de resíduos. Isso demonstra que o equipamento não apresenta uma resposta diretamente proporcional para a concentração de Trifluralina na faixa de 2,5 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

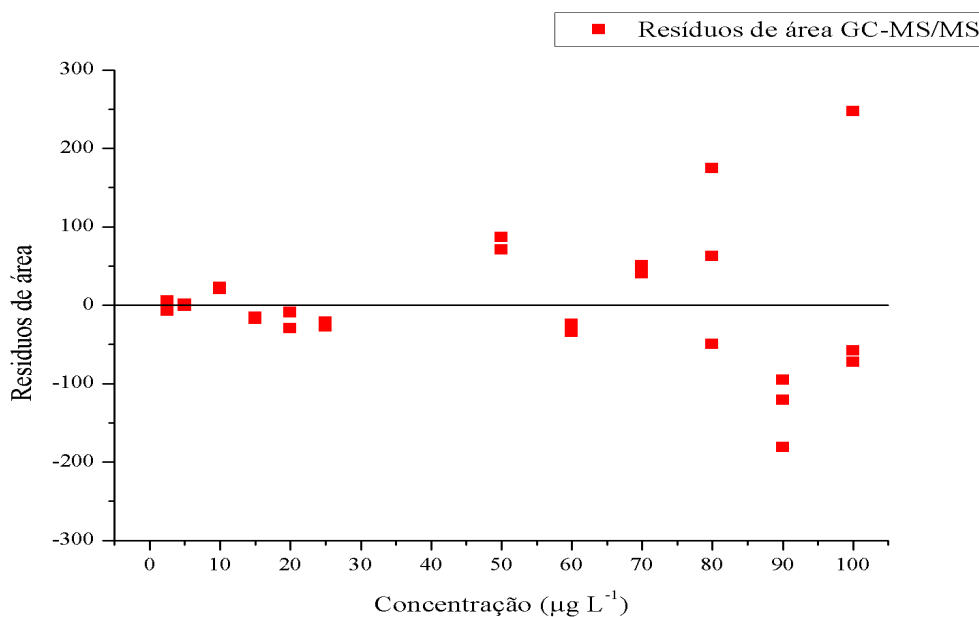
A curva analítica com faixa de concentração de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  está representada na Figura 21. A curva apresentou coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,989 e a equação de reta ( $y = 13,51x + 10,05$ , sendo y a área do cromatograma e x a concentração do Trifluralina).

Figura 21: Curva analítica construída com soluções de Trifluralina em concentrações que variaram de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM, injeção de 1  $\mu\text{L}$ , utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6  $\text{mL min}^{-1}$  ( $n = 3$ ).



O primeiro ponto a ser analisado é o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), o qual é o primeiro indício de uma resposta diretamente proporcional entre a área do pico e a concentração. O segundo indício é a independência e o bom ajuste da reta demonstrada pelo gráfico de resíduos presente na Figura 22. Portanto, na faixa de concentração entre 2,5 e 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  o método apresenta linearidade.

Figura 22: Estudo dos resíduos referente a Figura 21, para a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$



### 6.8.3 Determinação da faixa de trabalho

Também foi avaliada a linearidade de um faixa menor a qual foi utilizada rotineiramente nas análises, neste estudo foram avaliadas soluções de Trifluralina com concentrações que variaram de 5 a 15  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Na Figura 23 encontra-se a curva analítica, cujo coeficiente de determinação  $R^2$  foi de 0,992 e apresenta equação de reta  $y = 32,39x - 68,7$ , construída em triplicata para a avaliação da faixa de trabalho. A reta também apresentou uma fortíssima correlação entre a área do pico e a concentração de Trifluralina. O gráfico de resíduos apresentado na Figura 24 apresentou uma distribuição aleatória. Comprovando que a faixa escolhida apresenta comportamento linear (FERREIRA, 2015).

Figura 23: Curva analítica construída com soluções de Trifluralina em concentrações que variaram de 2,5 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  em CG-MS/MS no modo MRM, injeção de 1  $\mu\text{L}$ , utilizando uma coluna DBS 5 de 30 m e Helio como gás de arraste na vazão de 1,6  $\text{mL min}^{-1}$  ( $n = 3$ ).

