

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
BACHARELADO EM QUÍMICA**

RAFAELA IMOSKI

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA MALATION
COMERCIAL POR PROCESSO UV/H₂O₂**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**CURITIBA
2019**

RAFAELA IMOSKI

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA MALATION
COMERCIAL POR PROCESSO UV/H₂O₂**

Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso Superior de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBi - da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz
Coorientador: Prof Dra. Lucia Regina Rocha
Martins

CURITIBA
2019

RAFAELA IMOSKI

**AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA COMERCIAL POR PROCESSO
UV/H₂O₂**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Curitiba. Após deliberação, a banca examinadora composta pelos membros a seguir considerou o trabalho aprovado:

Profa. Dra. Adriane Martins de Freitas
UTFPR

Mestre Suelen Angeli
Membro externo

Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz (orientador)
UTFPR

Profa. Dra. Lucia Regina Rocha Martins (coorientador)
UTFPR

Prof. Dr. Luiz Marcos de Lira Faria
(coordenador de curso)

Curitiba, 08 de julho de 2019.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná por todo o ensino e a oportunidade de utilizar as dependências e recursos para realização desse trabalho.

Ao professor Marcus Vinicius de Liz pela orientação, por todo o aprendizado compartilhado, paciência, apoio e incentivo.

À professora Lucia Regina Rocha Martins pela coorientação na etapa final do trabalho, por todo o aprendizado e tempo disponibilizado.

À banca examinadora pelo tempo disponibilizado e pelas contribuições de forma a tornar o trabalho melhor.

Aos laboratórios multiusuários LAMEAA e LAMAQ pela disponibilidade instrumental, que permitiu a realização da parte experimental desse trabalho.

À minha família, que sempre me apoiou e incentivou. Obrigado pela paciência, sem vocês nada disso seria possível.

As minhas amigas tão queridas, em especial a Mayara Skrzek, Thays Cordeiro e Thais Damasio, que sempre me apoiaram e incentivaram para que eu fosse mais longe, sem vocês não teria sido possível concluir com tanto êxito e alegria. Obrigada por todos os momentos compartilhados, risadas, choros, comidinhas, vocês são mais que especiais.

Aos grandes amigos que tive a oportunidade de conhecer no GPTec. Marília Destefani, nossa amizade começou em 2015 dentro do laboratório e hoje te levo para a vida. Tenho certeza que sem você e seu apoio esse trabalho jamais ficaria pronto, meu mais sincero obrigado a você minha querida amiga.

A Suelen Angeli, uma pessoa maravilhosa que tive a oportunidade de conhecer, obrigada por todo o conhecimento compartilhado e ao cuidado que você sempre tem comigo.

Por último, um grande agradecimento a você, meu querido Fernando Rodrigues. Obrigado por tudo o que compartilhamos nesse tempo, você sempre terá um espacinho comigo. Obrigado por nunca medir esforços para me ajudar, sem você meus dias não teriam sido tão felizes no GPTec.

Muito obrigado a todos que tenho a felicidade de chamar de amigo e por serem os melhores que eu poderia um dia ter encontrado. Esse trabalho é dedicado a todos vocês, meus queridos. Amo vocês.

RESUMO

IMOSKI, Rafaela. **Avaliação da degradação do pesticida comercial por processo UV/H₂O₂**, 2019, 65f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2019.

O uso indiscriminado de pesticidas pode acarretar diversos problemas de saúde na população, em função da ação neurológica que a maioria destes compostos apresenta. O malation é um pesticida organofosforado classificado como altamente tóxico. No Brasil, o malation também é o pesticida utilizado no combate ao mosquito *Aedes aegypti*, onde é nebulizado nas áreas de interesse, geralmente urbanas. Neste sentido, a frequente ocorrência desse tipo de substância nas matrizes ambientais tem gerado preocupação. Atrelado à necessidade do tratamento eficiente destas substâncias, os processos avançados de oxidação (AOP) vêm apresentando resultados promissores para degradação de micropoluentes, destacando-se o processo UV/H₂O₂. O objetivo desse trabalho foi avaliar a degradação do pesticida Malation® 500 CE pelos processos UV/H₂O₂ e fotólise, acompanhando a determinação da concentração do princípio ativo malation por CLAE-DAD. Os experimentos de degradação foram realizados por reator em escala de bancada utilizando como fonte de radiação uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W, nos tempos de 15, 30 60 e 90 minutos. A concentração inicial nominal do Malation® 500 CE para as degradações foi de 500 µg L⁻¹. Para o estudo do processo UV/H₂O₂, a concentração de H₂O₂ foi de 100 mg L⁻¹, com reinjeções a cada 10 minutos de 100 mg L⁻¹. Bioensaios com larvas do mosquito *Aedes aegypti*, foram realizados de forma a avaliar a atividade larvicida do composto antes e após as degradações. Também foram realizadas análises de carbono orgânico dissolvido, de modo a observar a degradação do composto. A quantificação do princípio ativo malation foi feita a partir do uso de extração em fase sólida, com percentual de recuperação de 80%. Em 90 minutos de fotólise, foram atingidos níveis de degradação acima de 95%. Para o processo UV/H₂O₂, em 30 minutos o sinal cromatográfico do pesticida malation não era mais observado. O carbono orgânico teve um aumento significativo em 30 minutos de fotólise, porém o valor diminuiu até o final da reação. No processo UV/H₂O₂, o teor de carbono orgânico dissolvido foi de 99% em 60 minutos de reação. Em relação aos bioensaios, foi observado efeito tóxico apenas em 90 minutos para o processo UV/H₂O₂, atribuída à formação de subprodutos da degradação. A partir dos resultados obtidos, chega-se à conclusão de que o processo UV/H₂O₂ é o mais indicado para a degradação do pesticida comercial.

Palavras-chave: Processos avançados de oxidação. CLAE-DAD. Pesticidas organofosforados. *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

IMOSKI, Rafaela. Evaluation of degradation of the commercial pesticide malation by UV/H₂O₂ process, 2019, 65f. Trabalho de conclusão de curso – Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

The indiscriminate use of pesticides can lead to several health problems in the population, due to the neurological action that most of these compounds present. Malathion is an organophosphorus pesticide classified as highly toxic. In Brazil, malation is also the pesticide used to combat the *Aedes aegypti* mosquito, where it is nebulized in areas of interest, usually urban. In this sense, the frequent occurrence of this type of substance in the environmental matrices has generated concern. Due to the need for efficient treatment of these substances, the advanced oxidation processes (AOP) have presented promising results for the degradation of micropollutants, especially the UV/H₂O₂ process. The objective of this work was to evaluate the degradation of the pesticide Malation® 500 CE by UV/H₂O₂ processes and photolysis, following the determination of the concentration of the active principle malation by HPLC-DAD. The degradation experiments were carried out by a bench scale reactor using a high-pressure mercury vapor lamp of 125 W at a time of 15, 30, 60 and 90 minutes as the radiation source. The nominal initial concentration of Malation® 500 CE for the degradations was 500 µg L⁻¹. For the study of the UV/H₂O₂ process, the H₂O₂ concentration was 100 mg L⁻¹, with every 10 minutes reinjections of 100 mg L⁻¹. Bioassays with larvae of the *Aedes aegypti* mosquito were carried out in order to evaluate the larvicidal activity of the compound before and after the degradations. Analyzes of dissolved organic carbon were also performed in order to observe the degradation of the compound. The quantification of the active principle malation was made from the use of solid phase extraction, with recovery percentage of 80%. Within 90 minutes of photolysis, degradation levels above 95% were achieved. For the UV/H₂O₂ process, within 30 minutes the chromatographic signal of the pesticide malation was no longer observed. The organic carbon had a significant increase in 30 minutes of photolysis, but the value decreased until the end of the reaction. In the UV/H₂O₂ process, the dissolved organic carbon content was 99% in 60 minutes of reaction. In relation to the bioassays, toxic effect was observed only in 90 minutes for the UV/H₂O₂ process, attributed to the formation of by-products of the degradation. From the results obtained, it is concluded that the UV/H₂O₂ process is the most suitable for the degradation of the commercial pesticide.

Keywords: Advanced oxidation processes. HPLC-DAD. Organophosphorus pesticides. *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do Malation.....	16
Figura 2: Processos físicos, químicos e microbiológicos de transformação dos pesticidas.	18
Figura 3: ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	21
Figura 4: Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por processo fotólise. [1] Homólise; [2] Heterólise; [3] Fotoionização.	25
Figura 5: fluxograma da metodologia.	31
Figura 6: fluxograma da metodologia de extração em fase sólida.	34
Figura 7: Representação do reator fotoquímico de bancada.....	35
Figura 8: Espectro de absorção do UV-Vis do pesticida Malation.....	38
Figura 9: Cromatogramas do pesticida Mmlation padrão analítico e Malation® 500 CE, fase móvel H ₂ O:ACN, volume de injeção 50 µL, vazão 0,3 mL min ⁻¹ e monitoramento em 200 nm.....	40
Figura 10: Espectros de absorção do malation padrão e do Malation® 500 CE.	41
Figura 11: Curva analítica do pesticida malation padrão (100 – 550 µg L ⁻¹).	42
Figura 12: Cromatogramas e espectros em triplicata do processo de extração em fase sólida do pesticida malation padrão analítico sem a adição de metanol, concentração inicial 200 ng L ⁻¹	44
Figura 13: Cromatogramas em triplicata do processo extração em fase sólida do pesticida malation padrão analítico com adição de 1% de metanol, concentração inicial 200 ng L ⁻¹	45
Figura 14: Cromatogramas em duplicata do processo extração em fase sólida do pesticida malation com adição de 1% de metanol na amostra, concentração inicial 400 ng L ⁻¹	46
Figura 15: Concentração de Malation® 500 CE ao longo da aplicação da radiação UVC (C/C ₀).....	47
Figura 16: Espectros de absorção dos picos interferentes observados no mesmo tempo de retenção do malation, nos tempos de degradação de 30 e 90 minutos. ...	48
Figura 17: Concentração em mg L ⁻¹ de carbono orgânico dissolvido durante a fotólise do Malation.....	49
Figura 18: Concentração de Malation ao longo da degradação por processo UV/H ₂ O ₂ (C/C ₀).	51

Figura 19: Concentração em mg L^{-1} de carbono orgânico dissolvido durante o processo UV/H ₂ O ₂ do Malation.	52
Figura 20: Cromatogramas do processo UV/H ₂ O ₂ nos tempos de reação de 0 e 90 minutos.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos sistemas de processos avançados de oxidação.....	23
Tabela 2: Condições cromatográficas para detecção e quantificação do Malation. ...	39
Tabela 3: Imobilidade média (%) de larvas de <i>A. aegypti</i> pós fotólise e processo UV/H ₂ O ₂	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	Pesticidas	15
3.1.1	PESTICIDA ORGANOFOSFORADO MALATION.....	15
3.1.2	MALATION FORMULAÇÃO COMERCIAL.....	17
3.1.3	MALATION E O MEIO AMBIENTE.....	17
3.1.4	MALATION E O MOSQUITO DA DENGUE.....	20
3.2	Processos avançados de oxidação	23
3.2.1	FOTÓLISE (UVC).....	24
3.2.2	PROCESSO UV/H ₂ O ₂	25
3.2.3	TRATAMENTO DO MALATION POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO.....	26
3.3	Avaliação dos parâmetros de mérito	28
3.4	Detecção do Malation por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD).	29
4	METODOLOGIA	31
4.1	Reagentes e insumos	31
4.2	Método cromatográfico	32
4.3	Curva analítica Malation padrão	33
4.4	Extração em fase sólida	33
4.5	Tratamento por fotólise e processo avançado de oxidação UV/H₂O₂	35
4.6	Controle Analítico	36
4.6.1	DETERMINAÇÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H ₂ O ₂) RESIDUAL.....	36
4.6.2	DETERMINAÇÃO DA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO.....	37
4.6.3	DETERMINAÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO DISSOLVIDO.....	37
4.7	Bioensaio com larvas do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1	Cromatografia líquida	38
5.1.1	ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO UV-VIS.....	38
5.1.2	DETERMINAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO.....	39
5.1.2	DETERMINAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA.....	42
5.2	Extração em fase sólida do pesticida padrão	43
5.3	Tratamento do Malation® 500 CE por fotólise e processo avançado de oxidação UV/H₂O₂	46
5.3.1	APLICAÇÃO DA FOTÓLISE NA DEGRADAÇÃO DO PESTICIDA MALATION Malation® 500 CE.....	46
5.3.2	PROCESSO UV/H ₂ O ₂	50
5.3.2.1	Determinação da concentração de H ₂ O ₂ ideal.....	50
5.3.2.2	Aplicação do processo UV/H ₂ O ₂ na degradação do pesticida Malation® 500 CE.....	50
5.4	Bioensaio com larvas do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	53
6	CONCLUSÃO	55
7	RECOMENDAÇÕES FUTURAS	56

REFERÊNCIAS..... 57

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da produção agrícola, o uso de pesticidas tornou-se um método bastante defendido pelos agricultores e empresas produtoras desse tipo de composto como sendo essencial para o controle e prevenção de pragas (LINHARES, 2014; SILVA, 2011). O uso indiscriminado desses compostos traz diversas consequências graves quando liberado para o meio ambiente e também para a população exposta (HOSHINO, 2009). Assim que são aplicados, os pesticidas podem passar por diferentes processos, como físicos, químicos ou biológicos, gerando consequências no ambiente, além de, cada vez mais, estarem sendo encontrados em diferentes matrizes ambientais (RIBEIRO, 2007).

A presença de pesticidas em matrizes como águas superficiais e, até mesmo, água potável, tem mostrado que os processos convencionais de tratamento não são suficientes para o adequado tratamento desses compostos (KRALJ, 2007; ZHANG, 2010). Duavi et al. (2015) avaliaram a presença de alguns organofosforados em sedimentos, encontrando o Malation em concentrações que variavam de 0,10 a 0,85 ng L⁻¹, em locais próximos a aplicações desse composto para combate do mosquito *Aedes aegypti*. Moreira et al. (2012) detectaram o Malation em águas superficiais, de poços artesanais e da água da chuva em municípios do Mato Grosso, com concentrações entre 0,02 – 8,83 µg L⁻¹.

Os estudos citados acima mostram que a concentração do pesticida está dentro do permitido pela legislação brasileira em corpos hídricos menos restritivos, onde a concentração máxima é 100 µg L⁻¹. Já em corpos hídricos que são utilizados para abastecimentos público e outras atividades, a concentração máxima permitida é de 0,1 µg L⁻¹ (CONAMA nº 357/2005). Em comparação com a legislação de países como os Estados Unidos, a concentração encontrada nos estudos para águas de abastecimento está acima do permitido, onde a concentração máxima estipulada fica em 0,1 µg L⁻¹, determinado desde 1986. Já no Brasil, a resolução do CONAMA nº 357 foi publicada em 2005, de modo que as concentrações no meio podem estar acima do que hoje é permitido, já que antes disso não teria o controle necessário.

Desta forma, os processos avançados de oxidação (AOP) têm sido estudados como uma alternativa de tratamento. Esses processos baseiam-se na geração *in situ* de radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$). Os radicais hidroxila são extremamente reativos, não seletivos e possuem alto potencial padrão de oxidação (2,80V), podendo levar à degradação dos contaminantes, ou à conversão em novos compostos com maior biodegradabilidade (KRALJ, 2007; LI, 2012; OLIVEIRA, 2011; RODRIGUES, 2007; TEIXEIRA, 2004).

