

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE ENGENHARIA**  
**CURSO DE PÓS - GRADUAÇÃO EM**  
**ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

**DISSERTAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO PARA**  
**REMOÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS**

**Tatyane Pereira dos Santos**

**2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE ENGENHARIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE OZÔNIO PARA REMOÇÃO DE**  
**AGROTÓXICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS**

**TATYANE PEREIRA DOS SANTOS**

*Sob a Orientação do Professor Dr.*

**HENRIQUE VIEIRA DE MENDONÇA**

*e Coorientação da Professora Dra.*

**ANA CRISTINA SIMÕES ROSA**

Dissertação submetida como  
requisito para obtenção do grau de **Mestra**  
**em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no  
Curso de Pós-Graduação em Engenharia  
Agrícola e Ambiental, área de  
concentração em Meio Ambiente.

**Seropédica, RJ**

**2023**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237a Santos, Tatyane Pereira dos , 1980 Avaliação da aplicação de ozônio para remoção de agrotóxicos em águas superficiais / Tatyane Pereira dos Santos. - Mesquita, 2023. 105 f.: il.

Orientador: Henrique Vieira de Mendonça.

Coorientadora: Ana Cristina Simões Rosa.

Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Engenharia agrícola e ambiental, 2023.

1. agrotóxicos. 2. ozônio. 3. remoção. 4. águas superficiais . 5. CG/EM-EM. I. Mendonça, Henrique Vieira de , 1984-, orient. II. Rosa, Ana Cristina Simões , 1975-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Engenharia agrícola e ambiental. IV. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE ENGENHARIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

**TATYANE PEREIRA DOS SANTOS**

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de **Mestra em Engenharia Agrícola e Ambiental**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, área de Concentração Meio Ambiente.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 27/02/2023

Membros da Banca:

Henrique Vieira de Mendonça, D.Sc., UFRRJ (Orientador/Presidente da Banca)

Sady Júnior Martins da Costa de Menezes, D.Sc, UFRRJ

Thelma Pavesi, D.Sc, FIOCRUZ



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

SISTEMA INTEGRADO DE PATRIMÔNIO, ADMINISTRAÇÃO E CONTRATOS

FOLHA DE ASSINATURAS

Emitido em 02/05/2023

**HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Nº 29/2023 - IT (12.28.01.27)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 02/05/2023 11:10)*

HENRIQUE VIEIRA DE MENDONÇA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DEPTOENG (12.28.01.00.00.00.44)

Matricula: ###331#3

*(Assinado digitalmente em 05/05/2023 19:41)*

SADY JUNIOR MARTINS COSTA DE MENEZES

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptCMA (12.28.01.00.00.00.18)

Matricula: ###315#6

*(Assinado digitalmente em 02/05/2023 10:31)*

THELMA PAVESI

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.868-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **29**, ano: **2023**, tipo: **HOMOLOGAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, data de emissão: **02/05/2023** e o código de verificação: **a4820ab0d6**

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico este trabalho à minha família com todo amor e carinho*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me sustentado nesses dois últimos anos. Em meio a tantos momentos difíceis, no meio de uma pandemia, escolhia dar esse passo a essa altura do campeonato. Que loucura!!! Percorri todas as etapas e por muitas vezes quis desistir, mas persisti. No finalzinho, mais uma surpresa desagradável e nesse momento pensei: quero e vou escrever esse capítulo final da minha vida acadêmica. Cada um dos citados abaixo, tem sua parcela de participação nesse feito!

Ao meu pai, Jayme Soares, que de onde estiver, acompanhou tudo até aqui e está feliz por mais essa conquista!

À minha mãezinha, que na sua luta, me ensinou o que é ser uma criatura com valores e princípios. Me ensinou, dentre muitas coisas, que eu podia chegar aonde eu quisesse, estudando e eu consegui. Sei que sou motivo de orgulho e admiração para você e esse trabalho é uma homenagem por todo cuidado, carinho e dedicação que tem por mim.

À minha filha Thamires, por ter aguentado meu estresse e ausência nesse finalzinho. Filha, acabou! Tô de volta pra vocês. Obrigada por sua torcida e apoio. Tudo que fiz até aqui foi por você, minha futura MedVet GATA!!!