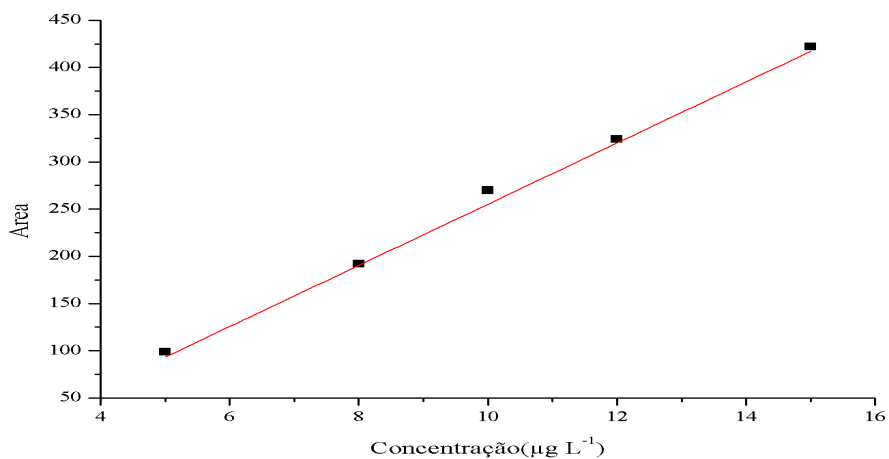
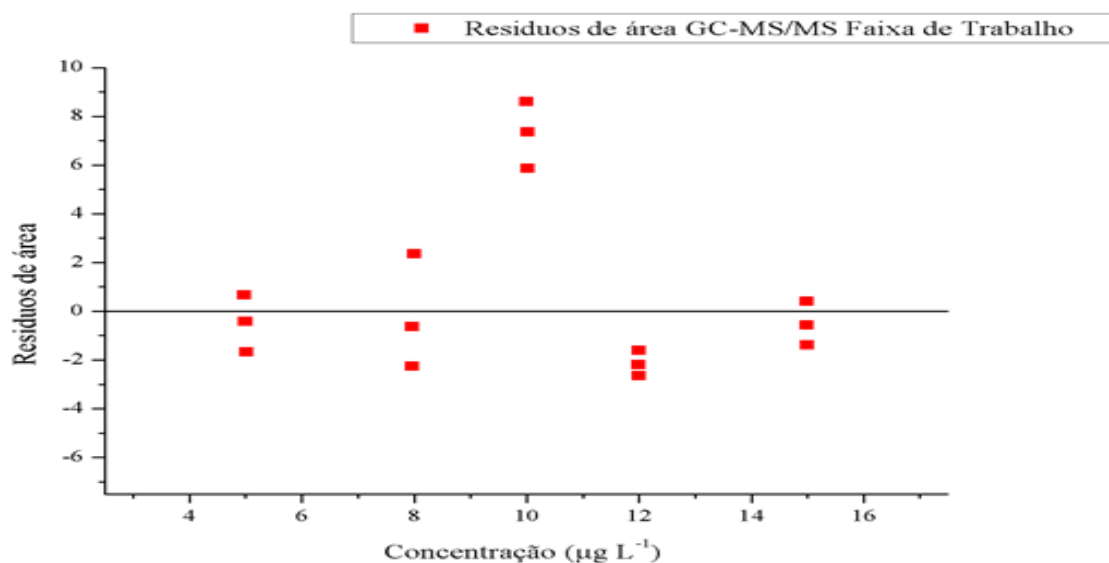


Figura 24: Estudo dos resíduos referente a Figura 23, para a curva analítica construída com concentrações de Trifluralina que variaram de 5 a 15  $\mu\text{g L}^{-1}$



#### 6.8.4 Determinação dos limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação obtidos a partir curva analítica presente no item anterior estão representado na Tabela 11, tanto em solução quanto em ar.

Tabela 11: Limites de detecção e quantificação para a Trifluralina analisada por cromatografia gasosa acoplada a detector de massas (GC-MS/MS)

Meio	Limite de detecção	Limite de quantificação
Solução	0,61 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,00 $\mu\text{g L}^{-1}$
Ar	0,39 $\text{pg m}^{-3}$	1,29 $\text{pg m}^{-3}$

Os limites oriundos da cromatografia gasosa acoplada ao detector de massa (GC-MS/MS) foram menores que os encontrados na cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos. Estes limites foram melhores que aqueles encontrados por Coscollà et al. (2013) em análise usando um cromatógrafo gasoso com detector de massas (GC-MS), no qual o LD foi de 0,12  $\text{ng m}^{-3}$  e foram comparáveis aos limites encontrados por Coscollà et al. (2011) utilizando um cromatógrafo gasosa acoplado a detector de massas triplo quadrupolo (GC-MS/MS), que foi de 1,32  $\text{pg m}^{-3}$ . Borrás *et al.* (2011) utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas (GC-MS) obteve um limite instrumental de 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  e um limite de detecção em ar de 0,177  $\text{pg m}^{-3}$ . Este limite mais baixo que o encontrado neste trabalho deve-se provavelmente a uma segunda etapa de pré-concentração, na qual o extrato final apresentava volume de 150  $\mu\text{L}$ .

Levando em conta as concentrações encontradas em outros estudos, estes limites são capazes de detectar e quantificar a Trifluralina presente no material particulado proveniente da região norte do estado do Paraná. Por este motivo foi escolhida a cromatografia gasosa com detector de massas para avaliar a concentração de Trifluralina na matriz em questão.

### 6.9 Avaliação do Efeito de matriz

Foi observado no item 6.8.1 o indicio de um efeito associado a matriz devido a forma do pico ser diferente do observado na injeção do padrão puro de Trifluralina, este foi confirmado com a construção de duas curvas analíticas utilizando o método da superposição de matriz e o método da calibração externa. Na Tabela 12 encontram-se os resultados da determinação das concentrações de Trifluralina de uma amostra, de material particulado

atmosférico, enriquecida com uma solução de Trifluralina, quantificadas por calibração externa e por superposição de matriz. Houve diferença entre os resultados encontrados pelos dois métodos para 95 % de confiança, provavelmente devido ao efeito associado a matriz.

Tabela 12: Avaliação da diferença de resposta analítica oriunda do efeito de matriz em análise utilizando GC-MS/MS utilizando uma coluna DB5 de 30 m, Hélio como gás de arraste na vazão de 1,6 mL min<sup>-1</sup>.

