

DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS NA ÁGUA E SEDIMENTOS POR HPLC-HRMS E SUA RELAÇÃO COM O USO E OCUPAÇÃO DO SOLO**Marilda Chiarello,^a Roberta Neimaier Graeff,^b Luciane Minetto,^a Gisele Cemin,^b Vania E. Schneider^b e Sidnei Moura^{a,*}**^aLaboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, 95070-560 Caxias do Sul – RS, Brasil^bInstituto de Saneamento Ambiental, Universidade de Caxias do Sul, 95070-560 Caxias do Sul – RS, Brasil

Recebido em 30/06/2016; aceito em 14/09/2016; publicado na web em 20/10/2016

DETERMINATION OF PESTICIDES IN WATER AND SEDIMENT BY HPLC-HRMS AND ITS RELATIONSHIP WITH THE USE AND LAND OCCUPATION. In present times, the Brazil is in the middle of the largest pesticide consumers worldwide, which demands proper control of environmental contamination. This study evaluated herbicides, acaricide, insecticides and fungicides in water and sediment carried-out from Lageado Tacongava hydrographic basin, Rio Grande do Sul, Brazil. For analysis, a QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), and/or SPE (Solid-Phase Extraction) using HPLC (High Performance Liquid Chromatography) with MS (Mass Detector) was optimized. As result, the Linearity $R^2 > 0.99$; Recuperation between 78 a 117%; and RSD $< 20\%$ for the 70 compounds simultaneously analyzed. The Acetamiprid, Azoxystrobin, Bendiocarb, Fenamidone, metribuzin, Pendimethalin, pyridaben, Thiophanate-methyl and Triflumizole found in water, and Acetamiprid, Azoxystrobin, Bendiocarb, boscalid and thiophanate-methyl in sediment, at concentrations from 0.1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ to 39.6 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Standard of pesticide residues in water and sediment studies are needed to evaluate such contamination. Regional samplings standard, as was done here, will be useful in a future water resources contamination mapping.

Keywords: pesticides; QuEChERS; HPLC-HRMS; sediment; water resources.

INTRODUÇÃO

A produção agrícola brasileira tem tido grande destaque em um contexto mundial.¹ O crescimento da produção é acompanhado pelo incremento da utilização de agrotóxicos, sem um controle mais efetivo do seu consumo. Isto pode implicar em um aumento dos impactos sobre os ecossistemas aquáticos e a biota do solo.¹

O Brasil é o quinto maior país em área territorial (equivalente a 47% do território sul-americano). A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) o considera essencialmente agrícola, apresentando área cultivada de aproximadamente 75 milhões de hectares.² Por sua grande extensão territorial, diferentes produtos são cultivados no país, de acordo com o clima. No Rio Grande do Sul, uma das culturas mais exploradas é a dos grãos. Estima-se que a área plantada prevista com grãos na safra de verão 2015/2016 no estado tenha ficado estável, podendo atingir 7,352 milhões de hectares, com avanço de apenas 0,74% ante 2014/15.³

O país é um dos maiores consumidores de pesticidas, com uma forte expansão nos últimos 40 anos, um aumento de 700%. Nos últimos 5 anos, uma média de 300 mil toneladas de agrotóxicos foram comercializadas. O estado do Rio Grande do Sul possui um destaque neste consumo estando na 4^a posição (12% do total) em 2015.⁴

A aplicação incorreta e excessiva de pesticidas pode causar desequilíbrios ambientais com efeitos agudos e crônicos nos organismos vivos.⁵ A magnitude dos efeitos depende da toxicidade da substância, da dose, do tipo de contato e do organismo.⁶ Alguns destes compostos são reconhecidamente persistentes, permanecendo no ambiente por muito tempo sem sofrer alteração.⁷ Assim, os dados referentes à qualidade da água nos rios brasileiros podem ser considerados críticos.

O ministério da saúde definiu por meio do decreto 4.074 de 04 de janeiro de 2002, no seu artigo 6, inciso I, a classificação de acordo com as classes toxicológicas: Classe I (Extremamente tóxico,

faixa vermelha, produtos altamente perigosos ao meio ambiente, como a maioria dos organoclorados); Classe II (Altamente tóxico, faixa amarela, produtos muito perigosos ao meio ambiente, como o malation); Classe III (moderadamente tóxico, faixa azul, produtos perigosos ao meio ambiente, como o carbaril e o glifosato); e Classe IV (Pouco tóxico, faixa verde, produtos pouco perigosos ao meio ambiente, como os derivados de óleos minerais), desta forma, essas classificações servem de auxílio para os usuários.⁸

A utilização de pesticidas é a segunda maior causa de contaminação dos rios no Brasil, perdendo apenas para o esgoto doméstico, segundo dados do IBGE.⁹ A distribuição dos pesticidas no meio ambiente se dá principalmente por intermédio dos corpos d'água superficiais ou subterrâneos, seja na fase líquida, dissolvidos em água, ou por meio do carreamento de partículas de solo. Alguns pesticidas podem estar presentes no ar, trazendo riscos a saúde humana.¹⁰⁻¹² A elevação da temperatura e a influência do pH nos princípios ativos podem afetar tanto a sua solubilidade quanto a volatilidade destes compostos.¹³ De acordo com Utzig e Sottoriva, a mobilidade dos agrotóxicos depende das características pedológicas e do próprio composto, das condições climáticas e topográficas da região.¹⁴

Baseado nestas justificativas, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método analítico capaz de avaliar a presença de pesticidas na água e sedimentos, assim podendo relacionar esta contaminação com uso e ocupação do solo, particularmente os ligados a atividades agrícolas. Para esse estudo foi escolhida a Bacia Hidrográfica Lageado Tacongava, localizada na região serrana do Rio Grande do Sul, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS**Reagentes**

Os solventes utilizados foram Panreac, Synth e Sigma Aldrich, grau HPLC. A água ultra pura foi produzida através de um equipamento Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, USA), com condução de

*e-mail: sidnei.moura@ucs.br

correntes $\leq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. As soluções estoque dos padrões foram preparadas a partir dos padrões de referência certificados (pureza $\geq 98 \%$, Sigma Aldrich®) dissolvidos em metanol ou acetonitrila, na concentração de 1 mg L^{-1} e as soluções de trabalho foram obtidas a partir da diluição da solução estoque para as amostras fortificadas. Para a extração em fase sólida (SPE) foram utilizados cartuchos de Phenomenex, Strata™X 33 μm , com $6 \text{ mL}/200 \text{ mg}$ (Sigma Aldrich®).