Entre os processos oxidativos avançados pode-se destacar o processo UV/H₂O₂, que se baseia na quebra da molécula de peróxido de hidrogênio por incidência de radiação UVC, formando o radical hidroxila (FADAEI, 2012; KRALJ, 2010).

Estudos envolvendo a degradação de pesticidas organofosforados, como o Malation, por processos oxidativos avançados, têm sido descritos na literatura. Fadaei et al. (2012) avaliaram a degradação do Malation na presença de bicarbonato e sulfato utilizando o processo UV/H₂O₂. A presença de sais durante a degradação diminuiu a efetividade do processo e aumentou o tempo necessário para degradação em comparação a degradação sem a utilização de sais. Lin et al. (2012) avaliaram a remoção do Malation em folha de chá usando o processo O₃/UV/TiO₂, mostrando uma remoção de 80,7% após 45 minutos de reação, em pH básico.

Em função da necessidade de tratamentos mais efetivos para a degradação destes compostos, bem como a importância ambiental e para saúde pública, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de degradação do pesticida Malation® 500 CE, pelo processo avançado de oxidação UV/H₂O₂, associado ao uso da cromatografia líquida com o acompanhamento da atividade larvívica frente ao *Aedes aegypti* dos subprodutos gerados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de degradação do pesticida organofosforado Malation® 500 CE a partir da aplicação do processo avançado de oxidação UV/H₂O₂.

2.2 Objetivos específicos

Implementar uma metodologia de análise do pesticida malation em solução aquosa por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), que permita determinar a eficiência do processo de tratamento proposto;

Avaliar alguns parâmetros de mérito para o método cromatográfico, como o limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, exatidão, precisão;

Testar a eficiência de um método de extração por fase sólida para o pesticida padrão, para o comercial e para as etapas de degradação;

Realizar testes de efeito larvicida com *Aedes aegypti* das amostras de degradação.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Pesticidas

Os pesticidas são substâncias químicas ou misturas de substâncias químicas, que tem como função prevenir, repelir ou destruir qualquer tipo de praga, como insetos, fungos, plantas indesejáveis etc. (EPA, 2018).

Com o intuito de aumentar a produção agrícola, o desenvolvimento de pesticidas mais potentes e mais tóxicos tem sido realizado. O maior problema é que esses compostos são lançados no meio ambiente sem qualquer tipo de tratamento, atingindo diversas matrizes, como a água, o solo e o ar, fazendo com que a exposição humana seja possa ser maior do que apenas quando são consumidos alimentos contaminados (CULLINEY *et al.*, 1992; MOSTAFALOU *et al.*, 2013; PINHO, 2009).

Os pesticidas são classificados de acordo com a sua toxicidade, finalidade e modo de operação. Os organofosforados apresentam na sua estrutura átomos de carbono e fósforo e são comumente classificados como inseticidas. São altamente tóxicos e inibem a enzima acetilcolinesterase (FLORES, 2004; SANCHES, 2003).

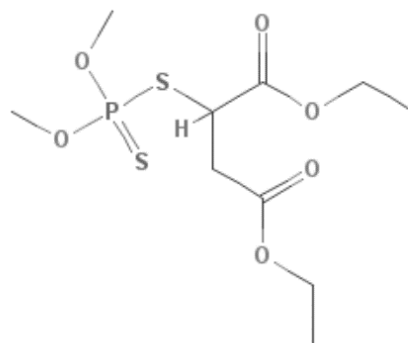
3.1.1 Pesticida organofosforado Malation

No mundo, um dos pesticidas que tem sido mais utilizado é o Malation, para erradicação de pragas agrícolas e controle de piolhos (FADAEI, 2012; KRALJ, 2007; MUTURI, 2013). No Brasil, esse pesticida tem sido usado em plantações de carambola, tomate, algodão, entre outras culturas (GOBO, 2004; SILVA, 2016; ZANATTA, 2017). Porém, seu maior uso é direcionado ao controle do mosquito transmissor da dengue e de outras doenças, o *Aedes aegypti*, e sua liberação é feita por nebulização (COLEONE, 2017; LEME, 2014; MARCORIS, 1999).

Em 2019, os casos de dengue no Brasil voltaram a aumentar, chegando a quase 22 mil casos até maio. Dessa forma, a aplicação do fumacê usando o pesticida organofosforado malation voltou a ser discutido (G1-DF, 2019). Pesquisadores do fumacê afirmam que a sua eficiência em relação ao mosquito é baixa e que seu efeito dura apenas 30 minutos, atingindo apenas os mosquitos adultos, não afetando os criadouros das larvas. Além da baixa eficiência, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), classifica o malation como potencialmente cancerígeno para os seres humanos, o que aumenta a discussão sobre o uso do fumacê e sua efetividade (G1-DF, 2019).

O malation, de nomenclatura IUPAC, diethyl 2-dimethoxyphosphinothioylsulfanylbutanedioate, conhecido também como Malationa, tem massa molar $330,36 \text{ g mol}^{-1}$, solubilidade de 143 mg L^{-1} em água a 20°C , pka em torno de 6,8 e coeficiente de partição octanol/água de 2,36 (DRUGBANK, 2019; PUBCHEM, 2018). Sua estrutura química é apresentada na Figura 1. É um pesticida pertencente a classe dos organofosforados e a de inseticida e acaricida, e pode ser aplicado como pesticida foliar em alguns tipos de cultura (ANVISA, 2018).

Figura 1: Estrutura química do Malation.



Fonte: Pubchem (2018).

É classificado como altamente tóxico (classe III), porque atua na inibição da enzima acetilcolinesterase, que é a enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina em acetato e colina, sendo rapidamente absorvido e distribuído pelo

organismo, podendo estar associado a processos mutagênicos e carcinogênicos (ANVISA, 2018; CABELLO, 2013; GUYTON, 2015; LIU, 2012; ZHANG, 2010).

3.1.2 Malation formulação comercial

Existem diversas formulações que utilizam o pesticida malation como produto ativo. A descrição da formulação e de todos os produtos contidos no frasco é de extrema importância, já que a escolha do produto que será utilizado terá como base a sua aplicabilidade correta (PLONKA, 2016).

Segundo os fabricantes, a formulação do pesticida comercial Malation® 500 CE classifica-se como um concentrado emulsionável que contém 50% (p/v) de produto ativo e 50% (p/v) de outros tipos de produtos, como solventes, diluentes e tensoativos. Esse tipo de formulação é recomendado para o controle de formigas, moscas, pulgões, mosquito da dengue, entre outros tipos de insetos. É indicado que seja pulverizado diretamente no local onde há infestação de pragas (ADAPAR, 2019).

Atualmente, em diversos estados do Brasil, tem sido utilizado outra forma de apresentação do princípio ativo malation. Essa formulação é apresentada como uma emulsão estável de água e óleo, que possui partículas suspensas do pesticida em solução aquosa, que são estabilizadas a partir do uso de aditivos e agentes emulsificantes. Em teoria, esse tipo de apresentação facilita a dissolução em água e gera menos custo de utilização (DIVE, 2016; SVS-GO, 2014; WHO, 2012).

3.1.3 Malation e o meio ambiente

A permanência dos pesticidas no solo ou em outras matrizes, depende das características da matriz e do contaminante. Pesticidas como os organofosforados, apesar de apresentarem fácil degradação, podem permanecer no

ambiente adsorvidos em partículas do solo ou até mesmo serem levados para águas superficiais para longe da fonte de contaminação, atingindo todo um ecossistema. Os processos físicos e químicos também estão relacionados com a persistência dos pesticidas nas matrizes (FLORES, 2004; MUTURI, 2013; RIBEIRO, 2007). Na figura 2, são descritos alguns processos físicos, químicos e microbiológicos que podem ocorrer com os pesticidas. A avaliação de risco de contaminação, torna-se necessária para que se tenha conhecimento das propriedades físico-químicas dos contaminantes, para prever as interações entre contaminante e matriz. (IKEHATA, 2006; SANCHES, 2003).

Figura 2: Processos físicos, químicos e microbiológicos de transformação dos pesticidas.



Fonte: Ribeiro et al. (2007).

De acordo com a Resolução nº 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que dispõe sobre o enquadramento dos corpos hídricos e apresenta a concentração máxima de diversos poluentes, esta é dependente da classe dos corpos d'água. Os de classe 1 e 2, que são utilizados para abastecimento da população após desinfecção, proteção de ambientes aquáticos, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças e outros usos diretamente ligados a população, devem apresentar concentração máxima do pesticida malation de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Em outros corpos d'água de classe menos restritiva, que são usados

para outros tipos de atividades e não para o abastecimento da população, a concentração permitida do malation e de diversos outros pesticidas é bem mais alta, aproximadamente $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2005; BRASIL, 2017).

Em países como os Estados Unidos da América (EUA), a Agência de Proteção Ambiental (Environmental Protection Agency – EPA), estipula que a concentração máxima permitida e o limite acumulado do malation em corpos d'água é $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, determinado desde 1986 (EPA, 2019). Na Europa, o Conselho da União Europeia (The Council of European Union – EC) por meio da Diretiva nº 98/83/EC, determina o limite máximo permitido do malation referente a água para abastecimento humano, que deve estar em concentrações inferiores a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (EC, 1998).

Duavi et al. (2015), analisaram a presença de pesticidas organofosforados, entre eles o pesticida malation, e piretróides nos sedimentos de dois rios no estado do Ceará, o Rio Cocó e o Rio Ceará. As concentrações de malation encontrados nos rios variavam entre $0,10 - 0,85 \text{ ng g}^{-1}$ para o rio Cocó e $0,08-0,14 \text{ ng g}^{-1}$ para o rio Ceará. Os estudos indicaram que a possível fonte de contaminação dos pesticidas nos rios, é devido ao uso na saúde pública, que nos últimos anos aumentou devido ao surto de dengue no estado e porque os bairros próximos ao rio têm indicação de grande uso do pesticida para combate do mosquito *Aedes aegypti*. Ainda se relata que devido ao grande uso, o ambiente em que se encontram os contaminantes não foi capaz de depurar ou degradar o composto em um intervalo de tempo pequeno.

Moreira et al. (2012) avaliaram a contaminação por pesticidas, entre eles o malation, de águas superficiais, de poços artesianos e de chuva em dois municípios de Mato Grosso, Lucas do Rio Verde e Campo Verde. Esses dois municípios estão entre os mais importantes produtores de soja, milho e algodão do estado. No município de Lucas do Rio Verde, foi encontrado o pesticida malation nas águas superficiais na concentração de $0,02 - 8,83 \mu\text{g L}^{-1}$, na água de chuva a concentração encontrada foi de $0,01 - 3,36 \mu\text{g L}^{-1}$. Já nos poços artesianos não foi detectado o pesticida. Em Campo Verde, foi detectado o pesticida malation apenas nas águas de chuva, na concentração de $4,37 - 7,08 \mu\text{g L}^{-1}$. Outros pesticidas também foram encontrados nos dois municípios. A explicação da detecção dos pesticidas na água de chuva deve-se a volatilização dos compostos que são utilizados no meio rural, a formação de plúmbeas durante a aplicação e o transporte

pelo vento, que carrega os pesticidas para outros locais. Outro fato que se observa, é que a contaminação nesses estados pode ser maior, por conta do clima que é quente e úmido, facilitando as condições de chuva.

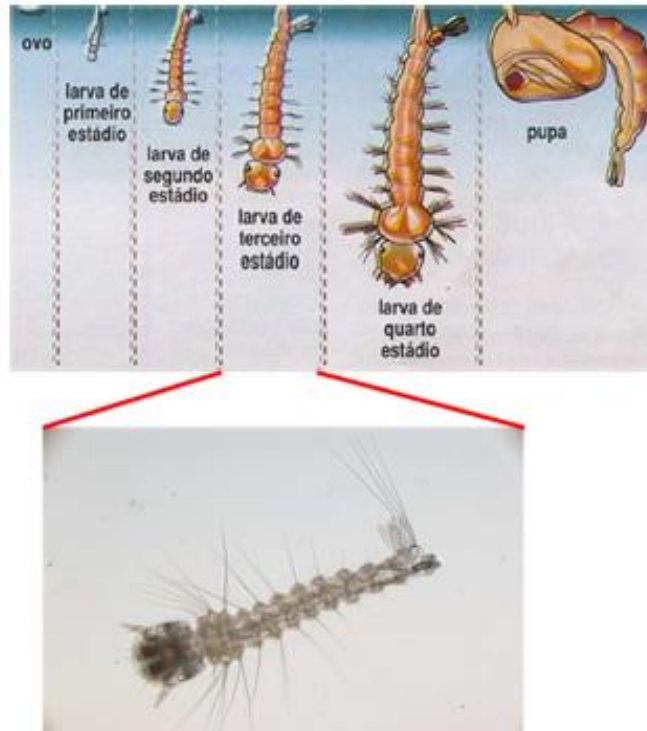
Segundo a Agência Nacional de Águas (ANA), águas superficiais são águas que se acumulam na superfície, não penetrando no solo e, portanto, dando origem a lagos, rios, córregos, considerados a maior fonte de fornecimento de água potável. O aparecimento de pesticidas muito acima do permitido pela legislação é preocupante, considerando que os tratamentos de água convencionais não são efetivos na degradação desses poluentes (ANA, 2019).

3.1.4 Malation e o mosquito da dengue

O mosquito *Aedes aegypti* é relatado como o transmissor da dengue e diversos outros tipos de doenças e seu monitoramento deve ser constante. Devido a isso, pesquisas têm sido relatadas na literatura em relação ao uso do pesticida Malation para o controle do mosquito e seus principais problemas. As condições ambientais em que se insere o pesticida devem ser analisadas previamente, para que evite o excesso liberado no ambiente, prejudicando outras espécies presentes no mesmo meio, assim como aumentar a suscetibilidade do mosquito ao pesticida (MACORIS, 1999; MUTURI, 2013; PIOVEZAN, 2017).

O mosquito *Aedes aegypti* tem seu ciclo de vida em 4 estágios de acordo com a avaliação das larvas, como mostrado na figura 3.

Figura 3: ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Utzig (2016).

Em 2011, o Instituto Oswaldo Cruz divulgou uma nota técnica em que relacionava a mutação de um gene do mosquito da dengue com a resistência a pesticidas piretróides. Dessa forma, começou-se o uso de outro pesticida classificado como organofosforado, o temefós. Em 2016, o Instituto divulgou outra nota técnica em que demonstrava que devido ao uso do temefós, os mosquitos começaram a adquirir resistência a essa nova forma de controle químico. Dito isso, o documento indica que existe apenas mais uma forma de controle químico, utilizando o pesticida organofosforado Malation, mas que a probabilidade do mosquito adquirir resistência a esse pesticida por meio do fenômeno conhecido como resistência cruzada é alta e que outras formas de controle devem ser aplicadas (IOC, 2011; IOC, 2016).