Método	Valor de concentração esperado (µg L <sup>-1</sup> )	Porcentagem de recuperação (%)	Concentração média obtida (µg L <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão
Superposição de matriz	10	107,7	10,7	1,1
Calibração externa	10	216,6	21,6	2,8

Nota-se que o efeito de matriz gerou uma atenuação da resposta analítica a qual foi minimizada com a técnica de superposição de matriz (RIBANI et al., 2004; PINHO et al., 2009). Os valores obtidos por calibração externa podem ser corrigidos pela equação 5 (PINHO et al., 2009). A partir desta equação é possível minimizar o efeito de matriz e utilizar a calibração externa para realizar as quantificações.

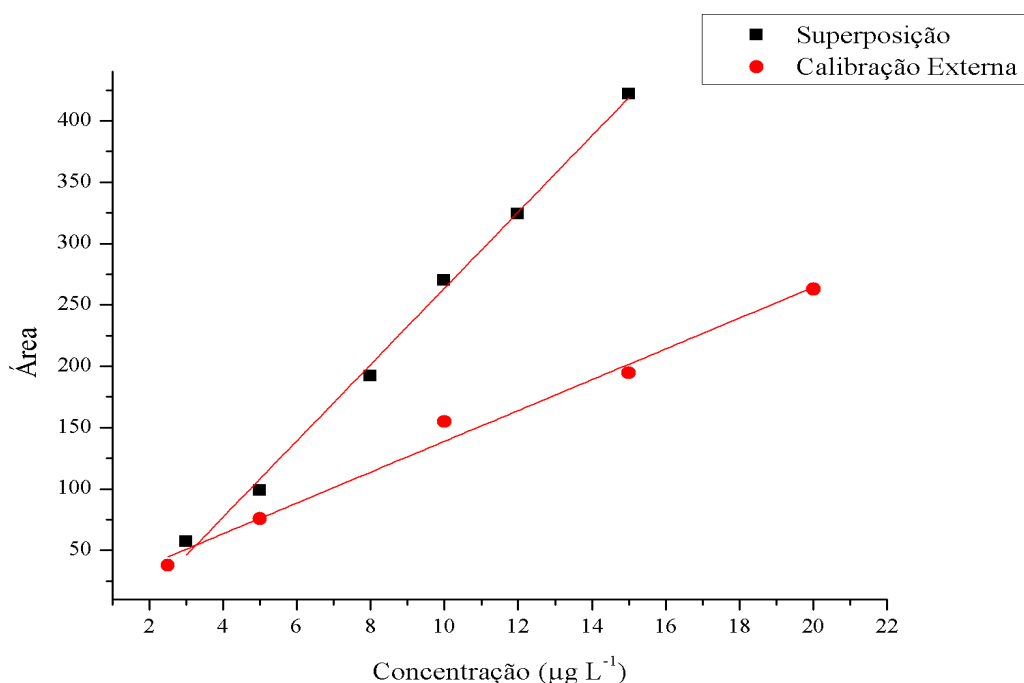
$$C_{real} = 0,38C + 2,34 \quad (5)$$

Onde: C é a concentração obtida por calibração externa. Esta equação foi obtida utilizando os coeficientes angulares e lineares, presentes na Tabela 13, das retas obtidas por calibração externa e por superposição de matriz, as quais estão representadas na Figura 25.

Tabela 13: Equação de reta e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das curvas analíticas obtidas por calibração externa e por superposição de matriz

Método	Equação	$R^2$
Superposição de matriz	$y = 32,39x - 62,56$	0,995
Calibração externa	$y = 12,55x + 13,28$	0,985

Figura 25: Curvas analíticas para a trifluralina obtidas por calibração externa e por superposição de matriz em um cromatógrafo gasoso acoplado a detector de massas utilizando uma coluna DB5 de 30 m, Hélio como gás de arraste na vazão de  $1,6 \text{ mL min}^{-1}$ . Injeção de  $1 \mu\text{L}$ .



O efeito de matriz é mais acentuado em concentrações mais baixas devido a maior relação matriz/analito (PINHO et al., 2009). Este efeito pode ser facilmente notado quando são feitas correções utilizando a equação 5.

#### 6.10 Teste de fortificação recuperação na matriz

As amostras de material particulado coletadas na cidade de Curitiba foram fortificadas com 50, 100 e  $150 \mu\text{L}$  de uma solução de Trifluralina na concentração de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , e extraídas por banho de ultrassom e analisadas em GC-MS/MS. Na Tabela 14 estão presentes as recuperações obtidas. A

quantificação das amostras foi feita utilizando a técnica da superposição de matriz.