Amostragem e localização

As amostras do rio e afluentes da bacia Lajeado Tacongava foram coletadas semanalmente entre fevereiro a julho de 2015. Todas as amostras foram filtradas para remoção de material particulado em filtros de acetato celulose. Foram definidos no plano de amostragem sete pontos de coleta de água e sedimento, Figuras 1 e 2. Em cada ponto foi coletado 1 L de água em frasco âmbar, anteriormente higienizado com metanol e água Milli-Q. A água foi coletada a 30 cm abaixo da superfície. Posteriormente, as amostras foram mantidas resfriadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo analisadas no máximo 3 dias após a coleta. Nos mesmos pontos definidos no plano de amostragem foram coletadas também amostras de sedimento (aproximadamente 250g). Estes foram acondicionados em frascos de polipropileno previamente higienizados.

Ocupação do solo - culturas agrícolas

Para a identificação das principais culturas de cada município integrante da bacia hidrográfica, foram utilizados dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, os quais foram cruzados com o mapa de uso e ocupação do solo, elaborado no software ArcMap10.^{15,16}

Para o mapeamento do uso e cobertura do solo da área de estudo foi utilizada a imagem do satélite Landsat 8, sensor OLI da órbita-ponto 222/080, referente à passagem de 21/03/2015, por meio da interpretação visual da forma, textura, tonalidade/cor e comportamento espectral das unidades que compõe a paisagem. A classificação da imagem de satélite foi realizada de forma supervisionada, utilizando o algoritmo pixel a pixel de Máxima Verossimilhança Gaussiana. Este algoritmo utiliza apenas a informação espectral de cada pixel para agrupar regiões homogêneas. Foram definidas sete classes de uso e cobertura do solo, como segue: mata nativa, campo, agricultura, solo exposto, área urbana e lâmina d'água. Devido à presença de nebulosidade na imagem de satélite, foi também incluída a classe nuvem. Devido à similaridade espectral entre a mata nativa e as áreas de silvicultura e a mata nativa sombreada (em função do relevo da região) e os recursos hídricos, optou-se por vetorizar manualmente os polígonos referentes às duas classes supracitadas.

Para o mapeamento das áreas cultivadas por grãos e frutíferas na área de abrangência da bacia hidrográfica de estudo foi utilizado um mosaico de imagens do satélite GeoEye do ano de 2015. Por meio da interpretação visual da forma, da textura, da tonalidade e da cor foi possível discriminar os locais cultivados pelas culturas supracitadas das demais classes de uso e cobertura do solo. Foram elencadas três classes de uso e cobertura do solo, a saber: cultivos de grãos, cultivos de frutíferas e outros usos do solo. A área, em hectares, ocupada por cada cultura foi obtida pela digitalização de poligonais sobre o mosaico das imagens de satélite, sendo que nesta etapa foram categorizadas e individualizadas das demais classes de uso e cobertura do solo existente na área avaliada.

Preparo das soluções analíticas

As soluções analíticas para cada padrão foram preparadas individualmente na concentração de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ em solução de metanol grau

HPLC. Estas soluções foram armazenadas em frasco de vidro âmbar e estocadas a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$.¹⁷ Para a validação do método proposto, as soluções analíticas foram diluídas, obtendo-se uma mistura de concentração 10 mg L^{-1} contendo todos os pesticidas a serem estudados. Com esta solução de trabalho foram realizadas diluições para otimizar os parâmetros do espectrômetro de massas, fonte de ionização, preparo das curvas analíticas e fortificação das amostras.

Neste método foram analisados 70 princípios ativos simultaneamente. São eles: 2,4-D, Acetamiprido, Ametrina, Amitraz, Azoxistrobina, Benalaxil, Bendiocarbe, Bentazona, Bioaletrina, Boscalide, Bromoxinil, Carbaril, Carbenazim, Carbofurano, Carboxine, Cartap hidrocloreto, Ciproconazol, Clorpirifos, Ciexatin, Cimoxanil, Ciprodinil, Dazomete, Deltametrina, Diazinon, Diclofope, Diclorvos, Difenconazol, Dimetoate, Dinocap, Ditianon, Diuron, Etion, Etil paraquat, Fenamidona, Fenarimol, Fenitrotona, Fenotrina, Fluquinconazole, Forato, Foxim, Hexaconazol, Imazalil, Imidacloprido, Iprovalicarb, Malation, Metalaxil-M, Metamidofos, Metconazole, Metidation, Metomil, Metribuzin, Miclobutanil, Parationa-metflica, Pedimentalina, Pirazofos, Pirimicarbe, Pirimifos-metflico, Procloraz, Propargit, Piridabem, Pirimetanil, Espirodoclofen, Tebuconazol, Tetraconazole, Tiabendazole, Tiofanato-metflico, Triadimefom, Triadimenol, Triclorfom, Triflumizole.

Otimização do método de extração QUECHERS

Para extração/concentração foi adaptado o método QuEChERS de Anastassiades *et al.* (2003).¹⁸ Para as amostras de sedimentos foram pesados $10 \pm 0,1 \text{ g}$ das amostras diretamente em tubos de centrífuga de polipropileno, com capacidade de 50 mL. Após, as amostras foram agitadas por 20 segundos em vortex. Após essa etapa foram adicionados 10 mL de acetonitrila contendo 1% de ácido acético, agitando-se manualmente e vigorosamente por cerca de 1 min. Na sequência, foram adicionados aos tubos contendo a amostra sulfato de magnésio anidro (3,0 g) e acetato de sódio anidro (1,7 g). Depois, os tubos foram agitados manualmente por cerca de 1 min e centrifugados a 4000 rpm durante 8 min. Após, 1 mL do sobrenadante foi transferido para frascos de cromatografia *vials* com capacidade para $\pm 2 \text{ mL}$, seguido de análise por HPLC-HRMS.