Leme et al. (2014) estudaram a vestimenta que era utilizada como proteção individual por trabalhadores que aplicavam o Malation em São Paulo e concluiu a partir de avaliação de filtros absorventes que eram colocados dentro e fora

das vestimentas, que mesmo utilizando equipamentos de proteção individual novo e após a lavagem, os trabalhadores estavam expostos ao pesticida, e que algumas situações como o calor extremo dentro das vestimentas, e conseqüentemente o suor dos trabalhadores, poderia favorecer a absorção do pesticida pela derme.

Alguns estudos apresentados abaixo, sugerem que a suscetibilidade e resistência do mosquito da dengue ao pesticida malation não é recente e que outras formas de controle ao mosquito transmissor de dengue devem ser estudadas e aplicadas.

Lima et al. (2003) estudaram a suscetibilidade dos mosquitos residentes no estado do Espírito Santo e do Rio de Janeiro, demonstrando que todas as larvas do mosquito expostas não eram suscetíveis ao malation e que apenas os mosquitos adultos da cidade de Nova Iguaçu (Rio de Janeiro) continuavam suscetíveis ao pesticida, o que mostra que o uso prolongado do pesticida com essa função, selecionou os mosquitos mais resistentes ao produto, sendo necessárias outras formas de controle.

Fernández et al. (2013) estudaram a suscetibilidade do mosquito em relação ao Malation a partir de bioensaios, concluindo a partir de alguns testes químicos e destacando a inibição da acetilcolinesterase, que o Malation tem potencial de controle do mosquito. Francis et al. (2017) avaliaram a resistência do *Aedes aegypti* em relação ao Malation, concluindo que os mosquitos estão desenvolvendo resistência a esse pesticida e frisa que a avaliação contínua da resistência do mosquito deve ser feita.

Muturi (2013) avaliou como os efeitos do Malation são dependentes das condições ambientais em que está inserido, mostrando como a temperatura pode influenciar no crescimento das larvas, na reprodução e na suscetibilidade do mosquito. Também foi avaliado como a temperatura pode aumentar o efeito do pesticida nos mosquitos. A taxa de eclosão dos ovos não foi afetada significativamente em temperaturas amenas, como em 20°C. Já em temperaturas mais altas, a taxa de eclosão foi menor, considerando apenas o controle. Para as amostras contendo o pesticida, em altas concentrações observou-se um efeito significativo na eclosão dos ovos. Em concentrações mais baixas, a taxa de eclosão se comportou como a do controle.

3.2 Processos avançados de oxidação

O aparecimento de pesticidas em diversos tipos de matrizes, principalmente na água, mostra que esse tipo de composto é resistente aos tratamentos convencionais e, por isso, torna-se necessário o estudo de tratamentos complementares e alternativos. Os tratamentos convencionais envolvem técnicas de transferência de fases, adsorção em carvão ativado, tratamento biológico, incineração, entre outros, porém ainda há preocupação quanto à disposição final dos resíduos sólidos ou líquidos. (ANDREOZZI, 1999; ESPLUGAS, 2002; TEIXEIRA, 2004; MALATO, 2009).

Já nos processos avançados de oxidação, utiliza-se uma espécie oxidante para degradação e devido a sua alta eficiência tem obtido destaque para o tratamento de contaminantes, sendo assim apresenta-se como a melhor opção frente a suas vantagens quando comparado aos tratamentos convencionais (TEIXEIRA, 2004).

Os processos avançados de oxidação são processos que se caracterizam por transformar a maioria dos contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos, por reações de degradação utilizando espécies oxidantes, como o radical hidroxila. Esses radicais podem ser gerados a partir do uso de um oxidante forte, como o peróxido de hidrogênio, entre outros (IKEHATA, 2006; TEIXEIRA, 2004). Os radicais podem ser formados de diversas maneiras e os processos são classificados em sistemas homogêneos ou heterogêneos, conforme algumas características descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Classificação dos sistemas de processos avançados de oxidação.

Sistemas homogêneos		Sistemas heterogêneos	
Com irradiação	Sem irradiação	Com irradiação	Sem irradiação
UV/H ₂ O ₂	O ₃ /H ₂ O ₂	TiO ₂ /UV	Eletrofenton
UV/O ₃	H ₂ O ₂ /Fe ⁺²	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	
UV/H ₂ O ₂ /O ₃			
Feixe de elétrons			
UV/H ₂ O ₂ /Fe ⁺²			

Fonte: Adaptado de Teixeira (2004).

Esse tipo de processo apresenta diversas vantagens, como o forte poder oxidante, baixa seletividade, não necessitam de pós tratamento ou disposição final, possibilitam tratamento *in situ*, entre outras vantagens (TEIXEIRA, 2004). Entre os processos avançados de oxidação, o tratamento UV/H₂O₂ tem obtido certo destaque e baseia-se na geração de radicais extremamente reativos, não seletivos, com alto potencial padrão de oxidação (2,80V) a partir do uso de radiação ultravioleta (OLIVEIRA, 2011; RODRIGUES, 2007; TEIXEIRA, 2004).

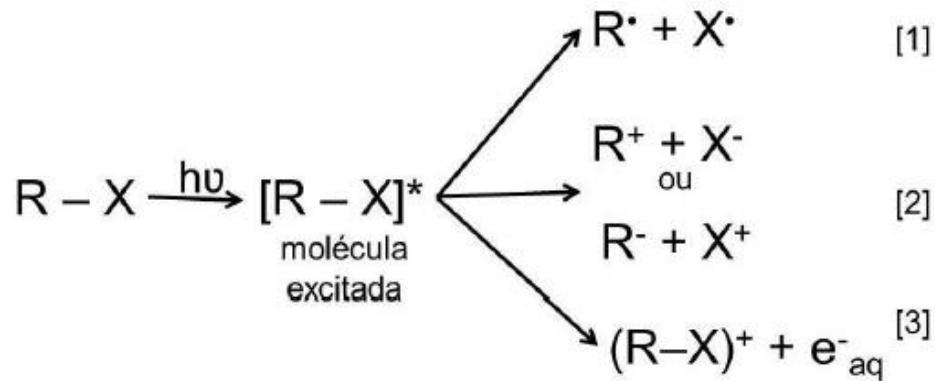
Devido ao uso de radiação UVC no processo UV/H₂O₂, é comum a avaliação da contribuição da fotólise nesses processos.

3.2.1 Fotólise (UVC)

A fotólise pode ocorrer de forma direta e indireta. Da forma direta, a absorção da radiação é feita pelo grupo cromóforo presente na estrutura da molécula. A excitação das moléculas pode ser dada pela homólise, heterólise e fotoionização das moléculas pela radiação e um esquema simplificado é apresentado na Figura 4. Durante o processo de fotólise, pode ocorrer a formação de produtos que não absorvem radiação, o que dificulta a completa mineralização do composto (REDDY, KIM, 2015).

Na forma de fotólise indireta, uma molécula fotossensível absorve a radiação que é fornecida, iniciando uma série de reações que facilitam a transformação da molécula em outras de mais fácil degradação e então o processo de fotólise indireta acontece da mesma forma que a direta (KRALJ, FRANCO, 2007; REDDY, KIM, 2015).

Figura 4: Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por processo fotólise. [1] Homólise; [2] Heterólise; [3] Fotoionização.



Fonte: Adaptado de Reddy, Kim (2015).

3.2.2 Processo UV/H₂O₂

O peróxido de hidrogênio é um oxidante forte (0,87-1,8 V), que pode ser utilizado em todos os pH dependendo do processo. Entretanto, o peróxido de hidrogênio não tem a capacidade de oxidar os pesticidas por si próprio, e torna-se necessário a combinação com outros tipos de processos, como o UV/H₂O₂ (IKEHATA, 2006).

Nesse processo, a geração do radical hidroxila ocorre a partir da utilização de H₂O₂ combinado com a aplicação de radiação ultravioleta. A incidência da radiação sob o oxidante acarreta a quebra da molécula de peróxido de hidrogênio, levando a formação de dois radicais hidroxila por molécula de peróxido de hidrogênio e o processo é exemplificado na equação 1. Segundo alguns estudos o pH alcalino favorece a fotólise do peróxido de hidrogênio, porém muitos estudos têm sido realizados nas condições naturais do efluente, evitando-se mais uma etapa de custo do processo (ANDREOZZI, 1999; IKEHATA, 2006; LOURES, 2013; OLIVEIRA, 2014).



Em altas concentrações, o peróxido de hidrogênio pode se recombinar a partir do consumo dos radicais formados e formar radicais de superóxidos, como mostrado na equação 2. A partir da formação do superóxido, pode ocorrer a recombinação para formação do peróxido de hidrogênio (equação 3) (LOURES, 2013; PRIETO-RODRÍGUEZ, 2013).



Esse processo de formação de novos radicais diminui a eficiência do processo de oxidação. Desta forma, a concentração de peróxido de hidrogênio deve ser otimizada, geralmente em função da quantidade de carbono orgânico presente na amostra, favorecendo o processo de oxidação do composto (LOURES, 2013; PRIETO-RODRÍGUEZ, 2013).

3.2.3 Tratamento do Malation por processos avançados de oxidação

Alguns estudos abaixo são demonstrados referente ao processo escolhida para o trabalho, que relatam sobre a oxidação do Malation por fotólise UVC e processo UV/H₂O₂. Nota-se a partir das pesquisas, que para o pesticida Malation de formulação comercial existem poucos artigos que relatam sobre o seu tratamento.

Fadaei et al. (2012) estudaram a degradação de dois pesticidas, o malation e o Diazinon, a partir da adição de sais que levam à formação de radicais de sulfato e de bicarbonato e também sem a presença desses sais. O estudo de degradação foi feito pelo processo UV/H₂O₂, utilizando uma lâmpada de mercúrio de 150 W. A adição de sais na solução diminuiu a eficiência de degradação do

processo para os dois pesticidas, devido à formação de radicais sulfato e bicarbonato em presença de radicais hidroxila. Esses novos radicais apresentam menor potencial de oxidação que o radical $\bullet\text{OH}$. Também foi estudada a influência do pH e a maior degradação do Malation se deu em condições alcalinas e para o Diazinon em condições ácidas. Em relação ao efeito da concentração de peróxido de hidrogênio, a maior eficiência de degradação foi observada na maior concentração testada do oxidante, que foi de 30 mg L^{-1} .

Tony et al. (2017), avaliaram a degradação do pesticida organofosforado Malation de formulação comercial por oxidação química, UVC e ozônio para determinar qual o melhor processo no menor tempo de tratamento. Para o processo de fotólise, uma lâmpada de mercúrio de 10 W foi utilizada e a radiação foi mantida em um intervalo de 2 a 12 horas, sendo obtida uma degradação de 68% do Malation no tempo máximo avaliado de 12 horas. Foi observado a formação de alguns subprodutos, como o malaoxon, succinato de dietilo, fosfato de dimetilo, entre outros.

Kralj, Franko e Tebse (2007) avaliaram o comportamento do Malation durante a fotólise e outros processos avançados de oxidação. A avaliação foi feita para o pesticida padrão e para a formulação comercial Radotion P-5. Utilizando uma lâmpada UVC de 15 W, foi observado a formação de diversos subprodutos do malation, entre eles o isomalation e o malaoxon. A degradação do malation padrão foi mais rápida que a degradação para o Radotion, o que pode ser explicado pelos produtos adjacentes adicionados a formulação comercial. O autor ainda descreve que quanto mais espécies oxidantes no meio, maior será a taxa de conversão do Malation em outros subprodutos. Como efeito de comparação, os subprodutos isomalation e malaoxon também foram degradados nas mesmas condições, ocorrendo reações de isomerização e oxidação dos subprodutos durante o processo de fotólise.

Visando avaliar a inibição da enzima acetilcolinesterase, os subprodutos formados durante a fotólise do padrão foram analisados e não foram observados efeitos enzimáticos dos subprodutos formados. Para a formulação comercial, um decréscimo da atividade enzimática foi identificado na amostra sem irradiação e depois da irradiação, possivelmente pela formação do isômero do Malation, identificado por cromatografia gasosa (KRALJ, FRANKO, TEBSE, 2007).

Em conclusão, os autores dizem que a degradação total do pesticida inicial é apenas a primeira etapa do processo, já que ele se transforma em outros subprodutos, em geral, mais tóxicos que o inicial. Além disso, o produto de formulação comercial contém mais produtos do que apenas o pesticida, combinando-se de forma diferente do produto padrão, dificultando o processo de tratamento e causando uma série de problemas para o meio ambiente (KRALJ, FRANKO, TEBSE, 2007).

3.3 Avaliação de parâmetros de mérito

A avaliação de parâmetros de mérito é baseada em um documento de algum órgão regulador, visando qualificar que qualquer resultado obtido de qualquer equipamento ou operação sejam verdadeiros, de modo a garantir que os requisitos específicos são atendidos. O procedimento deve avaliar parâmetros já determinados, pelo órgão regulador (ANVISA, 2017). Porém, pode ser feito apenas a verificação de alguns parâmetros para o procedimento escolhido.

A seletividade do método analítico garante a pureza do pico cromatográfico de forma a identificar ou quantificar o analito de interesse. A exatidão indica a proximidade dos resultados obtidos com o valor teórico. Pode ser calculado como a diferença entre as medias e o valor teórico ou como porcentagem de recuperação da fortificação da amostra com o analito em concentração conhecida. A precisão analisa o erro obtido nas análises, determinando qual o método mais confiável para a análise. Avalia-se através da repetibilidade, precisão intermediária e a reprodutibilidade (ANVISA, 2017).

O limite de detecção é definido como a menor concentração que o método é capaz de detectar e pode ser determinado de diferentes formas, como por meio do método visual, da razão sinal-ruído, considerando as particularidades do método.

$$LD = \frac{3,3 \sigma}{IC} \quad (4)$$

Em que IC é a inclinação da curva de calibração, σ é o desvio padrão e pode ser obtido de 3 formas: a partir do desvio padrão do eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração do analito com concentração próxima ao limite de detecção ou quantificação, do desvio padrão residual da regressão ou da estimativa do ruído de análises de amostras do branco (ANVISA, 2017).

O limite de quantificação é a menor concentração do analito que o método é capaz de estabelecer sem prejudicar os resultados. O σ (desvio padrão) é obtido da mesma forma do limite de detecção (ANVISA, 2017).

$$LQ = \frac{10 \sigma}{IC} \quad (5)$$

3.4 Detecção do Malation por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD)

O Malation é um contaminante que tem sido altamente aplicado no Brasil e sua detecção em matrizes ambientais tem sido feita por técnicas cromatográficas. Diversos estudos para determinação do Malation por cromatografia líquida têm sido relatados na literatura.

Kralj, Franko e Tebse (2007) detectaram o malation e seus subprodutos formados a partir de tratamento por fotólise, tanto para o pesticida padrão quanto para o produto comercial por CLAE-DAD, utilizando uma coluna C18 Hypersil ODS e um gradiente de eluição acetonitrila:água. O malation e seus subprodutos foram detectados em 202 nm e o tempo de retenção para o Malation foi de 22,6 minutos e para seus subprodutos principais, como o malaoxon foi de 10,7 minutos e para o isomalation foi 13,1 minutos, indicando que esses subprodutos são mais polares que o malation.