Tabela 14: Avaliação da recuperação de Trifluralina em material particulado atmosférico

Nível	Concentração esperada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Porcentagem de recuperação (%)	Concentração Média obtida ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação (%)
PTS1	5	103	5,1	1,0	20,0
PTS2	10	107	10,7	1,1	9,9
PTS3	15	92	13,1	2,5	19,5

Estes valores foram considerados satisfatórios, uma vez que a recuperação apresentou valores entre 70 % e 120 % e o coeficiente de variação foi de até 20 % (RIBANI et al., 2004; EUROPEAN COMMISSION, 2013). Recuperações superiores a 100 % foram obtidas em todos os níveis de fortificação no trabalho de Coscollà et al. (2011), neste trabalho a extração foi realizada em micro-ondas e os coeficientes de variação apresentaram o mesmo comportamento, sendo de 20 % para o primeiro nível, 8 % para o segundo e 6 % para o terceiro. As recuperações obtidas neste trabalho também são comparáveis a de Becouze *et al.* (2011) que utilizando um sistema de solvente acelerado obteve recuperações da ordem de 101% para a Trifluralina em material particulado, por outro lado os coeficientes de variação encontrados por eles foram menores, esta diferença pode estar relacionada com o método de extração, com a mistura de solventes ou provavelmente com os níveis de fortificação mais altos utilizados por Becouze et al. (2011), os quais foram de 20; 250 e 500  $\text{ng g}^{-1}$ .

#### 6.11 Determinações da Trifluralina em material partícula atmosférico (PTS)

Na Tabela 15 encontram-se o volume de ar amostrado e as concentrações de Trifluralina nas amostras de material particulado da região estudada, quantificadas através de calibração externa.

Tabela 15: Concentração de Trifluralina encontrada no material particulado atmosférico da região norte do estado do Paraná, analisado por GC-MS/MS, utilizando calibração externa.

Região	Data da coleta	Volume amostrado ( m <sup>3</sup> )	Concentração de Trifluralina em PTS (pg m <sup>-3</sup> )
Posto de saúde (1° Coleta)	10/05/16	1594,08	5,44
Rodovia (1° Coleta)	11/05/16	1594,08	9,96
Rodovia (2° Coleta)	28/09/16	1596	<LQ

O método de calibração externa não considera possíveis efeitos de matriz, que podem reduzir ou aumentar a resposta instrumental. Pinho et al. (2009) mostraram inúmeros estudos, nos quais o efeito da matriz em análises de pesticidas gerou recuperações superiores a 300 %, efeito denominado por ele como “aumento da resposta cromatográfica induzida pela matriz” (PINHO et al., 2009).

Quando a análise é feita utilizando o método de superposição de matriz, o efeito gerado por ela é minimizado (PINHO et al., 2009 e RIBANI et al., 2004). A Tabela 16 contém os valores encontrados para as mesmas amostras, quando analisadas pelo método de superposição de matriz.

A Trifluralina pode chegar ao material particulado através da ressuspensão de partículas do solo contaminadas com o herbicida ou pode volatilizar e ser adsorvida pelo material particulado (HOLMÉN et al., 2013). Ao verificar que o plantio na região é feito de forma direta, há pouco manejo do solo, desta forma não é possível fazer a incorporação da Trifluralina ao solo inviabilizando o seu uso e impossibilitando a ressuspensão de partículas contaminadas. Desta forma a volatilização a partir da produção local de



Trifluralina e a possível adsorção ao material particulado é a principal fonte contaminação desta matriz.

Tabela 16: Concentração de Trifluralina encontrada no material particulado atmosférico da região norte do estado do Paraná, analisado por GC-MS/MS utilizando superposição de matriz.

Região	Data da coleta	Volume de amostra (m <sup>3</sup> )	Concentração de Trifluralina em PTS (pg m <sup>-3</sup> )
Posto de saúde (1° Coleta)	10/05/16	1594,08	2,05
Rodovia (1° coleta)	11/05/16	1594,08	2,11
Rodovia (2° Coleta)	28/09/16	1596,00	<LQ

Um fato que pode explicar a baixa concentração encontrada foi a precipitação ocorrida dias antes da primeira campanha de amostragem, que pode ter removido o composto da atmosfera (SANUSI et al., 1999). Na segunda campanha de amostragem registou-se elevadas temperaturas (acima do 30°C), essa temperatura elevada faz com que a Trifluralina permaneça na fase gasosa e não associada ao material particulado (SANUSI et al., 1999) neste dia o INMET registou elevada incidência solar, desta forma a Trifluralina pode ter sido fotodegradada (PERSON et al., 2007). Person et al. (2007) relatou que este processo pode eliminar totalmente a Trifluralina do material particulado atmosférico.

As concentrações encontradas do composto presente no material particulado atmosférico variam de região para região. No caso estudado observaram-se valores muito próximos aos encontrados por Coscollà et al. (2014) em Valência na Espanha. Este resultado foi inesperado, uma vez que a Trifluralina foi banida da União Européia em 2008 (EUROPEAN UNION, 2012). Já no Brasil o herbicida ainda é produzido e utilizado, porém as baixas

concentrações encontradas podem estar associadas a fotodecomposição e a não é utilizando do herbicida na agricultura da região de estudo.

Altas concentrações de Trifluralina associado ao material particulado atmosférico foi relatado por Holmén et al. (2013), que em seu estudo, em campos de produção de milho no Novo México, encontrou a Trifluralina presente no material particulado atmosférico em concentrações que variaram de 1,08 a 87,7 ng m<sup>-3</sup> (HOLMÉN *et al.*, 2013). Segundo o autor estas altas concentrações estão associadas ao alto uso do herbicida e elevado manejo do solo e a elevada mecanização da colheita de milho no Novo México, esta mecanização eleva a ressuspensão de partículas do solo (HOLMÉN et al., 2013).