Método de extração SPE

Com a finalidade de diminuir o efeito matriz, as amostras de água foram filtradas a vácuo em membrana de acetato de celulose ou nylon ($0,45 \mu\text{m}$).¹⁹ Posteriormente, estas foram mantidas sob-refrigeração a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, e em seguida foi realizada extração em fase sólida (SPE) baseada em Lazartigues *et al.* e Chiarello *et al.*, com cartucho Phenomenex Strata™X 33 μm , com $6 \text{ mL}/200 \text{ mg}$, diâmetro do poro de 90 \AA . Os cartuchos foram condicionados utilizando acetonitrila (2 mL), metanol (2 mL) e água ultrapura (2 mL). Foram utilizados 200 mL de amostra de água. O cartucho foi lavado com água (3 mL) e secado durante 20 min com fluxo de ar. Os analitos foram eluídos com metanol (1 mL), acetonitrila (1 mL) e água (1 mL). Após extração as amostras foram encaminhadas para análise.^{19,20}

Análise instrumental

As determinações foram feitas empregando Cromatografia a Líquido acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução (HPLC-HRMS). A fase móvel foi adaptada de Lacina *et al.* e Köck-Schulmeyer *et al.*, os quais relataram análises multiresíduos em alimentos aplicando QuEChERS e HPLC-MS. Assim, a fase móvel foi composta de água com 5 mmol L^{-1} de formiato de amônio e ácido fórmico $0,1\%$ (v/v), e a fase móvel B metanol: água com 5 mmol L^{-1}

de formiato de amônio e 0,1% ácido fórmico (90:10), com vazão de 0,500 mL min⁻¹. O programa de gradiente iniciou com 25% de B, constante durante 1 min, seguido por um gradiente linear até 95% de B em 7,5 min, depois manteve-se constante durante mais 4,5 min, e depois com um gradiente linear 25% de B em mais 3 min, terminando em adicionais 3 min com 25% de B.^{21,22}

As amostras foram separadas empregando um sistema de Cromatografia a Líquido de Ultra eficiência (UHPLC SHIMADZU®) equipado com bomba LC-20ADXR, com amostrador automático SIL-20AXR, detector SPD-20 e forno CTO-20. Foi utilizada uma coluna analítica Eclipse XDB-C8 4,6 mm × 15 cm. O volume de injeção foi de 10 µL. Como detector foi utilizado um espectrômetro de massas com ionização por *Electrospray* (ESI) e separação por quadrupolo-tempo de voo (BRUKER, Q-TOFII®). Seguem as principais condições do sistema de detecção: voltagem capilar de 4500 eV; fluxo do gás de nebulização (N₂): 3 L min⁻¹; fluxo do gás de secagem (N₂): 15 L min⁻¹; temperatura de interface: 250 °C; temperatura de dessolvatação de 300 °C; nitrogênio usado na câmara de colisão. O sistema de ionização foi alternado no modo positivo e negativo dependendo do analito.^{23,24} Para obter condições ótimas de análise de cada um dos pesticidas avaliados foram realizadas injeções diretas no espectrômetro de massas, com solução analítica padrão 0,5 mg L⁻¹ de cada composto com energias de colisão de 10 a 30 eV.

Validação do método de análise

O desempenho e a reprodutibilidade do método foi avaliado por meio de determinação dos parâmetros de seletividade, linearidade, limite de detecção e de quantificação, precisão, exatidão.^{25,26}

A seletividade do método foi avaliada por comparação dos cromatogramas obtidos por injeções no sistema de HPLC-HRMS dos extratos das amostras branco e fortificadas.²⁷ O Limite de Detecção (LD), menor quantidade detectável de um analito, foi relacionado ao sinal/ruído. Assim, o LD foi determinado como 3 vezes superior ao ruído (LD = 3S/R). Enquanto isso, o Limite de Quantificação (LQ), menor quantidade a ser quantificada com exatidão, corresponde a uma altura do sinal 10 vezes superior ao ruído (LOQ = 10S/R).^{26,28}

A linearidade foi avaliada através da construção de curvas analíticas individuais para cada analito, as quais relacionam concentração × resposta do equipamento. Desta forma, foram determinadas soluções analíticas preparadas tanto em solvente quanto nos extratos da matriz, nas concentrações 1; 5; 10; 50; 100; 200 µg L⁻¹. Foram realizados os cálculos da média das áreas do RSD (%), da equação da curva analítica, do coeficiente de determinação (r²) e da faixa de linearidade para cada composto analisado por HPLC-HRMS.

A precisão do método foi avaliada por meio da repetitividade dos resultados obtidos através das amostras fortificadas nas concentrações 10, 50 e 100 µg kg⁻¹. Foram realizadas seis extrações de cada nível de fortificação e cada extrato foi injetado uma vez. Valores de RSD% de até 20% são aceitáveis em métodos que determinam agrotóxicos ao nível de traços.^{20,26}

A exatidão foi avaliada por meio de ensaios de fortificação e recuperação das amostras ensaiadas, utilizando o método QuEChERS modificado. Os ensaios de fortificação foram realizados a partir da solução analítica com concentração 10000 µg L⁻¹ contendo todos os analitos, em três níveis diferentes de concentração: 10, 50 e 100 µg kg⁻¹. O efeito matriz foi avaliado através da comparação entre as áreas obtidas das soluções analíticas em solvente (acetonitrila) e nas amostras. Desta forma, é possível observar um efeito de matriz positivo ou negativo. Esse efeito é causado por interferentes, ou seja, componentes provenientes da amostra, que coeluem com o analito e podem competir no processo de ionização. O número de íons formados pode diminuir (supressão), ou em alguns casos aumentar,

resultando num efeito de matriz negativo ou positivo, respectivamente. Assim, para reduzir o efeito matriz, curvas de calibração são preparadas em extratos livres de pesticidas.²⁹

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo da área

As culturas com maior área plantada nos municípios de Montauri, Serafina Corrêa, União da Serra e Guaporé, integrantes da Bacia Hidrográfica Lajeado Tacongava, são apresentadas na Tabela 1. A partir das informações coletadas podemos destacar a produção de grãos (milho, soja e trigo) e a fruticultura (uva, figo, laranja, pêssego entre outras).

Entre os pesticidas indicados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)³⁰ para estas culturas, regulamentado e fiscalizado pela ANVISA através dos Limites Máximos de Resíduos (LMR), fazem parte deste método desenvolvido os fungicidas: azoxistrobina, boscalide, carbendazim, carboxine, ciproconazol, cimoxanil, difenoconazol, dinocap, ditianon, famoxadon, fenamidon, fenarimol, fenitrotona, fluquinconazol, imazalil, iprovalicarb, metalaxil-M, metconazol, miclobutanil, pirazofos, procloraz, pirime-tanil, tebuconazol, tetraconazole, tiabendazole, tiofanato-metílico, triadimefom, triadimenol, triflumizole; os inseticidas: acetamiprido, amitraz, carbofurano, clorpirifos, deltametrina, diazinon, dimetoate, etion, fenitrotona, forato, imidacloprido, malationa, metamidofos, metidation, metomil, parationa-metífica, pirazofos, pirimicarbe, piridabem, pirimifos-metil, triclorfon; e os herbicidas: bentazon, diclofope, diuron, paraquat, pendimetalina e metribuzin.