Flores-García et al. (2011) avaliaram diversos pesticidas, entre eles o Malation, para quantificação em CLAE-DAD utilizando uma coluna C18 de fase reversa e fase móvel metanol:água, obtendo um tempo de retenção de 66,42 minutos para o Malation. Os limites de detecção e quantificação foram obtidos em

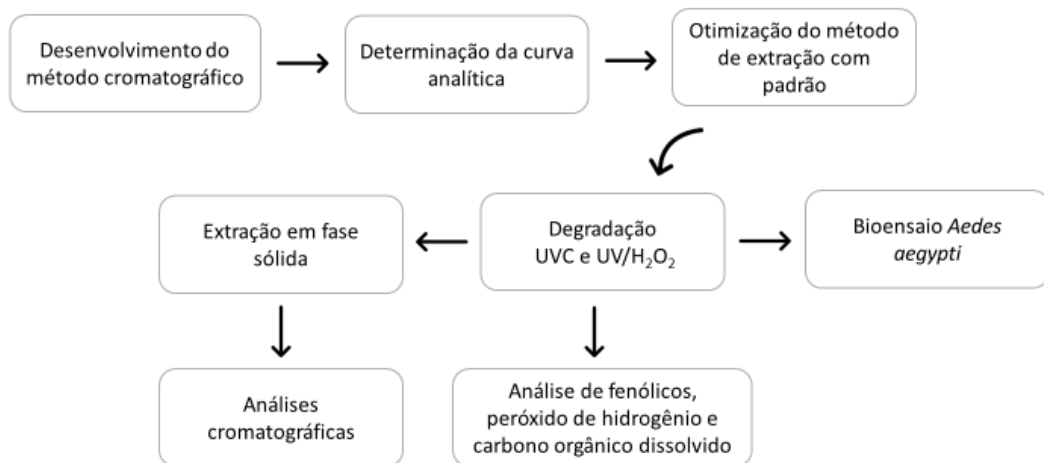
um método de SPE-HPLC-DAD com fator de pré concentração de 4000 vezes. Os valores foram determinados em $\mu\text{g L}^{-1}$ e ficaram em 0,003 e 0,006, respectivamente.

Wang et al. (2015) determinaram a presença de 22 pesticidas em resíduos de vegetais aquáticos, incluindo o Malation. Para a cromatografia, foi utilizada uma coluna C18, gradiente de eluição com metanol:água. O tempo de retenção para o Malation pelo método foi de 21,4 minutos observado em 205 nm. Os limites de detecção e quantificação para o Malation foram 0,03 e 0,1 mg kg^{-1} , respectivamente.

4 METODOLOGIA

As etapas metodológicas seguidas neste trabalho estão apresentadas, esquematicamente, na Figura 5.

Figura 5: fluxograma da metodologia.



Fonte: Autoria própria.

4.1 Reagentes, insumos e equipamentos

O padrão de Malation utilizado foi da marca Sigma-Aldrich com pureza acima de 98%). Para as degradações foram feitas o pesticida Malation® 500 CE. No processo UV/H₂O₂ foi utilizado o peróxido de hidrogênio da Peróxidos do Brasil.

Outros reagentes utilizados neste trabalho foram peróxido de hidrogênio 35% (Peróxidos do Brasil), catalase de fígado bovina 2000 – 5000 unidades mg⁻¹ (Sigma-Aldrich), bissulfito de sódio, etanol PA, acetonitrila (J.T. Baker), metanol (J.T. Baker), acetato de etila (Panreac), diclorometano (J.T. Baker), acetona (J.T. Baker).

As medidas de pH foram feitas em pHmetro Phox P1000. Para a extração em fase sólida, foram utilizados cartuchos da marca Agilent® Bond Elut C18 500 mg 6 mL.

Os ensaios de degradação, extração em fase sólida e outras etapas necessárias foram realizados no laboratório de contaminantes ambientais do Grupo de Pesquisa em Tecnologias Avançadas de Tratamento de Águas e Efluentes (GPTec) e as outras análises foram realizadas nos laboratórios multiusuários LAMEAA e LAMAQ.

Para os bioensaios, os ovos da linhagem Rockefeller foram cedidos pelo Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores – LAFICAVE, da Fundação Oswaldo Cruz – RJ. Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Para as análises cromatográficas, foi utilizado o cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a detector de arranjo de diodos (Agilent 1260 series). O carbono orgânico foi analisado em equipamento HiPerTOC (Thermo Scientific). As análises espectrofotométricas foram realizadas em equipamento espectrofotômetro UV-Vis Cary 50.

Nos bioensaios foi utilizado uma incubadora tipo BOD (Solab). A alimentação das larvas nos bioensaios foi feita com ração de peixe Alcon Basic – MEP 200 Complex.

4.2 Método cromatográfico

Através de curvas analíticas, as condições cromatográficas foram definidas e os parâmetros de mérito como seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade e faixa linear de trabalho foram determinados.

As amostras provenientes do reator fotoquímico foram submetidas à determinação analítica por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (Agilent 1260 series). Quando necessário elas foram submetidas a pré-concentração por extração em fase sólida.

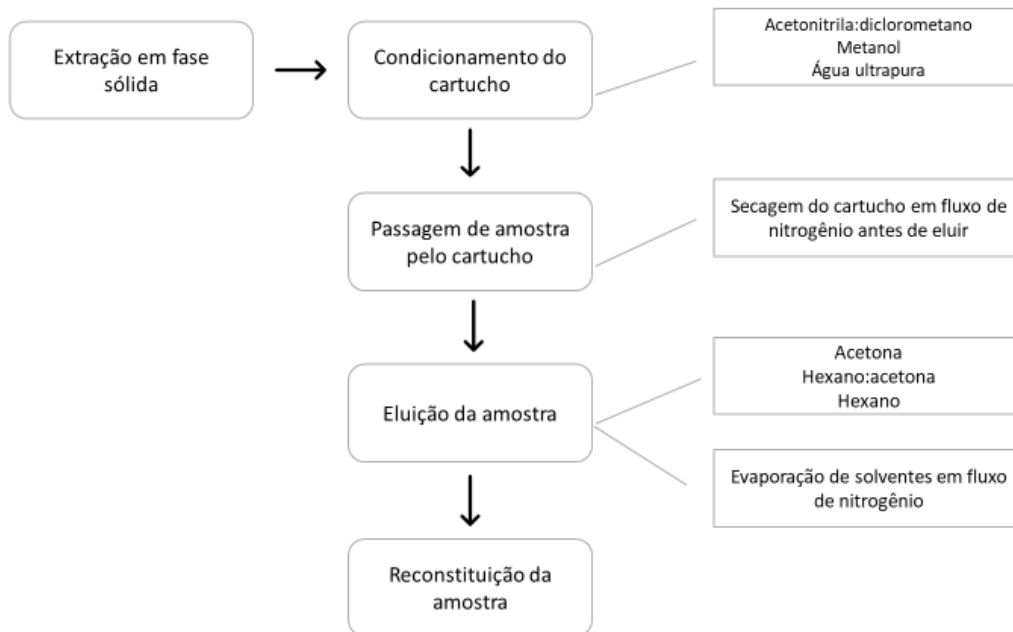
4.3 Curva analítica Malation padrão

Uma solução estoque de Malation padrão analítico a 1000 mg L^{-1} foi preparada em acetato de etila. Os pontos da curva foram preparados em acetato de etila em diferentes concentrações com faixa linear entre 100 e $550 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Após essa etapa, as soluções foram evaporadas em fluxo leve de nitrogênio e reconstituídas em água tipo 1 para análise em cromatografia líquida

4.4 Extração em fase sólida

A determinação da eficiência do processo de extração, tal como os níveis de recuperação, foi feita utilizando-se uma solução com o analito em padrão cromatográfico em concentração 400 ng L^{-1} preparada em água acidificada pH 3 com ácido clorídrico. O método de extração em fase sólida foi realizado baseando-se em Ruiz-Gil (2008) e pode ser observado na Figura 6. Ressalta-se que a extração em fase sólida do pesticida comercial após o processo de degradação foi conduzida com as amostras já acidas, devido a diminuição do pH durante o processo avançado de oxidação. As amostras foram analisadas em triplicata proporcionando resultados de exatidão e precisão para o processo de recuperação.

Figura 6: fluxograma da metodologia de extração em fase sólida.



Fonte: Autoria própria.

O condicionamento do cartucho foi realizado com 10 mL acetonitrila:diclorometano (1:1 v/v), seguido de 5 mL metanol e 3 mL de água proveniente de sistema de filtração tipo 1, em um fluxo de 3 mL/min.

A quantidade de amostra para o cartucho foi definida em 250 mL adicionando-se 2,5 mL metanol em cada amostra, tendo sido realizados experimentos de extração no padrão do analito sem a adição de 1% do solvente metanol. Para a análise das amostras de degradação com o pesticida comercial, avaliou-se apenas a eficiência com a adição do solvente.

Após a passagem da amostra pelo cartucho, os mesmos foram secos em fluxo de nitrogênio para retirada da água residual e de qualquer solvente que possa ter ficado no cartucho e interferir na próxima etapa.

A eluição dos compostos foi feita a partir de 3 mL acetona, seguido de 3 mL de hexano:acetona (1:1) e 3 mL de hexano. Os solventes resultantes da eluição foram evaporados em fluxo de nitrogênio (RUIZ-GIL, 2008).

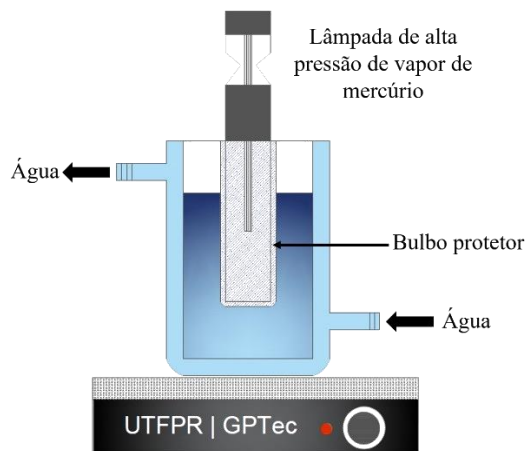
A reconstituição das amostras após a evaporação no fluxo de nitrogênio foi feita com 0,25 mL de água tipo 1, para que o fator de pré concentração das amostras fosse de 1000 vezes.

4.5 Tratamento por Fotólise e Processo Avançado de Oxidação UV/H₂O₂

Os processos de tratamento foram conduzidos em um reator fotoquímico convencional de bancada, com capacidade de 1000 mL, refrigerado por fluxo contínuo de água. A homogeneização da amostra foi realizada por meio de agitação mecânica. Utilizou-se radiação artificial a partir de uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W sem o bulbo protetor, inserindo-a na solução com auxílio de bulbo de quartzo (Figura 7).

Em função da necessidade de pré-concentração das amostras após o tratamento, cada tempo de reação foi realizado separadamente. Os tempos de degradação foram de 15, 30, 60 e 90 minutos, para a degradação UVC e UV/H₂O₂.

Figura 7: Representação do reator fotoquímico de bancada.



Fonte: Autoria própria.

No processo UV/H₂O₂, a determinação da concentração de peróxido de hidrogênio utilizada no processo de degradação, baseou-se na determinação da demanda química de oxigênio realizada para o pesticida comercial Malation.

As amostras resultantes do processo UV/H₂O₂ encaminhadas à cromatografia, tiveram o peróxido de hidrogênio residual abatido a partir de uma solução de bissulfito de sódio 40%. Neste sentido, para as amostras encaminhadas aos bioensaios utilizou-se uma solução de catalase 4% (FEMIA et al., 2013).

4.6 Controle Analítico

4.6.1 Preparo de amostra para degradação

A solubilização da amostra comercial foi feita com 1 mL de etanol padrão analítico e o volume foi completado para um balão de 1000 mL. A partir dessa solução, foi adicionado 21,27 mL no reator de 1000 mL para a degradação, para obter uma concentração nominal inicial de 500 ug L⁻¹.

4.6.2 Determinação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) residual

Para a determinação do peróxido de hidrogênio residual, utilizou-se a o procedimento adaptado de Schick, Strasser e Hans-Henning (1997) e Oliveira *et. al.* (2001) pelo reagente de Allper[®], uma solução de sal de titânio e ácido sulfúrico. Após a reação com peróxido de hidrogênio, forma-se um complexo de peroxotitânio que adquire a cor amarelada e absorve em 395 nm. A concentração de peróxido de hidrogênio foi obtida com relação à absorbância por regressão linear da curva de calibração empregada no grupo de pesquisa (10 – 50 ppm).

4.6.3 Determinação da demanda química de oxigênio

A determinação da demanda química de oxigênio foi realizada apenas para determinação da concentração de peróxido de hidrogênio para o processo UV/H₂O₂ e foi baseada na metodologia descrita no 22nd *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, método 5520 (APHA, 2012).

4.6.4 Determinação de carbono orgânico dissolvido

Para a determinação de carbono orgânico dissolvido (COD), as amostras resultantes do processo de degradação foram analisadas a partir do método espectrofotométrico adaptado de APHA (2012), n. 5310 C em equipamento HiPerTOC (Thermo Scientific). A determinação de COD foi feita para as amostras provenientes do reator de degradação, nos tempos 0, 15, 30, 60 e 90 minutos.

4.7 Bioensaio com larvas do mosquito *Aedes aegypti*

As amostras após as degradações foram armazenadas para os bioensaios com larvas do mosquito *Aedes aegypti*. A metodologia para o bioensaios foi baseada na descrição da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1981). Os ovos da linhagem Rockefeller utilizados neste estudo foram providos pelo laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores da Fundação Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro. A eclosão dos ovos foi feita em um béquer de 1L contendo 500 mL de água mineral com a adição de uma porção de comida de peixe. O armazenamento para eclosão dos ovos foi feito em uma estufa incubadora BOD, com fotoperíodo de 16 horas no claro e 8 horas no escuro, mantidos na temperatura de 28°C. Depois da eclosão dos ovos e do crescimento das larvas no terceiro ou quarto instar, aproximadamente 96 horas após a eclosão, os experimentos foram realizados em quadruplicada.

Os testes foram realizados a partir da adição de 25 mL da amostra ou de água proveniente do sistema de filtração por osmose reversa para o branco em um copo de béquer de 50 mL, adicionando-se 20 larvas em cada amostra da quadruplicada. Mantiveram-se as amostras em estufa incubadora BOD por 24 horas, sem fotoperíodo em 23°C. Após 24 horas de incubação, analisou-se a imobilização dos organismos para verificação deste percentual.