Quando comparados os resultados obtidos neste trabalho com os resultados de estudos feitos em regiões agrícolas que utilizam ou utilizaram a Trifluralina como o caso de Holmén (2013) e Sanusi et al. (2000), nota-se que a ressuspensão de partículas de solo contaminado com o herbicida é uma fonte que gera um aporte maior, desta substância ao material particulado, do que a volatilização.

## 7. CONCLUSÕES

Há muitos estudos que fazem a determinação de vários pesticidas, presentes simultaneamente na fase gasosa e associados ao material particulado, também há inúmeros trabalhos quantificando essas substâncias em fase gasosa e material particulado separadamente, porém a poucos trabalhos deste tipo no Brasil.

Grandes perdas do analito estão associados a perdas por volatilização, devido à utilização de longos períodos de aquecimento e, principalmente, por fotodegradação.

A extração por agitação mecânica, da forma a qual foi realizada, não se mostrou eficiente, apresentando recuperações inferiores a 70%, por outro lado a extração via Soxhlet e banho de ultrassom mostraram-se eficientes, com recuperações superiores a 90% para o banho de ultrassom e superiores a 80% para a extração via Soxhlet. Já a extração por banho de ultrassom mostrou-se mais rápida, eficiente e ambientalmente mais correta, devido ao menor uso de solventes orgânicos e energia elétrica.

Para a determinação de Trifluralina ambas as técnicas cromatográficas (HPLC-DAD e GC-MS/MS) mostraram-se sensíveis, seletivas, sendo assim capazes de identificar e quantificar a Trifluralina, porém apenas a cromatografia gasosa acoplada a detector de massas apresentou limites realmente baixos ( $LD = 0,39 \text{ pg m}^{-3}$  e o  $LQ = 1,29 \text{ pg m}^{-3}$ ) capazes de detectar e quantificar a Trifluralina presente no material particulado atmosférico estudado, devido à baixa concentração do composto nesta matriz. Os limites de detecção e quantificação observados no HPLC-DAD foram de  $37,2 \text{ pg m}^{-3}$  e de  $124 \text{ pg m}^{-3}$  respectivamente.

O material particulado encontra-se em pequena quantidade na atmosfera, na ordem de  $\mu\text{g m}^{-3}$ , porém apresenta um efeito de matriz associado capaz de gerar erros na determinação da Trifluralina, superiores a 100%. Este efeito foi encontrado nas amostras oriundas de Arapongas PR e nas amostras coletadas em Curitiba PR. Isso demonstra que o efeito de matriz está intimamente associado à composição básica do material particulado.

O método proposto mostrou-se eficiente para a determinação de Trifluralina associada ao material particulado atmosférico. Esta eficiência foi demonstrada pelos testes de adição e recuperação, que apresentaram resultados satisfatórios e dentro do recomendado por agências reguladoras em baixos níveis de concentração.

A concentração de Trifluralina encontrada no material particulado atmosférico da região de Arapongas Paraná (aproximadamente  $2 \text{ pg m}^{-3}$ ) pode ser considerada elevada devido a não utilização do herbicida na região de estudo. A partir de uma metodologia bem definida é possível realizar o monitoramento contínuo desta substância associada ao material particulado atmosférico e a partir do conhecimento gerado é possível criar novas legislações que protejam a saúde humana e o meio ambiente.

## 8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a aplicação do método proposto na determinação de outros pesticidas neutros presentes no material particulado atmosférico.
- Avaliar a presença de pesticidas no material particulado atmosférico em áreas rurais e urbanas.
- Realizar a otimização do método utilizando ferramentas quimiométricas e multivariadas.
- Avaliar outros adsorventes para a etapa de *clean up*.
- Avaliar a distribuição da Trifluralina e outros pesticidas nas diferentes frações do material particulado atmosférico.
- Desenvolver uma metodologia para determinação de herbicidas neutros em material particulado atmosférico utilizando cromatógrafo com detector de captura de elétrons (GC ECD).
- Avaliar a formação de formaldeído e acetaldeído oriundos da degradação da Trifluralina.
- Avaliar a possibilidade de usar a determinação de formaldeído e acetaldeído como indicador da contaminação por Trifluralina no ar.
- Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação dos subprodutos da Trifluralina presentes no material particulado atmosférico.
- Avaliar a ecotoxicidade do 2-etil-4nitro-6-(trifluorometil)-1H-benzimidazole frente à Trifluralina.

## REFERENCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Material Particulado em Suspensão no Ar Ambiente – Determinação da Concentração Total pelo Método do Amostrador de Grande Volume: NBR 9547. Rio de Janeiro, 1997.

ADAPAR - Agência de Defesa Agropecuária do Paraná. Disponível em <<http://www.adapar.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=387>>. Acesso em Novembro de 2015.

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários/Ministério da Agricultura. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso 01/07/2015.

ALBERO B., Brunete-Sanchez C., TADEO J. L. Multiresidue determination of pesticides in juice by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, vol 66, 2005.

ANDREOLI, C. V. HOPPEN, C.; FERREIRA, A. C. Avaliação dos Níveis de Agrotóxicos Encontrados na Água de Abastecimento nas Regiões de Curitiba e Londrina. *Sanare*, vol 12, dez 1999.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Relatório de Atividades de 2011 e 2012. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2013.

BAIRD, C.; CANN, M. Química Ambiental. 4ª Edição, Porto Alegre: Bookman, 2011. 844p.