A representatividade do cultivo de grãos em relação à fruticultura dentro dos limites da Bacia Hidrográfica está destacada na Figura 1. Nesta é apresentado que nenhum município está totalmente inserido na BH Lajeado Tacongava, sendo que União da Serra ocupa a maior parte da bacia. O norte de União da Serra e o oeste de Serafina Corrêa são as regiões onde a agricultura é mais intensa.

No mapa de uso e ocupação do solo é possível ainda comparar a área reservada à atividade agrícola e a área de mata nativa. O fato da quantidade de mata nativa ser menor que a usada pela atividade agrícola reflete a falta de preservação e, por consequência, a vulnerabilidade ambiental da região. Na Figura 2 é mostrado o mapa temático da região estudada. Ainda, à jusante da bacia hidrográfica a mata ciliar está mais preservada do que à montante, indicando que a suscetibilidade à contaminação dos recursos hídricos é maior ao norte da bacia.

De acordo com Lourenço, a remoção da mata ciliar e o manejo inadequado do solo e das culturas, inclusive em áreas aptas para o uso agrícola, potencializam o transporte de agrotóxicos do solo para os corpos de água em decorrência do escoamento superficial gerado pela ação da precipitação ou das técnicas de irrigação do cultivo.³¹

Além do uso e ocupação do solo, são evidenciados no mapa os pontos de monitoramento da qualidade de água e sedimento. Os pontos 4 e 5 localizam-se em afluentes e os pontos 1, 2, 3 e 4 localizam-se em áreas com atividade agrícola mais intensa.

A escolha do plano de amostragem tem relação com a intensa atividade agrícola e uso de pesticidas nos arredores do local das coletas. Baseado na análise de parâmetros físico-químicos, a interferência das ações antrópicas na qualidade da água desta mesma bacia hidrográfica foi evidenciada por Schneider *et al.*, que avaliaram a influência do uso e ocupação do solo no enquadramento dos recursos hídricos da bacia.³² Os resultados apontam que 4 pontos enquadram-se como Classe 4, que de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005 são indicados apenas para uso em navegação e harmonia paisagística.³³ Ainda, conforme Schneider *et al.*, as regiões referentes à agricultura

Tabela 1. Principais culturas da região estudada com respectiva área plantada e especificação de cultura

Município	Cultura	Área plantada (ha)	Tipo de cultura
Montauri	Uva	20	Perene
	Figo	10	Perene
	Aveia	50	Temporária
	Milho	2.000	Temporária
	Soja	2.200	Temporária
	Trigo	350	Temporária
Serafina Corrêa	Uva	39	Perene
	Laranja	30	Perene
	Milho	2.000	Temporária
	Soja	2.200	Temporária
	Trigo	150	Temporária
União da Serra	Uva	50	Perene
	Laranja	80	Perene
	Erva-mate	60	Perene
	Milho	3.100	Temporária
	Soja	1.200	Temporária
	Trigo	55	Temporária
Guaporé	Uva	250	Perene
	Laranja	130	Perene
	Erva-mate	250	Perene
	Milho	3.300	Temporária
	Soja	2.000	Temporária
	Trigo	150	Temporária

Fonte: IBGE (2014).

ocupam 37% do território da bacia hidrográfica, sendo mais expressiva na região nordeste, na qual estão localizados os pontos enquadrados como Classe 4.³²

Método de extração e preparo da amostra

O preparo da amostra e análise de resíduos de contaminantes requer uma adequada remoção de interferentes com a finalidade de extrair/isolar os compostos de interesse.³³ Por ser uma matriz complexa, essa é uma etapa fundamental para obtenção dos resultados, bem como para a conservação do sistema cromatográfico.^{34,35} As otimizações realizadas aqui para a extração indicam um futuro promissor na análise multirresíduos de pesticidas a partir destas matrizes (sedimento e água).

Neste trabalho, a combinação de QuEChERS e HPLC-HRMS foi realizada com sucesso na extração e determinação simultânea de 70 agrotóxicos. Os percentuais de recuperação ficaram entre 78 a 117%, com RSD médio < 20%, respectivamente. Estes valores estão de acordo com o previamente publicado por Donato *et al.*, que analisaram 72 pesticidas, sendo 48 por LC-MS e 24 por CG-MS, em água potável.³⁶

Otimização do método analítico

Para qualificação e quantificação dos agrotóxicos nas amostras coletadas foi utilizado um sistema HPLC-HRMS conforme condições observadas na Tabela 2.

Os sistemas acoplados a detectores convencionais apresentam maior detectabilidade e seletividade, minimizando a co-eluição de substâncias encontradas na análise cromatográfica, e no espectrômetro de massas a confirmação dos analitos de interesse em níveis de traços.²⁰

Na Figura 3 é apresentado um cromatograma com os 70 padrões avaliados.