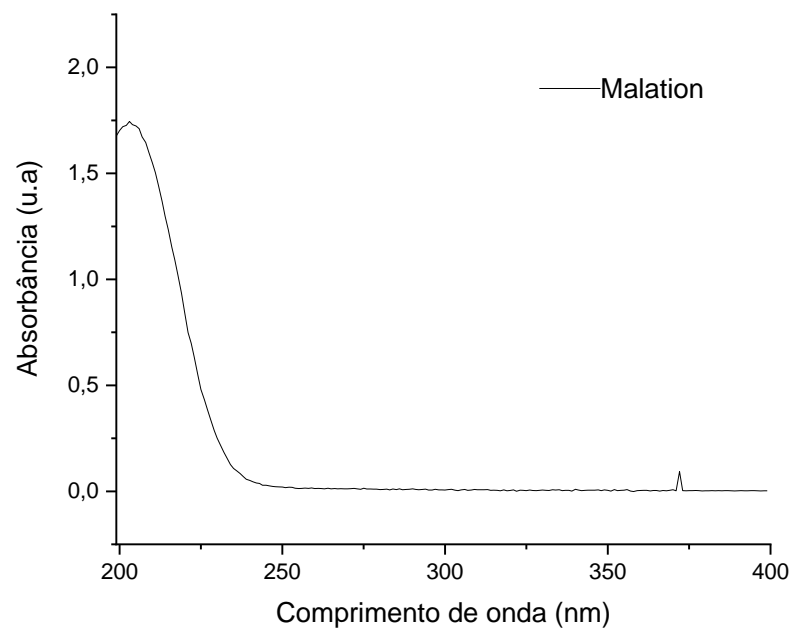
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Cromatografia líquida

5.1.1 Espectro de absorção no UV-Vis

Antes dos ensaios cromatográficos uma amostra de Malation padrão a 10 mg L^{-1} foi analisada em um espectrofotômetro UV-Vis, em equipamento Varian Cary 50 (Figura 8). de forma a facilitar a identificação do composto no detector DAD.

Figura 8: Espectro de absorção do UV-Vis do pesticida Malation.



Fonte: Autoria própria.

Pôde-se verificar no comportamento espectral da absorção no UV-Vis que o Malation tem sua maior banda de absorção em aproximadamente 205 nm. Na

literatura alguns autores adotaram comprimento de onda próximo a este valor para análise do Malation por CLAE-DAD. Kralj et al. (2007) e Wang (2015) utilizaram o comprimento de onda de 202 nm.

5.1.2 Determinação do método cromatográfico

Baseou-se os primeiros testes cromatográficos a partir do estudo de KRALJ et al. (2007), onde foi empregada uma coluna cromatográfica C18 Hypersil ODS, de 150mm x 4,6mm, 5µm, com vazão de 1 mL min⁻¹, volume de injeção 100 µL, método gradiente H₂O:ACN começando com 30% de ACN até 70% de ACN em 30 minutos, e monitoramento em 202 nm, obtendo a separação do Malation com tempo de retenção de 22,6 min. As condições avaliadas neste trabalho são apresentadas na tabela 2.

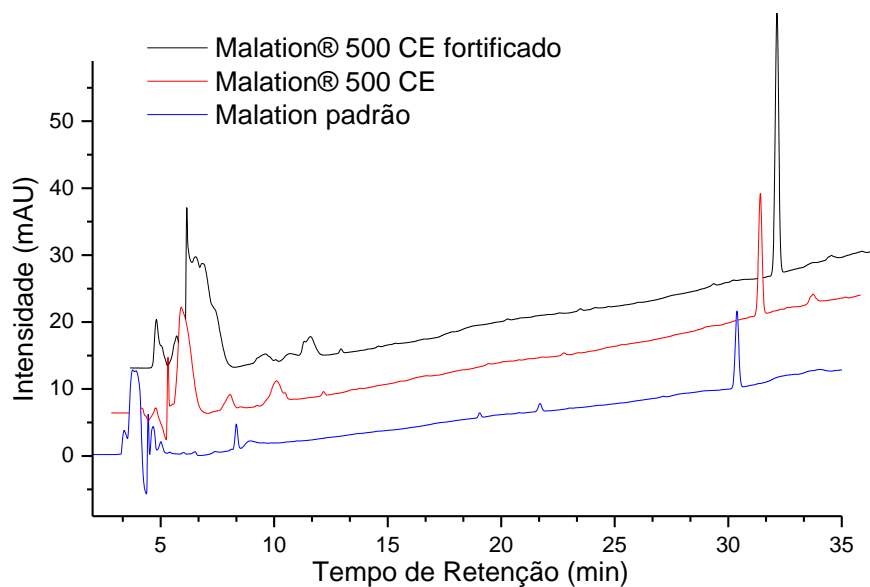
Tabela 2: Condições cromatográficas para detecção e quantificação do Malation.

Coluna cromatográfica	Poroshell 120 EC-C18 (Agilent Technologies)		
	4,6x150 mm, 2,7 µm		
Temperatura da coluna	33 °C		
Fase móvel	Acetonitrila:H ₂ O		
Proporção da fase móvel	30:70 (v:v)		
Tipo de eluição	Gradiente		
	Tempo	Fase móvel A:	Fase móvel B:
	(minutos)	H ₂ O (%)	ACN (%)
	0	70	30
	30	30	70
Volume de injeção	50 µL		
Vazão de fase móvel	0,3 mL min ⁻¹		
Comprimento de onda monitorado	200 nm		
Tempo de retenção	30,130 minutos		
Tempo do método	32 minutos		

Fonte: Autoria própria

Para a identificação do analito na amostra comercial foram realizadas corridas cromatográficas nas mesmas condições para o padrão de Malation, amostra comercial e amostra comercial fortificada (Figura 9).

Figura 9: Cromatogramas do pesticida Malation padrão analítico e Malation® 500 CE, fase móvel H₂O:ACN, volume de injeção 50 µL, vazão 0,3 mL min⁻¹ e monitoramento em 200 nm.



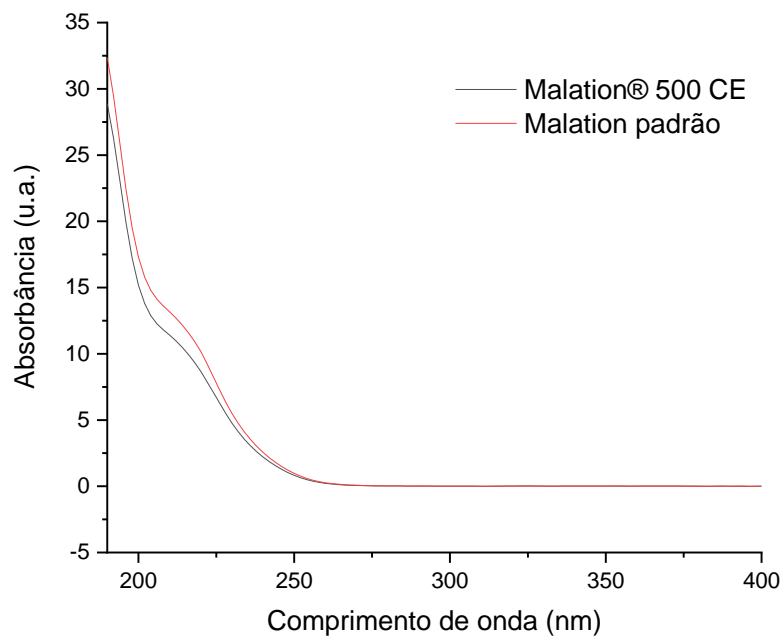
Fonte: Autoria própria.

Notou-se que o tempo de retenção do composto foi de 30,130 minutos para o padrão, com uma leve diferença para o pesticida comercial, que teve seu tempo de retenção em 30,587 minutos. Realizou-se a fortificação do analito padrão cromatográfico na amostra comercial a fim de confirmar a identidade do malation, apresentado na Figura 9.

Á área espectral do pico do malation em 205 nm foi de 164,2 mAU, enquanto em 200 nm foi observada uma área 23% maior, de 202,5 mAU. Diante destes resultados optou-se por trabalhar no comprimento de onda de 200 nm, aonde foi verificado não haver variação da pureza do pico, sendo encontrado em ambos os comprimentos de onda uma pureza de 99,98% para o malation, confirmando a seletividade para o composto de interesse. Portanto, o comprimento de onda de 200 nm foi escolhido para continuidade da pesquisa.

Também foram avaliados espectros UV-Vis do malation no composto comercial e no padrão analítico (Figura 10), observando-se uma pequena diferença em relação ao espectro apresentado na Figura 8.

Figura 10: Espectros de absorção do malation padrão e do Malation® 500 CE.



Fonte: Autoria própria.

Pelo cromatograma obtido, observou-se que o método da corrida cromatográfica poderia ser ajustado para haver a diminuição do seu tempo, no entanto, na intenção de que houvesse uma faixa de tempo na qual pudessem ser detectados possíveis subprodutos formados no processo de degradação não foram feitas alterações no método.

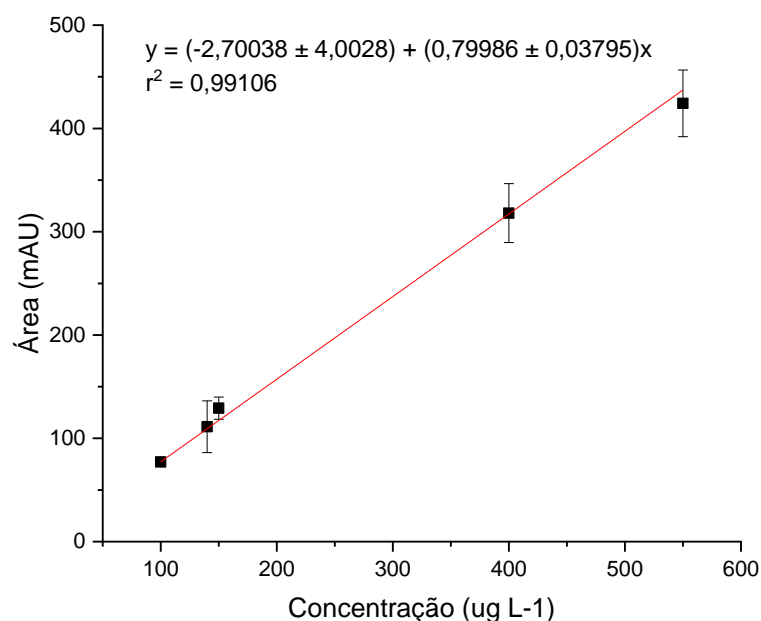
5.1.3 Determinação da curva analítica

Para estabelecimento da curva analítica foi realizada a injeção em triplicata de cada ponto da curva na faixa de 100 a 550 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura 11), com o objetivo de quantificar o pesticida Malation durante o processo de degradação, testar a eficiência do método de extração em fase sólida e para determinar os parâmetros de mérito do método cromatográfico.

A partir dos resultados da curva de calibração, apresentada na Figura 11, determinou-se o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) pelo método baseado na Resolução 166/2017 da Anvisa (ANVISA, 2017). O limite de detecção e o limite de quantificação foram definidos em 16,51 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 50,04 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Em relação ao coeficiente de correlação para a curva foi obtido um r^2 da ordem de 0,9911, superior ao valor recomendado na resolução da Anvisa (ANVISA 2017), permitindo estabelecer a faixa linear de trabalho (F.L.T.) de acordo com as concentrações testadas para construção da curva analítica.

Figura 11: Curva analítica do pesticida malation padrão (100 – 550 $\mu\text{g L}^{-1}$).



Fonte: Autoria própria.

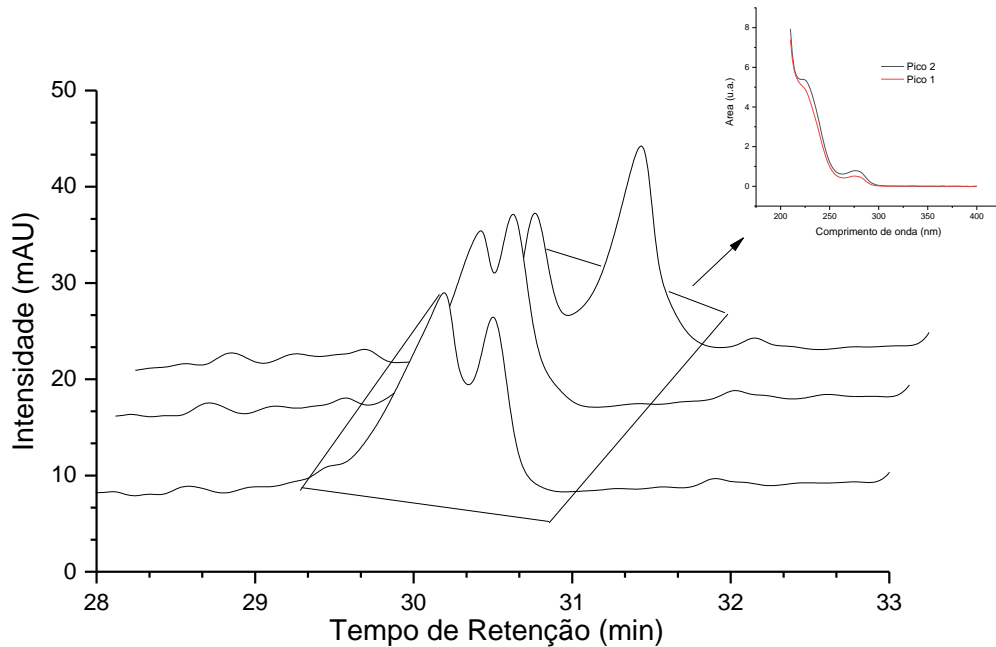
Catalá-Icardo (2014) utilizou fase móvel de acetonitrila e água, com uma coluna cromatográfica Kinetex C18 10 x 4,6 mm, tamanho de partícula 2,6 µm para a detecção de diversos pesticidas por CLAE-DAD. O limite de detecção do método era de 8,0 µg L⁻¹ e o limite de quantificação de 27,0 µg L⁻¹. Coleone et al. (2017) avaliaram o Malation padrão cromatográfico por CLAE-DAD, com fase móvel acetonitrila e água, quantificando o pesticida em matrizes de água e solo. A coluna cromatográfica utilizada foi ACE C18 250 x 4,6 mm e tamanho de partícula 5 µm, com limite de detecção e quantificação de 17,0 µg L⁻¹ e 51,0 µg L⁻¹, respectivamente, de acordo com os valores obtidos nesse trabalho.

5.2 Extração em fase sólida do pesticida padrão

Para a extração em fase sólida foram realizados testes em que a adição do solvente metanol não foi feita, para verificar a necessidade de sua adição e interferência nas análises. Os resultados da extração em fase sólida sem adição de metanol podem ser observados na Figura 12.