BANDEIRA, Danieli Daiani et al. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando método QuEChERS modificado e GC-MS/MS. *Quím. Nova* [online], vol.37, 2014.

BECOUCZE C., Wiest L., Baudot R., Krajewski B. Jean-Luc, Olivé C. C. Optimisation of pressurized liquid extraction for the ultra-trace quantification of 20 priority substances from the European water framework directive in atmospheric particles by GC-MS and LC-FLD- MS/MS. *Analytica Chimica acta*, vol 693, 2011.

BELTRÃO, N. E. M. Manejo de plantas daninhas em algodão. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Eds.) Manual de manejo e controle de plantas daninhas. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. p. 215-250.

BORRÁS E., Sánchez P., Munoz A., Tortajada-Genaro L.A. Development of gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of pesticides in gaseous and particulate phases in the atmosphere. *Analytica Chimica Acta*, Vol 669, August 2011.

BRASIL. Resolução Conama nº 03 de 28 de junho de 1990. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasil, BR, 22 de agosto de 1990.

BRITO N. M., Amarante Junior O. P., Polese L., Ribeiro M.L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. *Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente*, vol 13, 2003.

BURROWS, H.D., Canle, L.M., Santaballa, J.A., Steenken, S. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J. Photoch. Photobio. B* 67, 2002.

CETESB - Companhia Ambiental Do Estado De São Paulo: Ficha de Informações Toxicológica Alacloro. São Paulo, 201.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p..

COSCOLLÀ Clara, MUNOZ A., BORRÁS E., VERA T., RÓDENAS M., YUSA V. Particle size distribution of currently used pesticides in ambient air of an agricultural Mediterranean area. *Atmospheric environment*, vol 95, 2014.

COSCOLLÀ C; PASTOR Agustín; HART E.; YUSA V. Determination of 40 currently used pesticides in airborne particulate matter (PM10) by microwave-assisted extraction and gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Analytica Chimica acta*, vol 693, 2011.

COSCOLLÀ C.; YUSA Vicent; MARTÍ Pedro; Pastor Agustín. Analysis of currently used pesticides in fine airborne particulate matter (PM 2.5) by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Jornal of Chromatography A*, vol 1200, 2008.

DIAS, José W. C. Manual de operação AGV MP<sub>10</sub>. 10<sup>o</sup> edição. Rio de Janeiro, Energética , 2012.

EUROPEAN COMMISSION. Quality control procedures for pesticide residues analysis. Brussels, 2013. SANCO/12571/2013. Disponível em: <[http://www.eurlpesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2013\\_12571.pdf](http://www.eurlpesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf)>. Acesso em 10/11/2016.

EUROPEAN UNION. Final Regulatory Action. DISPONIVEL EM <[http://archive.pic.int/CH/Demo/embed/view\\_displayFRA.php?id=1186&back=viewB\\_FRAchems.php?sort=chemical](http://archive.pic.int/CH/Demo/embed/view_displayFRA.php?id=1186&back=viewB_FRAchems.php?sort=chemical)>. Acesso em maio de 2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em <<https://www.embrapa.br/trigo/cultivos>>. Acesso em 15/07/2015.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do61\\_8.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do61_8.htm)>. 2006. Acesso em 16/07/2015.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em 11/02/2016.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ENERGETICA. Produtos – Torres Meteorológicas. Disponível em <<http://www.energetica.ind.br/categorias/listar/torres-meteorologicas>>. Acesso em 16/07/2015.



EPA U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Notebook, for Hazardous Air Pollutants, Trifluralin. Office of Air Quality Planning & Standards, 1994.

EPA U.S Environmental Protection Agency. Determination of chlorine pesticides in water by gas chromatography with an electron capture detector. Editor J.W. Munch, 1995.

FERREIRA, Marcia M. C. Quimiometria conceitos, métodos e aplicações. Campinas SP. Editora da Unicamp, 2015.

FINLAYSON-PITTS B.,Pitts ,Jr. Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere. 1ª edição Florida. Academic Press, 1999.

FREITAS, Adriana de Marques and SOLCI, Maria Cristina. Caracterização do MP10 e MP2,5 e distribuição por tamanho de cloreto, nitrato e sulfato em atmosfera urbana e rural de Londrina. *Quím. Nova* [online]. Vol 32,2009.

FOREMAN W. T., Majewski M. S., Goolsby D. A., Wiebe F. W., Coupe R.H. Pesticides in the atmosphere of the Mississippi River Valley, part II-air. *Science of the total environment*, vol 248, 2000.

FUENTES,E.,BÁEZ, M.E.,REYES, D. Microwave-assisted extraction through an aqueous medium and simultaneous cleanup by partition on hexane for determining pesticides in agricultural soils by gas chromatography: A critical study. *Analytica Chimica Acta*, vol 578(2), 2006.

GARRISON V. H., Majewski M.S., Foreman W.T., Genualdi S.A., Mohammed A., Simonich Massey S.L. Persistent organic contaminants in Saharan dust air masses in West Africa, Cape Verde and eastern Caribbean. *Science of the total environment*, vol 468-469,2014.

GUIMARAES, S.C.; HRYCYK, M.F. e MENDONCA, E.A.F.. Efeito de fatores ambientais sobre a seletividade do alachlor ao algodoeiro. *Planta daninha*, vol 25, Dez 2007.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. Química analítica e análise quantitativa. 1ª edição, São Paulo: Pearson, 2012.

HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. 7<sup>a</sup> edição, Rio de Janeiro: LTC, 2012.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos - Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil. Disponível em <<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>>. Acesso em Novembro de 2015.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em [http://www.inmet.gov.br/sim/abre\\_graficos.php](http://www.inmet.gov.br/sim/abre_graficos.php)>. Acesso em 25/01/2017.

ISO - INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION; General Requirements for the competence of testing and calibration laboratories, ISO /IEC 17025,1999.

IUPAC INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Harmonized guidelines for single laboratory validation of method of analyses. 2002 Disponível em < <https://www.iupac.org/publications/pac/2002/pdf/7405x0835.pdf>>. Acesso em 10/11/2016.

KASUMBA J., HOLMÉN A. B., HISCOX A., WANG J., MILLER D., Agricultural PM<sub>10</sub> emissions from cotton field disking in Las Cruces, NM. Atmospheric Environment, vol 45, Mar 2011.

KOSIKOWSKA Monika, BIZIUK Marek. Review of the determination of pesticides residues in ambient air. Trends in Analytical Chemistry, vol. 29, Out 2010.

LENADÃO, Eder João, FREITAG, Rogério Antônio, DABDOUB, Miguel J., BATISTA, Antônio C. Ferreira, & SILVEIRA, Claudio da Cruz., "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. Quím. Nova [online], vol.26, 2003.

KARASALI, H., BALAYNNIS G., HOURDAKIS, A., AMBRUS A. Development and singles-laboratory validation of a new gas chromatographic multi-pesticide method of analysis of commercial emulsifiable concentrate formulations containing Alachlor, chlorpyrifos methyl, fenthion and trifluralin as active ingredients. *Journal od Chromatography A*, vol 1129, 2006.

KEGLEY, S.E., HILL, B.R., ORME S., CHOI A.H., *PAN Pesticide Database*, Pesticide Action Network, North America Oakland, CA, 2014.

HOLMÉN Britt A., KASUMBA J., HISCOX A., WANG J., MILLER D. Mechanized and natural soil-to-air transfer of Trifluralin ans Prometryn from a cotton field in Las Cruces, Ner Mexico. *Journal of Agricultural and food chemistry*, vol 4, Out 2013.

MAIOLI, Brígida M. Quantificação e caracterização do material particulado fino (MP<sub>2,5</sub>) na região metropolitana da grande Vitória-ES. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Espírito Santo, 2011.

MASIOL M., BENETELLO F., HARRISON R.M., Formenton G. Spatial, seasonal trends and transboundary transporto f PM<sub>2,5</sub> inorganic ions inthe Veneto region (Northeastern Italy). *Atmospheric Environment*, vol 117, 2015.

MANAHAN, S. Química ambiental. 9. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.

MCMILLIN D., MEANS J. C. Spatial and temporal trends of pesticides residues inwater and particulates in the Mississippi river plume and the northwestern gulf of Mexico. *Jornal of Chromatography A*, vol 724, 1996.

MENEZES, Eliana Weber e CATALUNA, Renato. Amostragem do material particulado e fração orgânica volátil das emissões em motor ciclo diesel sem a utilização de túnel de diluição. *Quím. Nova*, vol.31, 2008.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuaria e Abastecimento. Disponível em < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/mercado-interno/agrotoxicos>>. Acesso em 07/08/2015.

NETO Álvaro J. S. Problemas com o format dos picos em cromatografia líquida. *Scientia Chromatographica*, vol 2, 2010.

NIST- National Institute of Standards and Technology – Disponível em <<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C1582098&Mask=2000#Gas-Chrom>>. Acesso em Maio de 2015.

NORTOX – Bula Trifluralina Nortox Gold, Arapongas, 2014.

OLIVEIRA JR Rubem S., CONSTANTIN Jamil, HIROKO Miriam I. – Biologia e manejo de plantas daninhas. Curitiba, Omnipx, 2011.

O. BRIAND, M. MILLET, F. BERTRAND, M. CLEMENT, R. S., Assessing the transfer of pesticides to the atmosphere during and after application. Development of a multiresidue method using adsorption on tenax and thermal desorption-GC/MS. Anal. Bioanal. Chem. 374, 2002.

ODABASI Mustafa, CETIN Banu. Determination of octanol-air partition coefficients of organochlorine pesticides (OCPs) as a function of temperature: Application to air-soil exchange. Journal of Environmental Management, 113, 2012.

PPDB, Pesticide Properties Database disponível em <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>>, 2015. Acesso em 17/06/2015.

PAVIA D. L., LAMPMAN G. M., KRIZ G. S. Introdução à Espectroscopia. 4ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEREZ Eneida R., CALVÉ Stéphane L., MIRABEL Philippe. Near-UV molar absorptivities of Alachlor, Mecroprop-p, Pendimethalin, Propanil and Trifluralin in metanol. Photochemistry and Photobiology, vol 193, 2008.

PERSON Le A., MELLOUKI A., MUNOZ A., BORRAS E., Martins Reviejo M., Wirtz K. Trifluralin: photolysis under sunlight conditions and reactions with HO radicals. Chemosphere, vol 67, 2007.

PINHO, Gevany P.; NEVES, Antônio A.; QUEIROZ, Maria Eliana L. R. and SILVERIO, Flaviano O.. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. *Quím. Nova* [online], vol.32, 2009.