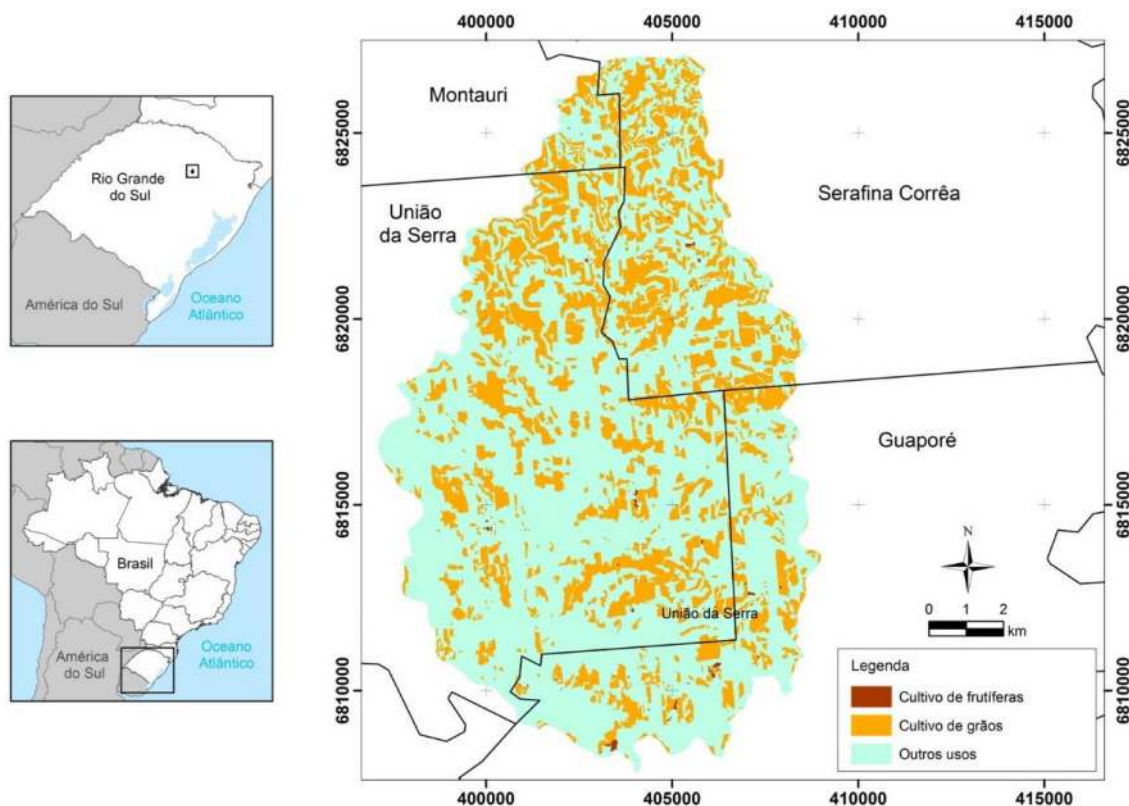


Figura 1. Expressividade do cultivo de grãos e fruticultura na Bacia Hidrográfica Lajeado Tacongava

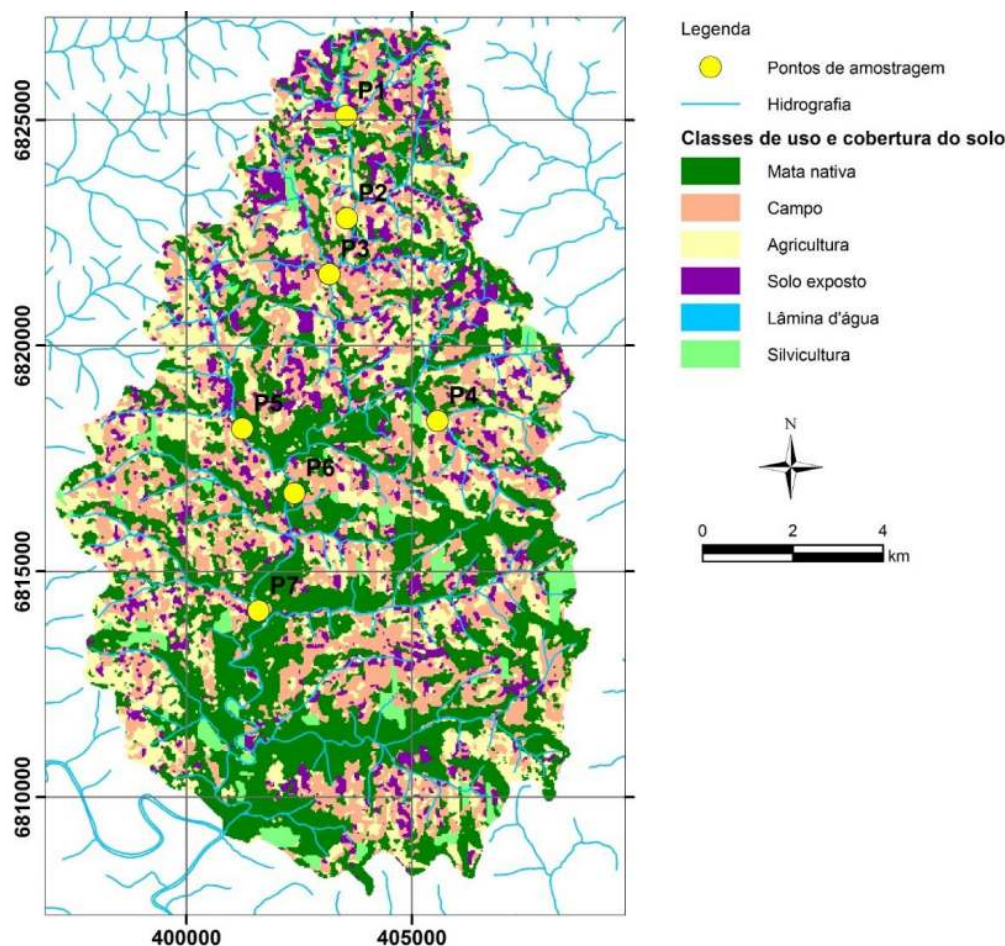


Figura 2. Mapa de uso e ocupação do solo na Bacia Hidrográfica Lajeado Tacongava

Tabela 2. Condições empregadas no sistema cromatográfico HPLC-HRMS

Parâmetros	HPLC-HRMS
Coluna analítica	Eclipse XDB-C8 4,6 mm x 15 cm
Fase móvel	A: água com 5 mmol L ⁻¹ de formiato de amônio e 0,1% ácido fórmico B: metanol: água com 5 mmol L ⁻¹ de formiato de amônio e 0,1% ácido fórmico (90:10)
Gradiente de eluição	75% (A) e 25% (B) de 0 a 1 min. 5% (A) e 95% (B) de 7,5 a 12 min. 75% (A) e 25% (B) de 15 a 18 min.
Vazão	0,500 mL min ⁻¹
Volume de injeção	10 µL
Tempo de corrida	20 min
Fonte de ionização	ESI
Voltagem capilar	4500 eV

Das 70 substâncias analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas, foram obtidas recuperações entre 78,0 a 117,0% com RSD < 20%.

Amostras reais de água e sedimentos

Nas análises realizadas nas amostras de água e sedimento observamos a presença de resíduos de pesticidas utilizados nas culturas próximas aos locais de coleta. As maiores concentrações foram

referentes ao composto bendiocarbe, encontrado em todas as análises efetuadas. Este fato, a presença deste composto tanto em água como sedimento, deve-se ao uso do mesmo para controle de mosquitos na região, bem como pelas suas propriedades físico-químicas, Tabela 3. Os valores do produto da constante de dissociação ácida (pKa) têm efeito sobre a solubilidade do composto, e de acordo com o pH das amostras (7,9) é possível prever a forma predominante (ionizável ou molecular).³⁷

Neste estudo foram encontrados resíduos de 9 agrotóxicos, nas amostras de água, em diferentes concentrações, em diferentes pontos, Tabela 4. Enquanto isso, foram encontrados 5 compostos em sedimentos, sendo 3 destes diferentes dos compostos encontrados nas amostras de água, Tabela 4. Este fato tem relação com a estabilidade destes compostos no sedimento.