Através do cromatograma foi possível notar que sem o metanol o composto sofre uma interferência, e ocorre também um pequena distorção no espectro de absorção que elui no tempo de retenção do malation, sugerindo uma interferência de algum outro composto. A verificação da pureza das bandas de interesse não foi possível, em detrimento da incapacidade do cálculo pelo *software* nesta condição

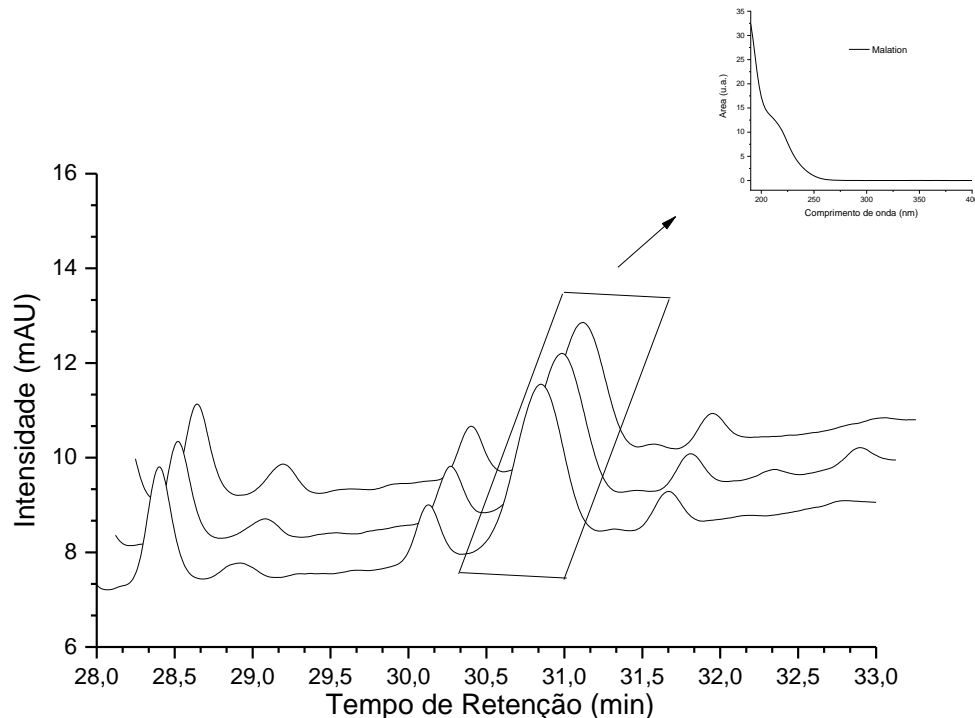
Figura 12: Cromatogramas em triplicata do processo de extração em fase sólida do pesticida malation padrão analítico sem a adição de metanol, concentração inicial 200 ng L⁻¹.



Fonte: Autoria própria.

Em um segundo teste, foi adicionado 1% de metanol em relação ao volume total de amostra que era passada no cartucho de extração em fase sólida (RUIZ-GIL, 2008). A Figura 13 apresenta os resultados dos testes de recuperação da extração com adição do metanol. A solução aquosa foi preparada com malation a 200 ng L⁻¹, sendo passadas pelo cartucho 250 mL de amostras, os quais foram eluídos com 9 mL dos solventes conforme descrito na metodologia, com o ensaio sendo realizado em triplicata.

Figura 13: Cromatogramas em triplicata do processo extração em fase sólida do pesticida malation padrão analítico com adição de 1% de metanol, concentração inicial 200 ng L⁻¹.

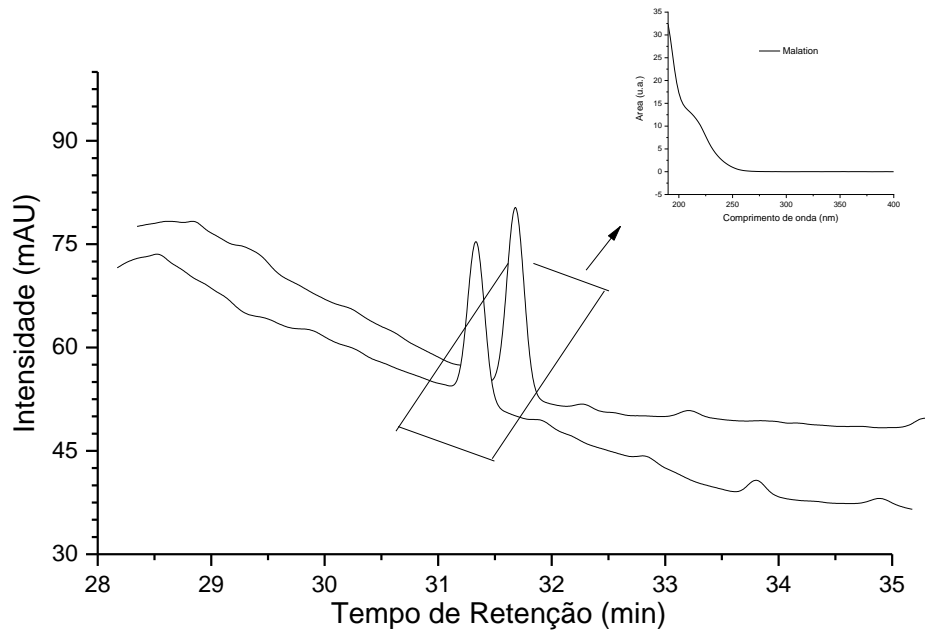


Fonte: Autoria própria.

Os resultados indicaram que a extração em fase sólida teve porcentagem de recuperação de 76%, com coeficiente de variação de 6%.

Um segundo teste de recuperação foi realizado em duplicata utilizando uma concentração inicial de 400 ng L⁻¹, obtendo um porcentual de recuperação de 84%, com coeficiente de variação de 13%, dentro dos limites permitidos pela RDC nº 4/2012 (ANVISA, 2012). Os cromatogramas obtidos da duplicata de extração são apresentados na Figura 14. Os ensaios foram feitos em duplicata devido a quantidade de cartuchos disponível para esta etapa. Em ambos os casos os índices de recuperação foram similares.

Figura 14: Cromatogramas em duplicata do processo extração em fase sólida do pesticida malation padrão analítico com adição de 1% de metanol na amostra, concentração inicial 400 ng L⁻¹.



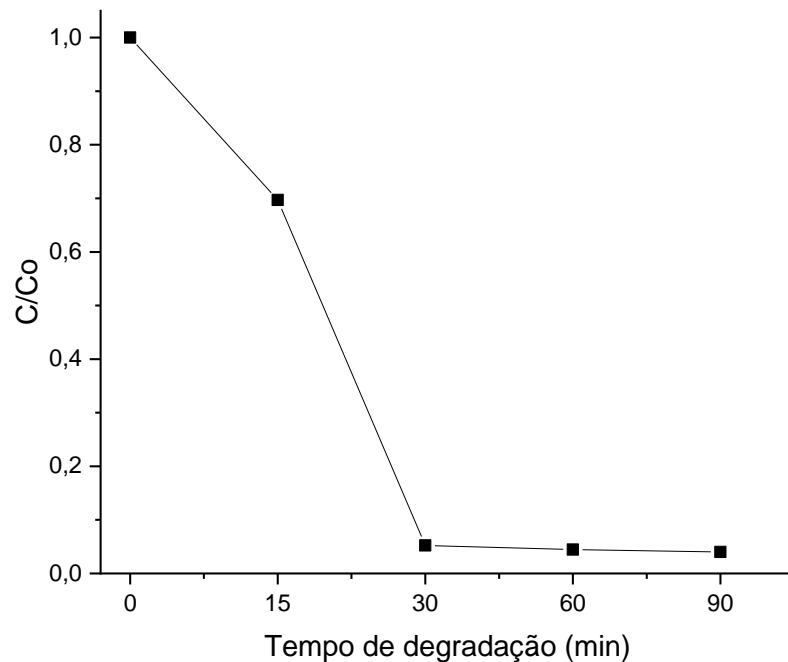
Fonte: Autoria própria.

5.3 Tratamento do Malation® 500 CE por Fotólise UVC e Processo Avançado de Oxidação UV/H₂O₂

5.3.1 Aplicação da fotólise na degradação do pesticida Malation® 500 CE

Considerando a concentração do pesticida comercial descrita no frasco, a concentração inicial nominal das soluções utilizadas na fotólise foram de 500 µg L⁻¹. Os resultados da degradação do Malation por fotólise podem ser vistos na Figura 15.

Figura 15: Concentração de Malation® 500 CE ao longo da aplicação da radiação UVC (C/C_0).

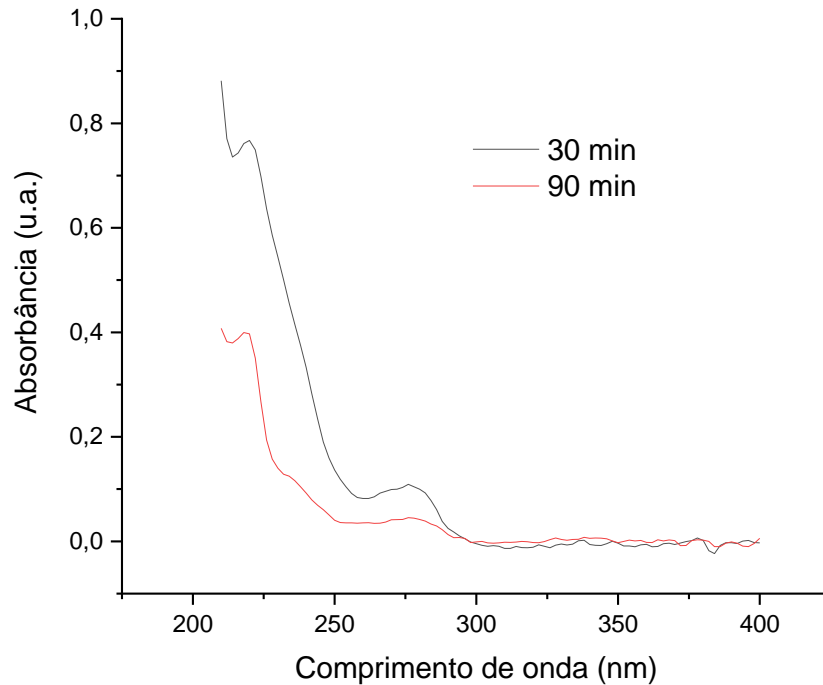


Fonte: Autoria própria.

Os resultados demonstraram que a partir de 30 minutos de reação, devido à alta degradação do pesticida, todas as amostras necessitavam passar pela etapa de pré concentração para detecção do pesticida. A Figura 16 mostra o espectro de absorção de possíveis interferências ou subprodutos das reações de degradação por fotólise nos tempos de 30 e 90 minutos, no mesmo tempo de retenção do pesticida Malation. Como o objetivo do trabalho era detectar a presença do pesticida malation, apenas os subprodutos formados no mesmo tempo de retenção do composto original foram mostrados.

O pH foi acompanhado nas reações, iniciando em um pH 6,0. Ao final das reações de fotólise, o pH medido foi em torno de 4,2.

Figura 16: Espectros de absorção dos picos interferentes observados no mesmo tempo de retenção do malation, nos tempos de degradação de 30 e 90 minutos.



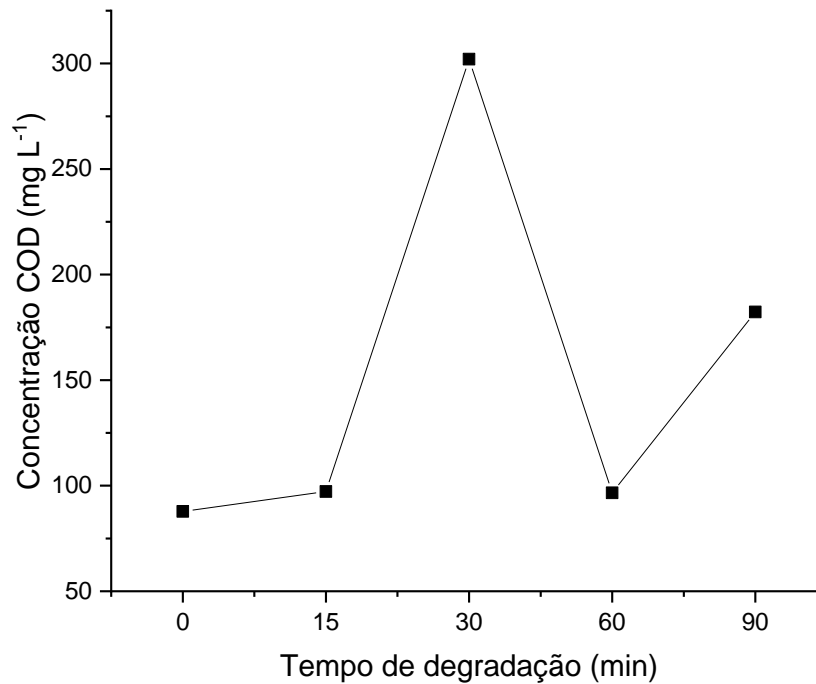
Fonte: Autoria própria.

Observou-se que o decaimento da concentração do Malation já nos primeiros 15 minutos de reação foi de 30%. Em 30 minutos, a degradação do pesticida já atingia mais de 90%. A partir do tempo de 60 minutos, o pesticida Malation já não era mais quantificado estando abaixo do limite de quantificação, mas ainda estava dentro do limite de detecção do método. Em 90 minutos, o pesticida Malation estava abaixo do limite de detecção do método.

Nos tempos de 30 e 90 minutos, foi observado a presença de interferência ou a formação de um novo subproduto, que impediu a detecção a quantificação do pesticida malation.

Em relação ao comportamento do carbono orgânico dissolvido, os resultados podem ser vistos na Figura 17.

Figura 17: Concentração em mg L^{-1} de carbono orgânico dissolvido durante a fotólise do Malation.



Fonte: Autoria própria.

Através do monitoramento do carbono orgânico dissolvido no processo de fotólise, notou-se que para o organofosforado Malation, ocorreu um aumento significativo de carbono orgânico dissolvido, principalmente em 30 minutos. Esse aumento pode ter ocorrido devido a formação de subprodutos intermediários da degradação do malation e dos demais componentes da formulação comercial.

Os resultados obtidos nesse trabalho corroboram com os dados obtidos por Huston et al. (1999), que analisou diversos organofosforados, notando que os mesmos, apesar de obter uma completa mineralização do princípio ativo e apresentarem redução de carbono orgânico dissolvido, podem formar diversos subprodutos intermediários que dariam sinal de carbono orgânico.

5.3.2 Processo UV/H₂O₂

5.3.2.1 Determinação da concentração de H₂O₂ ideal

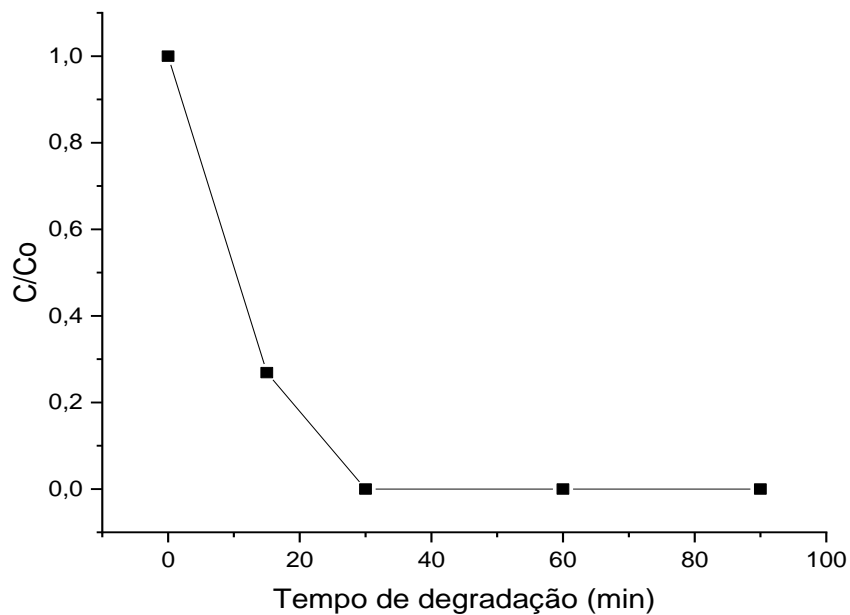
Para que o processo de UV/H₂O₂ seja efetivo e a quantidade de peróxido de hidrogênio não seja adicionada em grande excesso, foi determinada a demanda química de oxigênio, que é relacionada com a concentração de peróxido de hidrogênio inicial necessária.