Ao meu marido Arthur, pela amizade, parceria, dedicação e companheirismo. Você foi fundamental para que eu chegasse até aqui. Obrigada por sempre ser meu fechamento em tudo e nunca ter deixado eu desistir dessa conclusão.

Ao meu irmão Jayme, por toda amizade e parceria. Sei que você morre de orgulho dessa tua irmã aqui e a recíproca é verdadeira. Obrigada por sempre torcer por mim.

À minha dinda Silze, que sempre me motivou a continuar estudando e atingir voos cada vez mais altos. Que financiava todos os cursos que queria fazer. Que morre de orgulho da pessoa e profissional que me tornei. Dinda, esse trabalho é pra você também, como reconhecimento por tudo que representa em minha vida.

À minha família: sobrinhos Jayme e Gui, minhas cunhadas Tábata e Thalita, minha sogra Cris e dinda Cíça, obrigada por sempre torcerem pelo meu sucesso.

À minha amiga Vivi, por sempre acreditar em mim. Minha irmã que a vida me deu. Vivian, você também faz parte desse momento. Obrigada por sua amizade, carinho e torcida.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Toxicologia do CESTEJ, por apoiarem esse trabalho e entenderem minhas ausências. Em especial aos amigos Lu, Leandro, Thelminha e Julinho, que sempre torceram por mim e vibraram com essa novidade. Obrigada pela amizade, parceria e pelas palavras de apoio todas as vezes que pensei em desistir.

Ao Marinho, sempre ajudando e fechando juntinho comigo, dando todo suporte necessário para que pudesse realizar essa etapa, trocando gás, carregando garrafas de água, lavando material em tempo recorde, sempre com boa vontade, carinho e amizade. Valeu Marinho!

À minha equipe do Setor de Agrotóxicos: Heldis, Anne, Carol, Jordana, Ana Paula e Serjão, obrigada pelo apoio e torcida de vocês. Em especial à Lilian e ao Ruan, por toda ajuda com as análises de água e mesmo atolados de trabalho, estavam dispostos a ajudar com sorriso no rosto e boa vontade. Valeu gente, esse trabalho tem um pedacinho de cada um de vocês.

À UFRRJ, pela oportunidade de ingressar neste curso e concluir essa etapa.

Aos professores do PGEAAMB, agradeço a experiência e oportunidade de conhecimento. Em especial ao meu orientador, professor Henrique, por abraçar essa causa aos 45 do segundo tempo, sempre com empatia, respeito e carinho, em qualquer situação. Ao professor Sady, por aceitar compor a banca e contribuir com o trabalho. Obrigada!

À Ana Cristina, minha chefe, querida amiga e coorientadora. Gratidão por me apoiar sempre e por me transformar na profissional que sou hoje. Tudo que sei, devo a você. Obrigada por permitir e financiar a realização desse trabalho. Por entender minha ausência e segurar minha mão todas as vezes que pensei em desistir. Sei que você tá com muito orgulho e apesar de tudo, estou feliz por trazer essa contribuição para o nosso setor. Você é meu exemplo.

À querida Paulinha, eterna chefe (mesmo aposentada) e minha mãe de coração. Obrigada pela oportunidade que me deu há quase 20 anos de mudar minha vida pessoal e profissional. Gratidão por tudo que representa em minha vida. Você faz parte de todas as minhas conquistas e sei que está muito orgulhosa por ter concluído mais essa etapa. Obrigada por tudo! Você é meu maior exemplo de competência e dedicação nessa causa tão importante.