Águas superficiais

Após a análise da Tabela 4 é possível verificar que bendiocarbe é o único composto que aparece em todos os pontos amostrados com concentração maior no ponto 7. Por se tratar de um saneante domissanitário, o bendiocarbe não está associado a nenhum tipo de cultivo, portanto, estima-se que o mesmo tenha sido usado no controle de pragas de galpões ou áreas domiciliares. Além disso, no ano de 2014 o Governo do Estado de Santa Catarina, através de orientação técnica da Divisão de Vigilância Epidemiológica, substituiu o inseticida alfacipermetrina SC20% pelo bendiocarbe para o controle químico do mosquito *Aedes Aegypti*, visto que o vetor desenvolveu resistência aos pesticidas listados no Programa Nacional de Controle da Dengue do Ministério da Saúde, indicando um novo uso para o

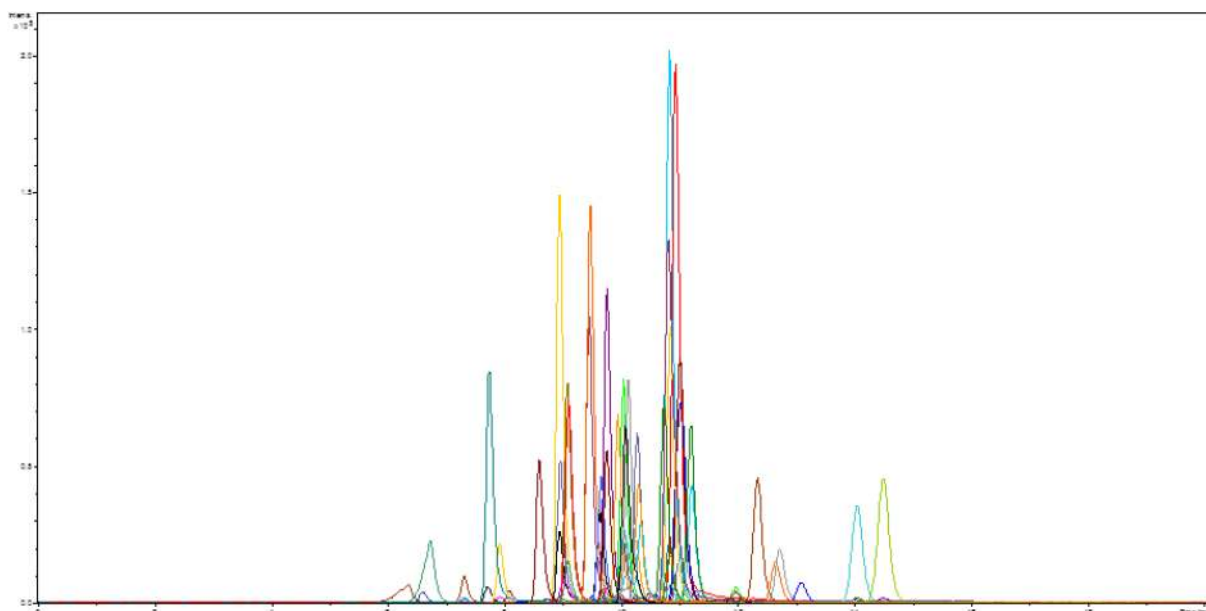


Figura 3. Cromatograma de íons extraídos dos padrões de pesticidas estudados, obtido por HPLC-HRMS

Tabela 3. Tabela de pesticidas detectados e seus respectivos pKas

Pesticidas	pKa*
Acetamiprido	0,70
Azoxistrobina	0,93
Bendiocarbe	11,98
Boscalide	10,75
Fenamidona	0,49
Metribuzin	0,99
Piridabem	2,69
Pedimentalina	2,24
Tiofanato-metílico	6,12
Triflumizole	3,21

* SciFinder.

inseticida, podendo este ter sido utilizado na região de estudo. Os compostos bendiocarbe e fenamidona foram encontrados em todos os pontos amostrados, demonstrando mais persistência destes compostos e possível uso nas proximidades dos pontos de amostragem. O inseticida Bendiocarbe foi avaliado em estudo de monitoramento em águas superficiais no lago Vistonis na Grécia, sendo que o mesmo não foi detectado em alguns pontos ou apresentou concentração abaixo do limite de quantificação.³⁸

As maiores concentrações identificadas neste estudo foram para o acaricida e inseticida Piridabem, 39,6 e 32,7 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente, ambos nos pontos 1 e 2, localizados a montante da Bacia Hidrográfica, sendo que nestes pontos ocorre maior cultivo de soja em relação a frutas. Ressaltamos que estes agrotóxicos são indicados pelo MAPA para uso em citros, maçã e algumas flores. Desta forma, este pode ter sido utilizado indevidamente no cultivo de outras culturas, como soja,

Tabela 4. Resultados das análises para amostras reais de água e sedimentos

Pesticida	Água (concentração $\mu\text{g kg}^{-1}$)						
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6	Ponto 7
Bendiocarbe	0,5	0,6	0,6	0,7	0,4	0,4	0,9
Acetamiprido	nd	nd	nd	0,2	nd	nd	0,2
Tiofanato-metílico	0,7	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
Triflumizole	3,9	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
Azoxistrobina	0,1	nd	nd	0,2	nd	0,2	Nd
Pedimentalina	nd	1,4	nd	nd	nd	nd	Nd
Piridabem	39,6	32,7	nd	nd	nd	nd	Nd
Metribuzin	0,7	0,8	0,7	nd	nd	0,8	0,7
Fenamidona	0,5	0,3	0,5	0,3	0,3	0,7	0,3
Pesticida	Sedimento (concentração $\mu\text{g kg}^{-1}$)						
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6	Ponto 7
Bendiocarbe	6,7	6,6	10,3	6,2	8,5	7,4	12,1
Acetamiprido	4,6	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
Tiofanato-metílico	10,7	nd	nd	nd	nd	nd	Nd
Azoxistrobina	nd	nd	nd	nd	3,3	nd	Nd
Boscalide	10,0	nd	nd	nd	nd	nd	Nd

*nd – não detectado.

ou estes compostos químicos foram trazidos pelo rio. O composto Piridabem, o qual possui a maior concentração na água, não aparece no sedimento. Este comportamento indica que o mesmo permanece diluído na água, sendo arrastado.