Machado (2014) indica que para o processo proposto e pH neutro a proporção inicial ideal é 1:1 (DQO:[H₂O₂]). Baseado no resultado da DQO da solução de Malation® 500 CE que apresentou concentração de 75 mg O₂ L⁻¹, a concentração de peróxido de hidrogênio ideal foi fixada em 100 mg L⁻¹.

5.3.2.2 Aplicação do processo UV/H₂O₂ na degradação do pesticida Malation® 500 CE

Os resultados da concentração do Malation® 500 CE antes e após o tratamento pelo processo avançado de oxidação podem ser vistos na Figura 18, onde estão expostos os valores de C/C₀ para a concentração do pesticida.

Figura 18: Concentração de Malation ao longo da degradação por processo UV/H₂O₂ (C/C₀).

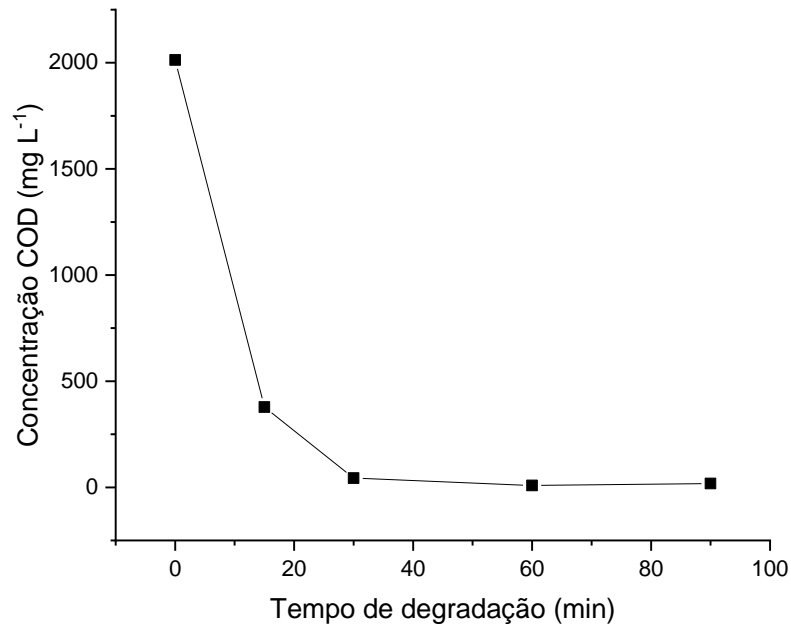


Fonte: Autoria própria.

Constatou-se que no tempo de 15 minutos de tratamento pelo processo UV/H₂O₂ mais de 70% do pesticida já tinha sido degradado e a partir de 30 minutos de reação, o pesticida já não era mais observado no sistema, estando abaixo do limite de detecção do método. O pH inicial da degradação era neutro, em torno de 6,0, enquanto no final das reações se observou decaimento no pH para aproximadamente 3,0, em função da formação de ácidos carboxílicos no sistema.

Os resultados do comportamento do carbono orgânico dissolvido no processo UV/H₂O₂ em questão pode ser observado na Figura 19.

Figura 19: Concentração em mg L^{-1} de carbono orgânico dissolvido durante o processo UV/ H_2O_2 do Malation.



Fonte: Autoria própria.

Os resultados de carbono orgânico dissolvido para o processo UV/ H_2O_2 demonstraram que foi atingido 81% de remoção em 15 minutos, alcançando 97% em 30 minutos, o que é coerente com os resultados obtidos para o composto Malation na análise cromatográfica. O pH final da reação foi levemente ácido, facilitando a remoção de carbono orgânico. Esses resultados podem indicar que o pesticida foi mineralizado. Alaton et al. (2001) estudaram a influência de diferentes parâmetros no processo UV/ H_2O_2 , entre elas o pH e a relação à remoção de COT, indicando que em pH levemente ácidos, a remoção de carbono orgânico é favorecida.

Em relação a concentração de H_2O_2 , o consumo de H_2O_2 em 10 minutos atingiu cerca de 70% e devido a presença de pesticida Malation, foram necessárias reinjeções, de forma a repor a concentração inicial de peróxido de hidrogênio.

Em comparação ao processo de fotólise, o processo UV/ H_2O_2 mostra-se mais efetivo e os valores de degradação são atingidos mais rapidamente, devido

ao coeficiente de absorção do peróxido de hidrogênio de $36,8 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em radiação UVC, que facilita a quebra da molécula em radicais hidroxila, favorecendo o processo (LIMA, 2017).

5.4 Bioensaio com larvas do mosquito *Aedes aegypti*

Os ensaios realizados em quadruplicada, utilizando-se 20 larvas em cada replicata a partir do estágio da larva entre o terceiro e quarto instar pode ser observados na Tabela 3 tanto para a fotólise quanto para o processo UV/H₂O₂.

Tabela 3: Imobilidade média (%) de larvas de *A. aegypti* pós fotólise e processo UV/H₂O₂.

Replicata (n=20)	Controle negativo	Fotólise				
		0 min	15 min	30 min	60 min	90 min
1	0	20	1	1	1	3
2	0	20	1	0	1	4
3	0	20	0	0	1	0
4	0	20	0	0	0	0
Média da replicata	0	20	0,5	0,25	0,75	1,75
% imobilização	0	100	2,5	1,25	3,75	8,75
Replicata (n=20)	Controle negativo	UV/H ₂ O ₂				
		0 min	15 min	30 min	60 min	90 min
1	0	20	0	1	1	12
2	0	20	0	1	0	10
3	0	20	0	0	0	14
4	0	20	0	0	0	0
Média da replicata	0	20	0	0,5	0,25	9
% imobilização	0	100	0	2,5	1,25	45

Fonte: Autoria própria.

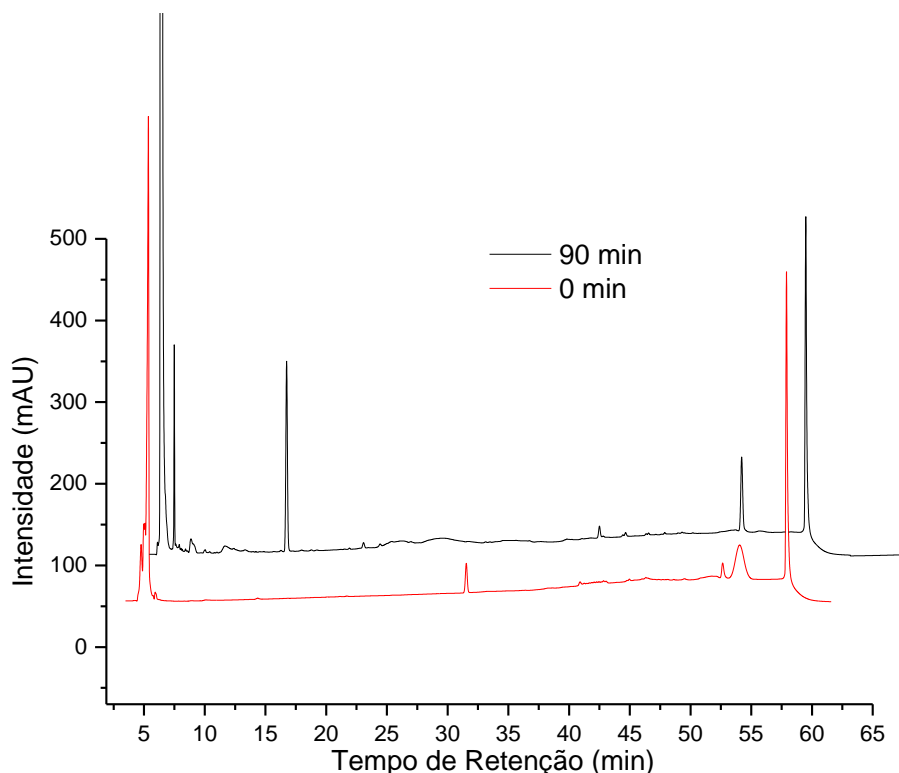
Os resultados obtidos com este bioensaios demonstram que no tempo inicial de degradação dos dois processos, as larvas tiveram 100% de imobilização,

por conta da concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ do Malation® 500 CE , o que corrobora com o determinado por Adams et al. (2018), que determinaram a CE_{50} para o mesmo produto comercial de Malation utilizado neste estudo, tendo sido observada CE_{50} obtido para as larvas *Aedes aegypti* de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$. Portanto, em comparação, a concentração inicial mostrou um alto efeito de imobilização larvicida.

Decorrida a fotólise, não foi observado efeito significativo nas larvas, ou seja, observou-se todos os valores de imobilização abaixo de 10%. Portanto, apesar dos resultados apresentados de carbono orgânico e a não mineralização do pesticida, associados eles não mostraram efeito para estes organismos.

Para o processo UV/ H_2O_2 , em 90 minutos foi observado a imobilização de 45% das larvas. Esse resultado fortalece a hipótese já formulada, que durante a degradação possa ter ocorrido a formação de subprodutos tóxicos para os organismos, já que em 90 minutos o pesticida não era mais detectado nesse processo. Na figura 20, é mostrado o cromatograma de 90 minutos do processo UV/ H_2O_2 em comparação com o cromatograma do malation® 500 CE sem tratamento, de forma a observar a formação de subprodutos durante o processo.

Figura 20: Cromatogramas do processo UV/ H_2O_2 nos tempos de reação de 0 e 90 minutos.



Fonte: Autoria própria.

6 CONCLUSÃO

A metodologia aplicada para a detecção do pesticida Malation por cromatografia líquida mostrou-se eficiente, apresentando-se valores baixos para os limites de detecção (16,51 ng L⁻¹) e limite de quantificação (50,04 ng L⁻¹), considerando o processo de extração. Neste sentido, a extração em fase sólida mostra-se importante para os processos avançados de oxidação, de forma a pré concentrar as amostras para determinar os teores dos compostos de interesse no meio.

A concentração do pesticida no meio atingiu níveis de remoção acima de 95% nos dois processos estudados, mostrando que ambos os processos podem ser escolhidos para tal função. Além disso, a adição de peróxido de hidrogênio acarreta um maior custo operacional durante o processo. O carbono orgânico dissolvido apresentou remoção acima de 99% para o processo UV/H₂O₂, diferente da fotólise que não foi observada redução.

Os bioensaios realizados com larvas do mosquito *Aedes aegypti* tiveram grande importância, de forma a constatar que o processo UV/H₂O₂ apesar de ser mais rápido para a remoção do composto de interesse, pode formar subprodutos mais tóxicos que o original, mesmo o composto de interesse ter sido degradado quase completamente.

Considerando apenas os bioensaios, o processo mais indicado para tratamento seria a fotólise. Porém, em comparação a outros fatores, como o carbono orgânico dissolvido e a diminuição da concentração inicial do pesticida, o mais indicado seria o processo UV/H₂O₂.

7 RECOMENDAÇÕES FUTURAS

Acompanhamento da degradação por fotólise e processo UV/H₂O₂ do pesticida padrão, para comparação dos resultados.

Bioensaios dos tempos estendidos de degradação do Malation antes, durante e depois dos processos, tanto do padrão quanto do comercial.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-TEJADA, G. M.; MEDINA-PERALTA, S.; MOGUEL-ORDONEZ, Y.; MUNOZ-RODRIGUEZ, D. Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus pesticides from propolis extracts and recovery evaluation by GC/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400, p. 885 – 891, 2011

ADAMS, E.; PAULA, V. C. S.; CARNEIRO, R. D.; LIMA, R; M; GOMES, M. F.; RAMSDORF, W. A.; FREITAS, A; M. Ecotoxicity of Malathion® 500 CE before and after UVC radiation and UV/H₂O₂ treatment. *Eclética Química Journal*, v. 43, n. 2, 2018.

ADAPAR. Malathion 500 CE Cheminova. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/MALATHION_500_EC_CHEMINOVA.pdf> Acessado em Junho, 2019.

ALATON, I. A.; BALCIOGLUM I. A.; BAHNEMANN, D. W. Advanced oxidation of a reactive dye bath effluent: comparison of O₃, H₂O₂/UV-C and TiO₂/UV-A process. *Water Research*, v. 36, p. 1143 – 1154, 2002.

ANA, 2019. Agência Nacional de Águas. Água superficial. Disponível em: <<http://www3.ana.gov.br/portal/ANA/panorama-das-aguas/quantidade-da-agua/agua-superficial>> Acessado em Maio 2019.

ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, 53, p. 51–59, 1999.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Agrotóxicos e Toxicologia – Monografia de Agrotóxicos. Disponível em: <<portal.anvisa.gov.br>> Acessado em maio de 2018.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 4, de 18 de janeiro de 2012. Dispõe sobre os critérios para a realização de estudos de resíduos de agrotóxicos para fins de registro de agrotóxicos no Brasil.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.

APHA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22th ed., 2012.

ARRUDA, T. L. Uso de processos avançados de oxidação e ferro elementar na remediação de água subterrânea contendo compostos organoclorados. Dissertação de mestrado – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2005.

BRASIL, 2005. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 15 de junho de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

BRASIL, 2011. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências, complementa e altera a Resolução nº 357/2005.

BRASIL, 2017. Ministério da Saúde. Portaria de consolidação nº5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde.

CABELLO, G.; VALENZUELA-ESTRADA, M.; SIQUES, P.; BRITO, J.; PARRA, E.; VALDIVIA, U.; LAVIN, C.; MANRÍQUEZ, A.; ORTEGA, A. Relation of breast cancer and Malation aerial spraying in Arica, Chile. *International Journal of Morphology*, 31 (2). p. 640 - 645, 2013.

CATALÁ-ICARDO, M.; LAHUERTA-ZAMORA, L.; TORRES-CARTAS, S.; MESEGUER-LLORET, S. Determination of organothiophosphorus pesticides in water by liquid chromatography and post-column chemiluminescence with cerium (V). *Journal of Chromatography A*, v. 1341, p. 31- 40, 2014.

COLEONE, A. C.; SOARES DA SILVA, F.; MACHADO, A. A.; MACHADO NETO, J. G.; PAGANINI, W. S. Validação do método analítico e de extração do Malation em água e solo após nebulização de combate ao *Aedes aegypti*. *Revista Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 12, n. 3, p. 426-434, 2017.

CULLINEY, T. W.; PIMENTEL, D.; PIMENTEL, M. H. Pesticides and natural toxicants in foods. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 41, p. 297-320, 1992.

DIVE. Diretoria de Vigilância Epidemiológica DIVE/SUV/SES/SC. Orientação técnica: orientações para o uso do Malathion Emulsão Aquosa – EA 44% para controle do *Aedes aegypti* em aplicações espaciais a Ultra Baixo Volume (UBV), 2016.

DRUGBANK DATABASE. Identification Malathion. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00772>>. Acesso em: 2019.

DUAVI, W. C.; GAMA, A. F.; MORAIS, P. C. V.; OLIVEIRA, A. H. B.; NASCIMENTO, R. F.; CAVALCANTE, R. M. Contaminação de ambientes aquáticos por “agrotóxicos urbanos”: o caso dos rios Cocó e Ceará, Fortaleza – Ceará, Brasil. *Química Nova*, vol. XY, n. 00, p. 1 – 8, 2015.