## RESUMO

O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos a nível mundial. O uso desses compostos químicos na agricultura ocasiona graves problemas ao meio ambiente, como contaminação de águas superficiais, subterrâneas e mananciais usados no abastecimento de água potável. O objetivo deste estudo foi avaliar o percentual de degradação dos agrotóxicos atrazina, clorpirifós, malationa, trifluralina, lambda-cialotrina, clorotalonil e trifloxistrobina em água superficial, na concentração de  $1 \text{ ng mL}^{-1}$ . A metodologia baseia-se em um sistema de oxidação química com aplicação de ozônio na concentração de  $2000 \text{ mg h}^{-1}$ , nos tempos de reação de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120 e 150 minutos, de acordo com o perfil de degradação de cada analito. Para a extração dos agrotóxicos em água, foram feitos experimentos de otimização e validação, por extração em fase sólida e posterior análise qualitativa e quantitativa por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, para verificar o percentual de degradação dos agrotóxicos. Em sequência, foi realizado um ensaio de toxicidade aguda com *Artemias salinas*, para verificar se as amostras apresentavam toxicidade mesmo após a ozonização. Como resultados, foram observados limites de detecção entre 0,011 e 0,164  $\text{ng mL}^{-1}$  e de quantificação entre 0,050 e 0,498  $\text{ng mL}^{-1}$  para o método de análise de agrotóxicos em água. A degradação por ozonização, atingiu 100% para os agrotóxicos atrazina, clorpirifós, malationa, trifluralina e lambda-cialotrina, em até 20 minutos de reação, sendo consideradas como “não tóxicas” para *Artemias salinas*. Trifloxistrobina atingiu 100% de degradação em 120 minutos de reação e clorotalonil teve o percentual máximo de degradação fixado em 84% em um tempo de 150 minutos. O ensaio de toxicidade da trifloxistrobina e do clorotalonil, considerou as amostras como “tóxicas” para *Artemias salinas*. Os resultados da cinética de degradação corroboraram com o ensaio de toxicidade aguda.

Palavras-chave: agrotóxicos, água superficial, ozônio, oxidação, degradação.



## ABSTRACT

Brazil is one of the largest consumers of pesticides worldwide. The use of these chemical compounds in agriculture causes serious problems for the environment, such as contamination of surface water, groundwater and springs used to supply drinking water. The objective of this study was to evaluate the degradation percentage of the pesticides atrazine, chlorpyrifos, malathion, trifluralin, lambda-cyhalothrin, chlorothalonil and trifloxystrobin in surface water, at a concentration of  $1\text{ ng mL}^{-1}$ . The methodology is based on a chemical oxidation system with application of ozone at a concentration of  $2000\text{ mg h}^{-1}$ , in reaction times of 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120 and 150 minutes, according to the degradation profile of each analyte. For the extraction of pesticides in water, optimization and validation experiments were carried out, by solid phase extraction and subsequent qualitative and quantitative analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry, to verify the percentage of degradation of pesticides. Subsequently, an acute toxicity test was carried out with *Artemia salinas*, to verify whether the samples showed toxicity even after ozonation. As a result, detection limits between  $0.011$  and  $0.164\text{ ng mL}^{-1}$  and quantification limits between  $0.050$  and  $0.498\text{ ng mL}^{-1}$  were observed for the method of analysis of pesticides in water. Degradation by ozonation reached 100% for the pesticides atrazine, chlorpyrifos, malathion, trifluralin and lambda-cyhalothrin, within 20 minutes of reaction, being considered “non-toxic” for *Artemia salinas*. Trifloxystrobin reached 100% degradation in 120 minutes of reaction and chlorothalonil had the maximum percentage of degradation fixed at 84% in a time of 150 minutes. The trifloxystrobin and chlorothalonil toxicity assay considered the samples to be “toxic” to *Artemia salinas*. The degradation kinetics results corroborated the acute toxicity test.