PUBCHEM – Open Chemistry database. Disponível em <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em 06/05/2015

POPPI Nilva Ré; SILVA S.L.; GEBARA S.S; Dias S. P. Validação do método para determinação dos pesticidas Tebutiuram, Carbendazim e Trifluralina em água empregando EFS-CLAE/UV. Sociedade Brasileira de química 2008.

QUEIROZ, Sonia C. N.; COLLINS, Carol H. and JARDIM, Isabel C. S. F.. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. Quím. Nova vol.24, 2001.

QUEIROZ, Paula Guimarães Moura; JACOMINO, Vanusa Maria Feliciano and MENEZES, Maria Ângela de Barros Correia. Composição elementar do material particulado presente no aerossol atmosférico do município de Sete Lagoas, Minas Gerais. Quím. Nova, vol 30, 2007.

QIU, G., PATTEY, E.,. Estimating PM10 emissions from spring wheat harvest using an atmospheric tracer technique. Atmospheric Environment, vol 42, 2008.

RECENA Maria C. P., CALDAS E. D., PIRES D.X., PONTES Elenir R. J. C. Pesticides exposure in culturama, Brazil- Knowledge, attitudes, and practices. Environmental Research, vol 102, 2006.

REJCZAK T., TUZIMKI T. QuEChERS-base extarction with dispersive solid phase extraction clean up using PSA and ZrO<sub>2</sub>-bases sorbents for determination of pesticides in bovine milk samples by HPLC-DAD. Food Chemistry, vol217, 2017.

RIBANI, Marcelo, BOTTOLI, Carla Beatriz Grespan, COLLINS, Carol H., JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes, MELO, Lúcio Flávio Costa. Validação de em métodos cromatográficos e eletroforéticos. Quím.Nova, vol 27, 2004.

RIBEIRO, Fabiana Alves de Lima. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. Quím. Nova, Vol 31, 2008.

SADIKI M., POISSANT L., Atmospheric concentrations and gas-particle partitions of pesticides: Comparisons between measures and gas-particle partitioning models from source and receptor sites. Atmospheric environment vol42, 2008.

SANUSI A., MILLET M., Mirabel P., WORTHAM H. Gas-partitioning of pesticides in atmospheric sample. *Atmospheric environment*, vol 33,1999.

SAURET, N., MILLET, M., HERCKES, P., MIRABEL, Ph., WORTHAM, H., Analytical method using gas chromatography and ion trap mass tandem spectrometry for the determination of S-triazines and their metabolites in the atmosphere. *Environmental Pollution* 110, 243–252, 2001.

SCHEYER, A., MORVILLE, S., MIRABEL, P., MILLET, M. A multiresidue method using ion-trap gas chromatography-tandem mass spectrometry with or without derivatization with pentafluorobenzyl bromide for the analysis of pesticides in the atmosphere. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol 381, 2005.

SCHEYER, A., MORVILLE, S., MIRABEL, P., MILLET, M. Variability of atmospheric pesticide concentrations between urban and rural areas during intensive pesticide application. *Atmospheric Environment*, vol 41, 2007.

SCHEYER, A., MORVILLE, S., MIRABEL, P., MILLET, M. Pesticides analysed in Rainwater in Alsace region (Eastern France): Comparison between urban and rural sites. *Atmospheric Environment*, vol 41, 2007.

SCHIESARI, Luis. Defensivos agrícolas: como evitar danos à saúde e ao meio ambiente. Série Boas Práticas. Volume 8. Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia. 2012

SIQUERI, F. V. Controle de ervas daninhas em pré-emergência. 1ª edição, Mato Grosso, Fundação Mato Grosso, 2006.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 9th. São Paulo: Thomson, 2014.

SCHUMMER C., MOTHIRON E., APPENZELLER B.M.R., RIZET Anne L., WENNIG R., MILLET M. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France. *Environmental Pollution*, vol 158, 2010.

TANABE, A., MITOBE, H., KAWATA, K., SAKAI M. Monitoring of herbicides in river water by gas chromatography mass spectrometry and solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, vol 754, 1996.

TREVISAN, M., MONTEPIANI, C., RAGOZZA, L., BARTOLETTI, C., IOANNILLI, E., DEL RE, A.A.M. Pesticides in Rainfall and air in Italy. *Environmental Pollution*, vol 80, 1993.

TOPUZ Sibel; ÖZHAN Gül; AIPERTUNGA Buket. Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD. *Food Control*, vol 16, 2005.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez W. B., POPPI, Ronei J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. *Quím. Nova*, vol.32, 2009.

WHO – World Health organization Guidelines for drink-water quality, 2<sup>th</sup> ed vol 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva, 1996.

WHO. World Health Organization. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Geneva, Switzerland, 1990.

YAO, Y., TUDURI, L. HARNER, T., BLANCHARD, D. W., POISSANT. L., MURPHY,C.,AULAGNIER, F., LI,Y., SVERKO E. Spatial and temporal distribution of pesticides air concentrations in Canadian agricultural regions. *Atmospheric Environment*, vol 40, 2006.

YAHIA, D., ELSHARKAWY, E.E. Multi pesticide and PCB residues in Nile tilapia catfish in assiut city, Egypt. *Science of the Total Environment*, vol 446-447, 2014.