EPA – Environmental Protection Agency. About pesticides. Disponível em: epa.gov/pesticides/about/index.htm. Acessado em Maio de 2018.

ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J.; CONTRERAS, S.; PASCUAL, E.; RODRÍGUEZ, M. Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation. *Water Research*, 36, p. 1034–1042, 2002.

FADAEI AM; DEHGHANI, MH; MAHEVI, AH; NASSERI, S.; RASTKARI, N.; SHAYEGHI, M. Degradation of organophosphorus pesticides in water during UV/H₂O₂ treatment: role of sulphate and bicarbonate ions. *E-Journal of Chemistry*, 9 (4), p. 2015-2022, 2012.

FADAEI, A.; KARGAR, M. Removal of Malation from various waters by advanced oxidation processes. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 37, n. 1, p. 39-45, 2015.

FEMIA, J.; MARIANI, M.; ZALAZAR, C.; TISCORNIA, I. Photodegradation of chlorpyrifos in water by UV/H₂O₂ treatment: toxicity evaluation. *Water Science & Technology*. 68, p. 2279-2286, 2013.

FERNÁNDEZ, D. M.; BASTIDAS, D. M.; ACOSTA, L. E. F. Malation vs. *Aedes aegypti* de diferentes regiones de Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 52, p. 46-55, 2013.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. *Ambiente e sociedade*, 12, n.2 p. 111-125, 2004.

FLORES-GARCÍA, M. E.; MOLINA-MORALES, Y.; BALZA-QUINTERO, A.; BENÍTEZ-DÍAZ, P. R.; MIRANDA-CONTRERAS, L. Resíduos de plagicidas en aguas para consumo humano en una comunidad agrícola del estado Mérida, Venezuela. *Investigacion Clinica*, 52 (4), p. 295 – 311, 2011.

FRANCIS, S.; RODRIGUEZ, K. S.; PERERA, R.; PAINE, M.; BLACK, W. C. B.; DELGODA, R. Insecticide resistance to permethrin and malathion and associated mechanisms in *Aedes aegypti* mosquitoes from St. Andrew Jamaica. *Plos One*, 12 (8), 2017.

G1-DF. Notícia: Fumacê é considerado medida de baixa eficácia contra dengue, diz especialista. Disponível em: <<https://g1.globo.com/df/distrito-federal/noticia/2019/06/17/fumace-e-considerado-medida-de-baixa-eficacia-contra-dengue-diz-especialista.ghtml>>. Acesso em: junho, 2019.

G1-DF. Notícia: DF registra 24 mil casos de dengue e número de mortes sobe para 26. Disponível em: <<https://g1.globo.com/df/distrito-federal/noticia/2019/06/11/df-registra-24-mil-casos-de-dengue-e-numero-de-mortes-sobe-para-26.ghtml>> Acesso em: junho, 2019.

GRIZA, F. T.; ORTIZ, K. S.; GEREMIAS, D.; THIESEN, F. V. Avaliação da contaminação por organofosforados em águas superficiais no município de Rondinha – Rio Grande do Sul. *Química Nova*, 31, n. 7, p. 1631-1635, 2008.

GUYTON, K. Z.; LOOMIS, D.; GROSSE, Y.; GHISSASSI, F. E.; BENBRAHIM-TALLA, L.; GUHA, N.; SCOCCIANI, C.; MATTOCK, H.; STRAIF, K. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazion and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16 (5), p. 490-491, 2015.

GOBO, A. B.; KURZ, M. H. S.; PIZZUTTI, I. R.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Development and validation of methodology for the determination of residues of organophosphorus pesticides in tomatoes. *Journal of the Brazilian chemical society*, 15, n. 6, p. 945-950, 2004.

HOSHINO, A. C. H.; PACHECO-FERREIRA, H.; TAGUCHI, C. K.; TOMITA, S.; MIRANDA, M. F. A auto-percepção da saúde auditiva e vestibular de trabalhadores expostos a organofosforados. *Revista Cefac*, 11, n. 4, p. 681-687, 2009.

HUSTON, P.; PIGNATELLO, J. J. Degradation of selected pesticide active ingredients and commercial formulations in water by the photo-assisted fenton reaction. *Water Research*, v. 33, n. 5, p. 1238 – 1246, 1999.

IKEHATA, K.; EL-DIN, M. G. Aqueous pesticide degradation by hydrogen peroxide/ultravioleta irradiation and Fenton-type advanced oxidation processes: a review. *Environmental Engineering Science*, 5, p. 81-135, 2006.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Recomendação técnica sobre a interrupção do uso de inseticidas piretróides no controle de *Aedes aegypti* no Brasil. Nota técnica nº 2/2011/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA, Rio de Janeiro, 2011.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ. Considerações técnicas sobre a aplicação aérea de inseticidas em área urbana. Nota técnica nº 4/2016/IOC-FIOCRUZ/DIRETORIA, Rio de Janeiro, 2016.

KRALJ, M. B.; CERNIGOJ, U.; FRANKO, M.; TEBSE, P. Comparison of photocatalysis and photolysis of Malation, isomalahtion, malaaxon and commercial Malation – Products and toxicity studies. *Water Research*, 41, p. 4504-4514, 2007.

KRALJ, M. B.; TEBSE, P.; FRANKO, M. Applications of bioanalytical techniques in evaluating advanced oxidation processes in pesticide degradation. *Trends in Analytical Chemistry*, 26, n. 11, 2007.

LEME, T. S.; PAPINI, S.; VIEIRA, E.; LUCHINI, L. C. Avaliação da vestimenta utilizada como equipamento de proteção individual pelos aplicadores de Malationa no controle da dengue em São Paulo, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 30 (3), p. 567-576, 2014.

LIMA, J. B. P.; DA-CUNHA, M. P.; SILVA JÚNIOR, R. C.; GALARDO, A. K. R.; SILVA SOARES, S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities state of Rio de Janeiro and Espírito Santos, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68 (3), p. 329-333, 2003.

LIN, L.; XIE, M.; LIANG, Y.; HE, Y.; CHAN, G. Y. S.; LUAN, T. Degradation of cypermethrin, Malation and dichlorovos in water and on tea leaves with O₃/UV/TiO₂ treatment. *Food Control*, 28, p. 374-379, 2012.

LINHARES, A. G. Efeito de pesticidas organofosforados e carbamatos sobre a acetilcolinesterase eritrocitária humana e seu potencial uso como biomarcador da exposição ocupacional. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

LIMA, J. B. P.; CUNHA, M. P.; JÚNIOR, R. C. S.; GALARDO, A. K. R.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68 (3), p. 329 – 333, 2003.

LIMA, R. M. Avaliação da radiação UVC, processos UV/H₂O₂ e foto-fenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade. 94f. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia Ambiental) –Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

LIU, C.; YANG, B.; GAN, J.; ZHANG, Y.; LIANG, M.; SHU, X.; SHU, J. Heterogeneous reactions of suspended parathion, Malation, and fenthion particles with NO₃ radicals. *Chemosphere*, 87, p. 470-476, 2012.

LOURES, C. C. A.; ALCANTARA, M. A. K.; FILHO, H. J. I.; TEIXEIRA, A. C. S. S.; SILVA, F. T.; PAIVA, T. C. B.; SAMANAMUD, G. R. L. Advanced oxidative degradation processes: fundamentals and applications. *Internacional Review of Chemical Engineering*, v. 5, n. 2, 2013.

MACHADO, G. C. X. M. P. Tratamento de efluente de serviço de saúde por processos avançados de oxidação. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica e Escola de Química, Programa de Engenharia Ambiental, Rio de Janeiro, 2014.

MALATO, S.; FÉRNANDEZ-IBÁÑEZ, P.; MALDONADO, M. I.; BLANCO, J.; GERNJAK, W. Wastewater treatment using hybrid treatment schemes based on cavitation and Fenton chemistry: A review. *Catalysis Today*, 147, p. 1-59, 2009.

MANASSERO, A.; PASSALIA, C.; NEGRO, A. C.; CASSANO, A. E.; ZALAZAR, C. S. Glyphosate degradation in water employing the H₂O₂/UVC process. *Water Research*, 44, p. 3875-3882, 2010.

MARCORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKAKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V. C.; CIRINO, V. CB. Alteração de resposta de suscetibilidade em *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 33, n. 5, p. 521-522, 1999.

MOREIRA, J. C.; PERES, F.; SIMÕES, A. C.; PIGNATI, W. A.; DORES, E. C.; VIEIRA, S. N.; STRUSSMANN, C.; MOTT, T. Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. *Ciência e Saúde Coletiva*, v. 17(6), p. 1557 – 1568, 2012.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268, p. 157-177, 2013.

MUTURI, E. J. Larval rearing temperature influences the effect of Malation on *Aedes aegypti* life history and immune responses. *Chemosphere*, 92, p. 1111-1116, 2013.

OLIVEIRA, A. G. Remoção do agrotóxico organofosforado clorpirifós usando processo oxidativo avançado. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, 2011.

OLIVEIRA, M. C.; NOGUEIRA, R. F. P.; GOMES-NETO, J. A.; JARDIM, W. F.; ROHWEDDER, J. J. R. Sistema de Injeção em fluxo espectrofotométrico para monitorar peróxido de hidrogênio em processo de fotodegradação por reação foto-Fenton. *Química Nova*, 24, p. 188-190, 2001.

OLIVEIRA, A. G.; RIBEIRO, J. P.; OLIVEIRA, J. T.; KEUKELEIRE, D. D.; DUARTE, M. S.; NASCIMENTO, R. F. Degradation of the pesticide chlorpyrifos in aqueous solutions with UV/H₂O₂: Optimization and effect of interfering anions. *Journal of Advanced Oxidation Technologies*, 17, n.1, p. 133-18, 2014.

PIETRO-RODRÍGUEZ, L.; SPASIANO, D.; OLLER, I.; FERNÁNDEZ-CALDERERO, I.; AGUERA, A.; MALATO, S. Solar photo-fenton optimization for the treatment of MWTP effluents containing emerging contaminants. *Catalysis Today*, v. 209, p. 188 – 194, 2013.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Análise de resíduos de agrotóxicos em tomates empregando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa. *Química Nova*, 32, n. 1, p. 92-98, 2009.

PIOVEZAN, R.; ACORINTHE, J. P. O.; VISOCKAS, A.; AZEVEDO, T. S.; ZUBEN, C. J. V. Effect of heavy-equipment aided environmental nebulization of *Aedes aegypti* vectors of Dengue, Zika and Chikungunya in São Paulo, Brazil. *Bulletin of Entomological Research*, v. 107, p. 478 – 486, 2016.

PUBCHEM. U.S National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Compound Summary Malathion. Disponível em:
< <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4004> > Acesso em: 2018.

REDDY, P. V. L.; KIM, K. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides. *Journal of Hazardous Materials*, 285, p. 325-335, 2015.

RIBEIRO, M. L.; LOURENCETTI, C.; PEREIRA, S. Y.; MARCHI, M. R. R. Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. *Química Nova*, 30, n. 3, p. 688-694, 2007.

RODRIGUES, A. S.; ARAÚJO, E. S.; CICCOTTI, L.; SOUZA, L. G. B.; GRILLO, R.; LEITE, S. F. H. *Poluentes e Fontes: Orgânicos*, 2007.

RUIZ-GIL, L.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Determination of pesticides in water samples by solid-phase extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, v. 31, p. 151-161, 2008.

SANCHES, S. M.; PAULA DA SILVA, C. H. T.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, 13, p. 53-58, 2003

SCHICK, R.; STRASSER, I.; HANS-HENNING, S. Fluorometric determination of low concentrations of H₂O₂ in water: comparison with two other methods and application to environmental samples and drinking-water treatment. *Water Research*, 31, p. 1371-1378, 1997.

SILVA, M. P. Determinação de pesticidas organofosforados através do método enzimático. Tese de doutorado – Universidade Estadual de Campinas, 2011.

SILVA, T. L.; LIMA, A. L.; SOUSA, M. S. M.; JESUS-BARROS, C. R.; BARIANI, A.; PEREIRA, J. F.; ADAIME, R. Potential of amazonian of *Metarhizium* to control immatures of *Bactrocera carambolae*. *Florida Entomological Society*, 99, n. 4, 2016.

SOARES, A. F. S.; LEÃO, M. M. D.; FARIA, V. H. F.; COSTA, M. C. M.; MOURA, A. C. M.; RAMOS, V. D. V.; VIANNA NETO, M. R.; COSTA, E. P. Occurrence of pesticides from coffee crops in surface water. *Revista Ambiental e Água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 8, n.1, 2013.

SVS-GO. Superintendência de Vigilância Sanitária do Governo de Goiás. Informe técnico 02/2014 CVCAV/GVSAST/SUVISA/SES-GO: Parâmetros técnico-operacionais do novo agrotóxico do programa nacional do controle da dengue: malathion EW 44%.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. Processos avançados de oxidação: conceitos teóricos. *Caderno Temático*, 3, 2004.

THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION (EC). Council Directive 98/83/EC de 3 de novembro de 1998, dispõe sobre a qualidade da água destilada ao consumo humano. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/1998/83/oj>> Acesso em 28 de janeiro de 2019.

TONY, A. M.; EL-GEUNDI, M. S.; HUSSEIN, S. M.; ABDELWAHAB, M. Z. Degradation of malathion in aqueous solutions using advanced oxidation process and chemical oxidation. Direct Research Journal of Agriculture and Food Science, v. 5, p. 174 – 185, 2017.

UTZIG, L. Avaliação da fitotoxicidade, ecotoxicidade e genotoxicidade de clorpirifós após tratamento por radiação UVC e processo UV/H₂O₂. 2016. 129f. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia Ambiental) –Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

VALENTE, N. LP.; TARELHO, S.; CASTRO, A. L.; SILVESTRE, A.; TEIXEIRA, H. M. Analysis of organophosphorus pesticides in whole blood by GC-MS- μ ECD with forensic purposes. Journal of Forensic and Legal Medicine, p. 28 - 34, 2015.

ZANATTA, J. F.; MANFREDI-COIMBRA, S.; PROCÓPIO, S. O.; MANICA-BERTO, R.; SGANZERLA, D. C.; CARNEIRO, J. C. Interações entre herbicidas e inseticidas na cultura do algodão – uma revisão. Revista da FZVA, 14, n. 2, p. 34-45, 2007.

ZHANG, Y.; PAGILLA, K. Treatment of Malation pesticide wastewater with nanofiltration and photo-Fenton oxidation. Desalination, 263, p. 36-44, 2010.

ZHANG, Y.; XIAO, Z.; CHEN, F.; GE, Y.; WU, J.; HU, X. Degradation behavior and products of Malation and chlorpyrifos spiked in apple juice by ultrasonic treatment. Ultrasonics Sonochemistry, 17, p. 72-77, 2010.

WANG, Y.; CHEN, C.; CHAO, X.; LI, J. Determination of agrochemical residues in aquatic vegetables by solid-phase extraction combined with HPLC spectrometry analyses. Research on Chemical Intermediates, v. 41, p. 2841 – 2853, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Instructions for Determining the Susceptibility or Resistance on Mosquito Larvae to Insecticides, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of the fifteenth WHOPES working group meeting, 2012.