Keywords: pesticides, surface water, ozone, oxidation, degradation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Nova classificação toxicológica dos agrotóxicos (GHS).....	3
Figura 2: Algumas vias de contaminação de recursos hídricos.....	5
Figura 3: Total de agrotóxicos importados e exportados e valores por região.....	6
Figura 4: Uso de agrotóxicos por correlacionando classes e regiões. ....	7
Figura 5: Correlação do uso de agrotóxicos e países consumidores em 2020. ....	7
Figura 6: Esquema de Extração em Fase Sólida (EFS) .....	12
Figura 7: CG/EM-EM.....	21
Figura 8: Extração de agrotóxicos em água.....	24
Figura 9: Esquema do reator de ozônio - ROPP.....	29
Figura 10: Esquema degradação de agrotóxicos em água por ozonização.....	30
Figura 11: Cromatograma em full scan dos agrotóxicos a $5\mu\text{g mL}^{-1}$ .....	36
Figura 12: Cromatograma de íons totais dos agrotóxicos a $5\mu\text{g mL}^{-1}$ .....	36
Figura 13: Cromatograma em SRM extraído do software Trace Finder .....	37
Figura 14: Transições otimizadas dos agrotóxicos trifluralina, atrazina, clorotalonil, clorpirifós e malationa.....	39
Figura 15: Transições otimizadas dos agrotóxicos trifloxistrobina e lambda-cialotrina.....	40
Figura 16: Fluxograma do método de análise de agrotóxicos em água.....	42
Figura 17: Curvas de degradação dos agrotóxicos atrazina, clorpirifós, malationa e trifluralina .....	57
Figura 18: Curvas de degradação dos agrotóxicos lambda-cialotrina, clorotalonil e trifloxistrobina. ....	58
Figura 19: Análise antes e depois da ozonização comprovando a degradação .....	59
Figura 20: Ensaio de toxicidade aguda com <i>Artemias salinas</i> .....	62
Figura 21: Replicatas do ensaio de toxicidade - Controles .....	63
Figura 22: Replicatas do ensaio de toxicidade - Atrazina .....	64
Figura 23: Replicatas do ensaio de toxicidade - Malationa.....	66
Figura 24: Replicatas do ensaio de toxicidade - Trifluralina.....	68
Figura 25: Replicatas do ensaio de toxicidade - Clorpirifós .....	70
Figura 26: Replicatas do ensaio de toxicidade – lambda-Cialotrina .....	72
Figura 27: Replicatas do ensaio de toxicidade - Clorotalonil.....	74
Figura 28: Replicatas do ensaio de toxicidade - Trifloxistrobina.....	76
Figura 29: Comparativo da toxicidade em 24 e 48 horas de todos os agrotóxicos .....	78
Figura 30: Toxicidade em 24 e 48 horas dos agrotóxicos individualmente .....	79

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações dos agrotóxicos nas soluções-estoque.....	18
Tabela 2: Volumes aliqtados das soluções-estoque de cada analito de acordo com os pontos da curva de calibração. ....	20
Tabela 3: Concentração dos analitos em cada ponto de fortificação.....	22
Tabela 4: Condições experimentais do ensaio de toxicidade aguda com <i>Artemias salinas</i> . .....	33
Tabela 5: Condições cromatográficas e espectrométricas otimizadas.....	35
Tabela 6: Características dos agrotóxicos avaliados. ....	38
Tabela 7: Percentual de recuperação e coeficiente de variação entre as replicatas dos analitos, nos 4 testes de otimização da metodologia de análise de agrotóxicos em água. ....	41
Tabela 8: Equação da reta da curva em acetona. ....	43
Tabela 9: Equação da reta da curva em água.....	44
Tabela 10: Sensibilidade expressa pelo coeficiente angular da equação da reta em água. .....	44
Tabela 11: Limites de detecção e quantificação do método.....	45
Tabela 12: Percentual de recuperação do método. ....	45
Tabela 13: Experimento 1 – Trifluralina. ....	46
Tabela 14: Experimento 1 – Clorotalonil. ....	47
Tabela 15: Experimento 1 – Atrazina.....	47
Tabela 16: Experimento 1 – Clorpirifós.....	47
Tabela 17: Experimento 1 – Trifloxistrobina. ....	48
Tabela 18: Experimento 1 – Malationa. ....	48
Tabela 19: Experimento 1 – lambda-Cialotrina. ....	48
Tabela 20: Experimento 2 – Atrazina.....	49
Tabela 21: Experimento 2 – Trifluralin.....	49
Tabela 22: Experimento 2 – Clorpirifós.....	50
Tabela 23: Experimento 2 – Malationa.....	50
Tabela 24: Experimento 2 – lambda-Cialotrina.....	50
Tabela 25: Experimento 2 – Clorotalonil.....	51
Tabela 26: Experimento 2 – Trifloxistrobina.....	51
Tabela 27: Experimento 3 – Atrazina.....	52
Tabela 28: Experimento 3 – Clorpirifós.....	52
Tabela 29: Experimento 3 – Malationa.....	53