Em um estudo de monitoramento de pesticidas em águas de rio, sedimento e moluscos no sul da China, Zheng *et al.* detectaram 82 agrotóxicos, entre eles o Piridabem. O autor ainda ressaltou que apenas esse foi detectado em água.³⁹

O Metribuzin foi encontrado na maioria dos pontos amostrados, exceto nos pontos 4 e 5, os únicos localizados em afluentes do Arroio Lajeado Tacongava. Este herbicida é indicado para soja e trigo e, levando-se em consideração que o cultivo de soja é o segundo mais representativo da bacia hidrográfica, a detecção deste pesticida era esperada. Este mesmo composto foi detectado em concentrações inferiores a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ em estudo realizado por Laabs *et al.* em água superficial no estado do Mato Grosso. Além deste agrotóxico, os autores indicaram a presença do Ametrin e Metolacloer em amostras de sedimentos.⁴⁰ Este mesmo herbicida foi detectado em um outro estudo na região do Mato Grosso por Dores *et al.*, sendo considerado o resíduo de maior frequência em água superficial e subterrânea.⁴¹

Os compostos Tiofanato-metílico e Triflumizole foram encontrados apenas no ponto 1, enquanto Pedimentalina foi encontrado apenas no ponto 2. Estes compostos são indicados para grãos. Enquanto isso, a Azoxistrobina foi encontrada nos pontos 1, 4 e 6, e Acetamiprido apenas nos pontos 4 e 7. Ambos são indicados para uma vasta gama de culturas.

Sedimento

O ponto 1, localizado no município de Montauri, apresentou maior variedade de compostos encontrados em sedimentos, neste ponto foram detectados Acetamiprido, Tiofanato-metílico e Boscalide.

Como eram esperadas, as concentrações dos compostos encontrados em sedimento é maior do que o encontrado na água superficial. O único agrotóxico que aparece apenas no sedimento e não nas amostras de água é o Boscalide, indicando a persistência deste nesta matriz. Este fungicida é indicado apenas para hortaliças, leguminosas e frutíferas. Apenas um produto registrado no MAPA possui este composto como único princípio ativo, sendo considerado de toxicidade média. Porém, quando associado a outros princípios ativos, a classificação tanto ambiental quanto toxicológica é aumentada. Este mesmo princípio ativo também foi detectado por Smalling *et al.* em amostras de sedimentos, nas concentrações entre 2,1 e $44,5 \mu\text{g kg}^{-1}$, em fazendas de pesquisa agrícola nos Estados Unidos.⁴²

O ponto 1, apesar de ser o ponto mais a montante, apresenta maior ocorrência e maior concentração de contaminantes. Este ponto localizado no município de Montauri possui a menor parte de seu território dentro da Bacia Hidrográfica em estudo, visto que os dados referentes às culturas e área plantada apresentadas na Tabela 1 referem-se a todo o território municipal. Neste ponto o Tiofanato-metílico apresenta concentração no sedimento 15 vezes superior à concentração em água, indicando susceptibilidade de maior permanência no substrato. A detecção deste composto pode estar relacionada ao maior uso deste fungicida na região, já que a mesma apresenta cultivo de soja e milho, nos quais este composto é permitido para uso. Estudo realizado por Martini *et al.* verificou o comportamento de pesticidas e potencial de transporte (lixiviação) dissolvidos em água. Este autor considerou este potencial baixo para o Tiofanato-metílico e médio para Malation, Azoxistrobina, entre outros.⁴³

Neste estudo, o Piridabem foi o mais frequente, o que certamente é relacionado com o uso e ocupação do solo da região avaliada. Porém, os resultados não foram semelhantes com os encontrados em outros países para os principais agrotóxicos encontrados em águas superficiais

e sedimentos. Outros agrotóxicos são os mais prevalentes, como Fluameturon, Endosulfan, Piraclostrobin, Deltrametrina,^{39,40,42,44} e em vários vegetais e frutas.⁴⁵⁻⁴⁷ Resíduos de contaminantes provenientes de agrotóxicos também podem ser detectados na atmosfera, solo e em organismos aquáticos, devido à suas propriedades persistentes e lipofílicas.⁴⁸ No entanto, as frequências de detecção e níveis de resíduos de alguns pesticidas em água e sedimentos neste trabalho foram maiores do que aqueles avaliados na Espanha, como o caso do Piridabem.⁴⁹

Nenhum dos compostos encontrados está presente na lista de contaminantes agrotóxicos da Portaria 2.914/11 do Ministério da Saúde, a qual versa sobre potabilidade da água.⁵⁰

CONCLUSÃO

O método otimizado neste trabalho para a determinação de 70 agrotóxicos simultaneamente por HPLC-HRMS apresentou eficiência com níveis de recuperação acima de 80% para as amostras de água e sedimento. Enquanto isso, a sensibilidade (LQ e LD) estão adequados ao exigido pelas legislações, principalmente a brasileira.

A presença de nove resíduos em água em concentração variando entre 0,1 e $39,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e de cinco em sedimento, entre 3,3 e $12,1 \mu\text{g L}^{-1}$, demonstra que existe uma contaminação local. Além disso, indica que pode estar havendo descarte indiscriminado destes produtos. O acúmulo no ambiente em níveis entre solo e águas pode ser relacionado com a persistência dos mesmos.

A realização deste estudo representou um marco importante na avaliação ambiental da área da bacia hidrográfica Lajeado Tacongava e seus afluentes, a qual possui intensa a atividade agrícola. Esperamos que as pesquisas realizadas em águas superficiais e sedimentos tenham continuidade para que seja possível um processo de monitorização das contaminações. Desta forma, podemos buscar uma prevenção da contaminação através do consentimento da população ou até um tratamento do ambiente para a preservação do equilíbrio ambiental e da qualidade de vida da população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERGS, SEDECT/RS, ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Chrisman, J. R.; Koifman, S.; Sarcinelli, P. N.; Moreira, J. C.; Koifman, R. J.; Meyer, A.; *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2009**, *212*, 310.
- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (IBGE); *Atlas do Saneamento*, 2011.
- Revista Globo Rural, Disponível em: <http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Expointer/noticia/2015/08/emater-projeta-estabilidade-de-area-plantada-em-201516-no-rs.html>, acessada em setembro de 2016.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_210200792814.html/, acessada em setembro de 2016.
- Organização Panamericana de Saúde (OPAS); Ministério da Saúde do Brasil; Secretaria de Vigilância Sanitária; *Manual de Vigilância de populações expostas a agrotóxicos*, Brasília, 1996.
- Peres, F.; Moreira, J. C.; Dubois, G. S. Em *É veneno ou é remédio?* - *Agrotóxicos, saúde e ambiente*; Peres, F., Moreira, J. C., eds.; Fiocruz: Rio de Janeiro, 2003, 21-41.
- Sanches, S. M.; Silva, C. H. T. P.; Campos, S. X.; Vieira, E. M.; *Pesticidas* **2003**, *13*, 53.
- Brasil, Presidência da Republica, Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm, acessada em setembro de 2016.

9. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturas Renováveis (IBAMA). BRASIL. Portaria Normativa Ibama nº 84, de 15 de outubro de 1996.
10. Silva, M. R.; Tonial, I. B.; *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* **2004**, 4, 45.
11. Zhonghua, Z.; Zhang, L.; Wu, J.; *Limnol. Oceanogr.* **2016**, 61, 47.
12. Pivato, A.; Barausse, A.; Zecchinato, F.; Palmeri, L.; Raga, R.; Lavagnolo, M. C.; Cossu, R.; *Atmos. Environ.* **2015**, 111, 136.
13. *Environmental Pollution by Pesticides*; Edwards, C. A., ed.; Plenum Press: London, New York, 1973.
14. Utzig, L. M.; Sottoriva, P. R. S.; *Anais da XIII Mostra de Pesquisa da Pós Graduação PUCPR*, Curitiba, Brasil, 2011.
15. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/uf.php?coduf=43/>, acessada em setembro de 2016.
16. Redlands *ARCMAP10*. ARCGIS. Licence type: Desktop. Version 10: ESRI® Inc., Califórnia, Estados Unidos, Copyright 2010-2013.
17. Ferrer, C.; Martínez-Bueno, M. J.; Lozano, A.; Fernández-Alba, A. R.; *Talanta* **2011**, 83, 1552.
18. Anastasiades, M.; Lehotay, S. J.; Stajnbaher, D.; Schenck, F. J.; *J. AOAC Int.* **2003**, 86, 412.
19. Lazartigues, A.; Fratta, C.; Baudot, R.; Wiest, L.; Feidt, C.; Thomas, M.; Cren-Olivé, C.; *Talanta* **2011**, 85, 1500.
20. Chiarello, M.; Minetto, L.; Della Giustina, S. V.; Beal, L. L.; Moura, S.; *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2016), doi: 10.1007/s11356-016-6766-2.
21. Lacina, O.; Zachariasova, M.; Urbanova, J.; Vaclavikova, M.; Cajka, T.; Hajšlova, J.; *J. Chromatogr. A* **2012**, 1262, 8.
22. Köck-Schulmeyer, M.; Olmos, M.; López de Alda, M.; Barceló, D.; *J. Chromatogr. A* **2013**, 1305, 176.
23. Prestes, D. O.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2011.
24. Sherol, A. R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Rio Grande, Brasil, 2010.
25. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos*, DOQ-CGCRE-008, 4ª revisão, 2011.
26. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos*, Resolução RE nº 899 de 29/05/2003.
27. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, 27, 771.
28. Pereira, M. B.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal de Santa Maria, Brasil, 2012.
29. Eeckhaut, A. V.; Lanckmans, K.; Sarre, S.; Smolders, I.; Michotte, Y.; *J. Chromatogr. B* **2009**, 877, 2198.
30. MAPA – Ministério da Agricultura e Pecuária; Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/qualidade-seguranca-alimentos-bebidas/alimentos/residuos-e-contaminantes/>, acessada em setembro de 2016.
31. Lourençato, L. F.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2010.
32. Schneider, V.; Carra, S. H. Z.; Cornelli, R.; Zanoni, N.; Cemin, G.; *Resumos do 12º Congresso Florestal Estadual do Rio Grande do Sul*, 2015.
33. Conselho Nacional do Meio ambiente (CONAMA). Resolução nº 357/05. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.
34. Kinsella, B.; O'Mahony, J.; Malone, E.; Moloney, M.; Cantwell, H.; *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 7977.
35. Prestes, O. D.; Friggi, C. A.; Adaime, M. B.; Zanella, R.; *Quim. Nova* **2009**, 32, 1620.
36. Donato, F. F.; Martins, M. L.; Munaretto, J. S.; Prestes, O. D.; Adaime, M. B.; Zanella, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2015**, 26, 2077.
37. Barceló, D.; Hennion, M. C.; *Trace Determination of Pesticides and their degradation products in water*, 2nd ed., Elsevier: Amsterdam, 2003.
38. Papadakis, E.-N.; Tsaboula, A.; Kotopoulou, A.; Kintzikoglou, K.; Vryzas, Z.; Papadopoulou-Mourkidou, E.; *Sci. Total. Environ.* **2015**, 536, 793.
39. Zheng, S.; Chen, B.; Qiu, X.; Chen, M.; Ma, Z.; Yu, X.; *Chemosphere* **2016**, 144, 1177.
40. Laabs, V.; Amelung, W.; Pinto, A. A.; Wantzen, M.; Silva, C. J.; Zech, W.; *J. Environ. Qual.* 2002, 31, 1636.
41. Dores, E. F. G. C.; Navickiene, S.; Cunha, M. L. F.; Carbo, L.; Ribeiro, M. L.; De-Lamonica-Freired, E. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, 17, 866.
42. Smalling, K. L.; Reilly, T. J.; Sandstrom, M. W.; Kuivila, K. M.; *Sci. Total. Environ.* **2013**, 447, 179.
43. Martini, L. F. D.; Caldas, S. S.; Bolzan, C. M.; Bundt, A. C.; Primel, E. G.; De Avila, L. A.; *Ciênc. Rural* **2012**, 42, 17151.
44. Jabeen, F.; Chaudhry, A. S.; Manzoor, A.; Shaheen, T.; *Environ. Monit. Assess.* **2015**, 187, 29.
45. Libin, L.; Hashi, Y.; Yaping, Q.; Haixia, Z.; Jinming, L.; *Chin J Anal Chem*, **2006**, 783-786, 34.
46. Lozano, A.; Kiedrowska, B.; Scholten, J.; Kroon, M.; Kok, A.; Fernández-Alba, A. R.; *Food Chem.* **2016**, 192, 668.
47. Wang, Z.; Chang, Q.; Kang, J.; Cao, Y.; Ge, N.; Fan, C.; Pang, G.-F.; *Anal. Methods* **2015**, 7, 6385.
48. Xu, M.; Qiu, Y.; Bignert, A.; Zhou, Y.; Zhu, Z.; Zhao, J.; *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, 22, 1742.
49. Robles-Molina, J.; Gilbert-López, B.; García-Reyes, J. F.; Molina-Díaz, A.; *Sci. Total Environ.* **2014**, 479, 247.
50. Ministério da Saúde, Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html/, acessada em setembro de 2016.