Tabela 30: Experimento 3 – Trifluralina .....	53
Tabela 31: Experimento 3 – lambda-Cialotrina .....	54
Tabela 32: Experimento 4 – Atrazina.....	54
Tabela 33: Experimento 4 – Trifluralina. ....	55
Tabela 34: Experimento 4 – Clorpirifós.....	55
Tabela 35: Experimento 4 – Malationa. ....	55
Tabela 36: Experimento 4 – lambda-Cialotrina. ....	56
Tabela 37: Experimento 4 – Clorotalonil. ....	56
Tabela 38: Experimento 4 – Trifloxistrobina. ....	56
Tabela 39: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Atrazina.....	64
Tabela 40: Estatística descritiva - Atrazina. ....	65
Tabela 41: Teste Mann Whitney – Atrazina .....	65
Tabela 42: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Malationa .....	66
Tabela 43: Estatística descritiva – Malationa .....	67
Tabela 44: Teste Mann Whitney – Malationa .....	67
Tabela 45: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Trifluralina .....	68
Tabela 46: Estatística descritiva – Trifluralina.....	69
Tabela 47: Teste Mann Whitney – Trifluralina .....	69
Tabela 48: Comparativo mortalidade 24 e 48h do Clorpirifós.....	70
Tabela 49: Estatística descritiva – Clorpirifós.....	71
Tabela 50: Teste Mann Whitney – Clorpirifós.....	71
Tabela 51: Comparativo mortalidade 24 e 48h da lambda-Cialotrina.....	72
Tabela 52: Estatística descritiva – lambda-Cialotrina .....	73
Tabela 53: Teste Mann Whitney – lambda-Cialotrina .....	73
Tabela 54: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Clorotalonil .....	74
Tabela 55: Estatística descritiva – Clorotalonil.....	75
Tabela 56: Teste Mann Whitney – Clorotalonil .....	75
Tabela 57: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Trifloxistrobina .....	76
Tabela 58: Estatística descritiva – Trifloxistrobina.....	77
Tabela 59: Teste Mann Whitney – Trifloxistrobina .....	77
Tabela 60: Comparativo mortalidade 24 e 48h todos os agrotóxicos.....	78
Tabela 61: Resumo da análise estatística do ensaio de toxicidade aguda .....	80

## **SIGLÁRIO**

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

GHS – Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals

EPA – Environmental Protection Agency

EFS – Extração em Fase Sólida

ROPP – Reator com aplicação de Ozônio e Preenchimento Plástico

SRM - Selected Reaction Monitoring

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

FAO - Food and Agriculture Organization

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

PPDB - Pesticide Properties Database

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

CG/EM-EM – Cromatografia em Fase Gasosa com Espectrometria de Massas

LQ – Limite de Quantificação

LD – Limite de Detecção

MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária

MMA – Ministério do Meio Ambiente

MS – Ministério da Saúde

SUS – Sistema Único de Saúde

SISAGUA - Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano

VIGIAGUA - Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>2</b>
2.1 Agrotóxicos – definição e classificação .....	2
2.2 Contaminação de recursos hídricos por agrotóxicos: danos ao meio ambiente e à saúde humana .....	3
2.3 O uso de agrotóxicos no Brasil e no mundo .....	5
2.4 Agrotóxicos selecionados – saúde humana, destino ambiental e ecotoxicidade .....	9
2.5 A vigilância da água para consumo humano no Brasil .....	11
2.6 Técnicas analíticas para análise de agrotóxicos em água – Extração em Fase Sólida (EFS) e Cromatografia em fase Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas com triplo quadrupolo (CG/EM-EM) .....	12
2.6.1 <i>Extração em Fase Sólida (EFS)</i> .....	12
2.7 Validação de métodos analíticos .....	13
2.7.1 <i>Linearidade e sensibilidade</i> .....	13
2.7.2 <i>Limite de Detecção</i> .....	14
2.7.3 <i>Limite de Quantificação</i> .....	14
2.7.4 <i>Tendência / Recuperação</i> .....	15
2.8 Técnicas analíticas para degradação de agrotóxicos através de processos oxidativos avançados .....	15
<b>3. MATERIAIS E MÉTODO .....</b>	<b>17</b>
3.1 Seleção dos agrotóxicos escolhidos .....	17
3.2 Preparo das soluções dos padrões de agrotóxicos selecionados .....	18
3.3 Preparo da curva de calibração do equipamento .....	19
3.4 Otimização das condições cromatográficas e espectrométricas .....	20
3.5 Parâmetros de validação de métodos analíticos .....	21
3.5.1 <i>Linearidade e sensibilidade</i> .....	21
3.5.2 <i>Limite de Detecção</i> .....	22
3.5.3 <i>Limite de Quantificação</i> .....	23
3.5.4 <i>Recuperação</i> .....	23
3.6 Otimização da metodologia de extração de agrotóxicos em água por SPE .....	24
3.6.1 <i>Principais modificações feitas entre os testes de otimização</i> .....	26
3.6.2 <i>Descrição do TESTE 4 (método otimizado e validado):</i> .....	27
3.7 Otimização do método de ozonização em água potável para remoção de agrotóxicos .....	28
3.7.1 <b>Experimento 1: verificação da degradação dos analitos com</b> divisão do fluxo de O <sub>3</sub> .....	30
3.7.2 <b>Experimento 2: verificação da degradação dos analitos sem</b> divisão do fluxo de O <sub>3</sub> .....	31
3.7.3 <b>Experimento 3: Primeira curva de degradação – exploratória.</b> .....	31
3.7.4 <b>Experimento 4: Segunda curva de degradação – confirmatória</b> .....	31

3.8	Ensaio de toxicidade com <i>Artemia salina</i> .....	32
3.9	Análises estatísticas dos resultados .....	33
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
4.1	Otimização das condições cromatográficas e espectrométricas .....	34
4.2	Otimização do método de extração de agrotóxicos em água por EFS .....	40
4.3	Parâmetros da validação da metodologia empregados ao teste 4... 43	
4.3.1	<i>Linearidade e sensibilidade</i> .....	43
4.3.2	<i>Limite de Detecção do Método (LDM) e Limite de Quantificação do Método (LQM)</i> .....	45
4.3.3	<i>Recuperação</i> .....	45
4.4	Método de ozonização em água potável para degradação de agrotóxicos .....	46
4.4.1	<b>Experimento 1:</b> verificação da degradação dos analitos <b>com</b> divisão do fluxo de O <sub>3</sub> .....	46
4.4.2	<b>Experimento 2:</b> verificação da degradação dos analitos <b>sem</b> divisão do fluxo de O <sub>3</sub> .....	49
4.4.3	<b>Experimento 3:</b> Primeira curva de degradação – exploratória. 51	
4.4.4	<b>Experimento 4:</b> Segunda curva de degradação – confirmatória 54	
4.4.5	<i>Análise full scan das amostras com degradação completa</i> .....	61
4.5	Ensaio de toxicidade aguda com <i>Artemias salina</i> .....	61
4.5.1	<i>Controles</i> .....	62
4.5.2	<i>Atrazina</i> .....	64
4.5.3	<i>Malationa</i> .....	66
4.5.4	<i>Trifluralina</i> .....	68
4.5.5	<i>Clorpirifós</i> .....	70
4.5.6	<i>lambda-Cialotrina</i> .....	72
4.5.7	<i>Clorotalonil</i> .....	74
4.5.8	<i>Trifloxistrobina</i> .....	76
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>81</b>
	<b>ANEXO 1.....</b>	<b>88</b>
	<b>ANEXO 2.....</b>	<b>89</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta controle regulatório sobre os agrotóxicos, que vem sendo atenuado ao longo dos anos, se tornando permissivo, e como consequência, trazendo-o para o patamar de um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo. Essa condição confere ao país, uma atenção maior frente às contaminações ambientais ocasionadas por esses produtos, tornando-se um problema de saúde pública a nível global (PANIS et al., 2022).

Apesar de reconhecida a importância do agronegócio para a economia mundial, o uso de agrotóxicos na agricultura ocasiona problemas graves ao meio ambiente e à saúde humana. Como principais impactos ambientais, destaca-se a contaminação de diversos recursos hídricos como águas superficiais, subterrâneas e mananciais usados no abastecimento de água potável (EL-NAHHAL; EL-NAHHAL, 2021; MONTAGNER et al., 2019; RAJMOHAN; CHANDRASEKARAN; VARJANI, 2020).

As águas superficiais com resíduos de agrotóxicos, apresentam composição complexa, substâncias tóxicas e alta concentração de compostos orgânicos. Esses contaminantes podem atingir os corpos hídricos através de aplicação ou pulverização aérea de agrotóxicos ou resíduos indústrias agrícolas (LIU et al., 2019).

Os processos de oxidação avançado (POA), têm sido uma ferramenta fundamental para o tratamento de corpos hídricos. As técnicas mais emergentes e avançadas incluem oxidação com ozônio e tratamento com carvão ativado (MA et al., 2021). O processo de ozonização tem sido eficiente devido à sua capacidade de oxidar os poluentes, além do baixo custo. Existem diferentes tipos de reações de ozônio, com o uso de luz e outra com combinação com peróxido de hidrogênio que ocorre em pH elevado. A oxidação acontece devido ao resultado de múltiplas reações com os radicais hidroxila. Radical ânion superóxido e o radical hidroxila são formados como resultado desta reação (GORITO et al., 2021).

Dessa maneira, o objetivo do presente estudo foi avaliar o percentual de degradação de agrotóxicos em águas superficiais contaminadas a  $1 \text{ ng mL}^{-1}$ , previamente selecionados de acordo com consumo nacional e toxicidade, através de um sistema de oxidação avançado com aplicação de ozônio, em diferentes tempos de reação, com identificação e quantificação dos compostos e seus produtos de degradação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com triplo quadrupolo e posterior avaliação da qualidade da água através do ensaio de toxicidade aguda com *Artemias salinas*.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Agrotóxicos – definição e classificação

O termo **agrotóxico** é definido na legislação brasileira como:

[...] produto e agente de processos físicos, químicos ou biológicos, destinado ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substância e produto empregado como desfolhante, dessecante, estimulador e inibidor de crescimento (BRASIL. LEI N° 7802, 1989)

Frente ao amplo comércio mundial destes produtos químicos, a Organização das Nações Unidas, precisou desenvolver programas nacionais que garantissem o uso, transporte e descarte seguros destas substâncias, aumentando a proteção da saúde humana e do meio ambiente. Assim, foi implementado no ano de 2017, o GHS (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*), um sistema internacional e harmonizado que classifica os produtos químicos de acordo com os riscos físicos e toxicidade, com informações que deveriam ser claras sobre a periculosidade, seja descrito e com pictogramas de advertência universais contidos nos rótulos das embalagens, seja nas fichas de segurança. (GHS UNECE, 2019)

Em 2019, a Anvisa publicou, a reclassificação toxicológica dos agrotóxicos registrados no Brasil, de acordo com o que é estabelecido pelo GHS. Neste novo contexto, 1.942 produtos foram avaliados e 1.924, reclassificados como: *extremamente tóxicos* (43), *altamente tóxicos* (79), *moderadamente tóxicos* (136), *pouco tóxicos* (599), *produtos improváveis de causar dano agudo* (899) e por último, na categoria de “*não classificados*” (68). (ANVISA, 2019)

A Figura 1, descreve a nova classificação, correlacionando as categorias e suas respectivas cores, a descrição da toxicidade e os pictogramas de advertência dos riscos.

<b>Categoria I</b>	<b>EXTREMAMENTE TÓXICOS</b> Fatal - ingestão, inalação ou contato com a pele.	
<b>Categoria II</b>	<b>ALTAMENTE TÓXICOS</b> Fatal - ingestão, inalação ou contato com a pele. A diferença dessa categoria para anterior, está na quantidade do produto.	
<b>Categoria III</b>	<b>MODERADAMENTE TÓXICOS</b> Tóxico - ingestão, inalação ou contato com a pele.	
<b>Categoria IV</b>	<b>POUCO TÓXICO</b> Nocivo - ingestão, inalação ou contato com a pele.	
<b>Categoria V</b>	<b>IMPROVÁVEL DE CAUSAR DANO AGUDO</b> Pode ser perigoso - ingestão, inalação ou contato com a pele.	SEM PICTOGRAMA
<b>Não classificado</b>	Sem advertência.	SEM PICTOGRAMA

Figura 1: Nova classificação toxicológica dos agrotóxicos (GHS)

Fonte: readaptado de ANVISA, 2019

## 2.2 Contaminação de recursos hídricos por agrotóxicos: danos ao meio ambiente e à saúde humana

Os agrotóxicos são amplamente utilizados na agricultura com o objetivo de prevenir, controlar ou repelir pragas nas lavouras e regular o crescimento das plantas (EPA, 2023), garantindo o aumento da produtividade das culturas e diminuição de perdas nas colheitas. Dentre os mais utilizados, destacam-se os herbicidas, inseticidas, fungicidas e neonicotinoides. (SHARMA et al., 2019a)

Apesar de reconhecida a importância do agronegócio para a economia mundial, o uso de agrotóxicos na agricultura ocasiona problemas graves ao meio ambiente e à saúde humana. Como principais impactos ambientais, destaca-se a contaminação de diversos recursos hídricos como águas superficiais, subterrâneas e mananciais usados no abastecimento de água potável (EL-NAHHAL; EL-NAHHAL, 2021; MONTAGNER et al., 2019; RAJMOHAN; CHANDRASEKARAN; VARJANI, 2020). Muitas vezes, essas substâncias são lançadas direto

no solo (MORILLO; VILLAYERDE, 2017) ou pulverizadas nas plantações, sendo carregadas pelas chuvas e atingindo lençóis freáticos (DONG et al., 2021). A contaminação também pode ocorrer por diversas vias de transporte como drenagem, escoamento artificial, descarte de embalagens contaminadas ou lavagens de equipamentos de pulverização em rios, riachos ou lagoas, cultivos às margens desses mananciais ou ainda deriva de pulverização aérea, atingido organismos não-alvo que fazem parte do ambiente aquático, podendo em alguns casos bioacumular diretamente na água (agrotóxicos polares) ou em sedimentos (agrotóxicos apolares) (BUENO; CUNHA; DE SANTANA, 2017; DE SOUZA et al., 2020; SHARMA et al., 2019).

Após a aplicação, os agrotóxicos passam por diversos processos físicos, químicos e biológicos, que acontecem de forma relacionada ou individual e determinam o seu destino. Esses processos podem ser: adsorção, dessorção, mobilidade, degradação e absorção pelas plantas. O tipo de processo vai depender das características físico-químicas e o tipo de solo, da concentração do agrotóxico e das condições climáticas no período da aplicação (MARTÍNEZ-ESCUDERO et al., 2022).

De acordo com um relatório sobre uso de agrotóxicos e sua associação com a saúde humana, divulgado pela *United States Environmental Protection Agency (USEPA)*, eles podem causar vários efeitos adversos (agudos ou crônicos), tais como distúrbios nos sistemas nervoso, imunológico e endócrino. Os efeitos agudos mais comuns podem ter sintomas como: ardência nos olhos, cegueira, tremores, erupções cutâneas, náuseas etc. (LEE; CHOI, 2020). Já os crônicos, incluem diferentes tipos de câncer, deficiências congênitas, imunotoxicidade, toxicidade neurológica, dentre outros (LEE; CHOI, 2020). Além da USEPA, a *Agricultural Health Study*, instituição com diversas publicações sobre o impacto da exposição humana a agrotóxicos, destaca alguns efeitos crônicos mais específicos como o aumento do risco de disfunção da tireoide, incluindo câncer (PARKS et al., 2019), risco de cânceres hematológicos e suas condições precursoras (LERRO et al., 2021), função renal alterada e risco de carcinoma renal (SHEARER et al., 2021), alta incidência de doença de Parkinson (SHRESTHA et al., 2020), além de evidência de ocorrência de distúrbio imunológico (PARKS et al., 2019).

A Figura 2, ilustra algumas vias de contaminação de recursos hídricos.

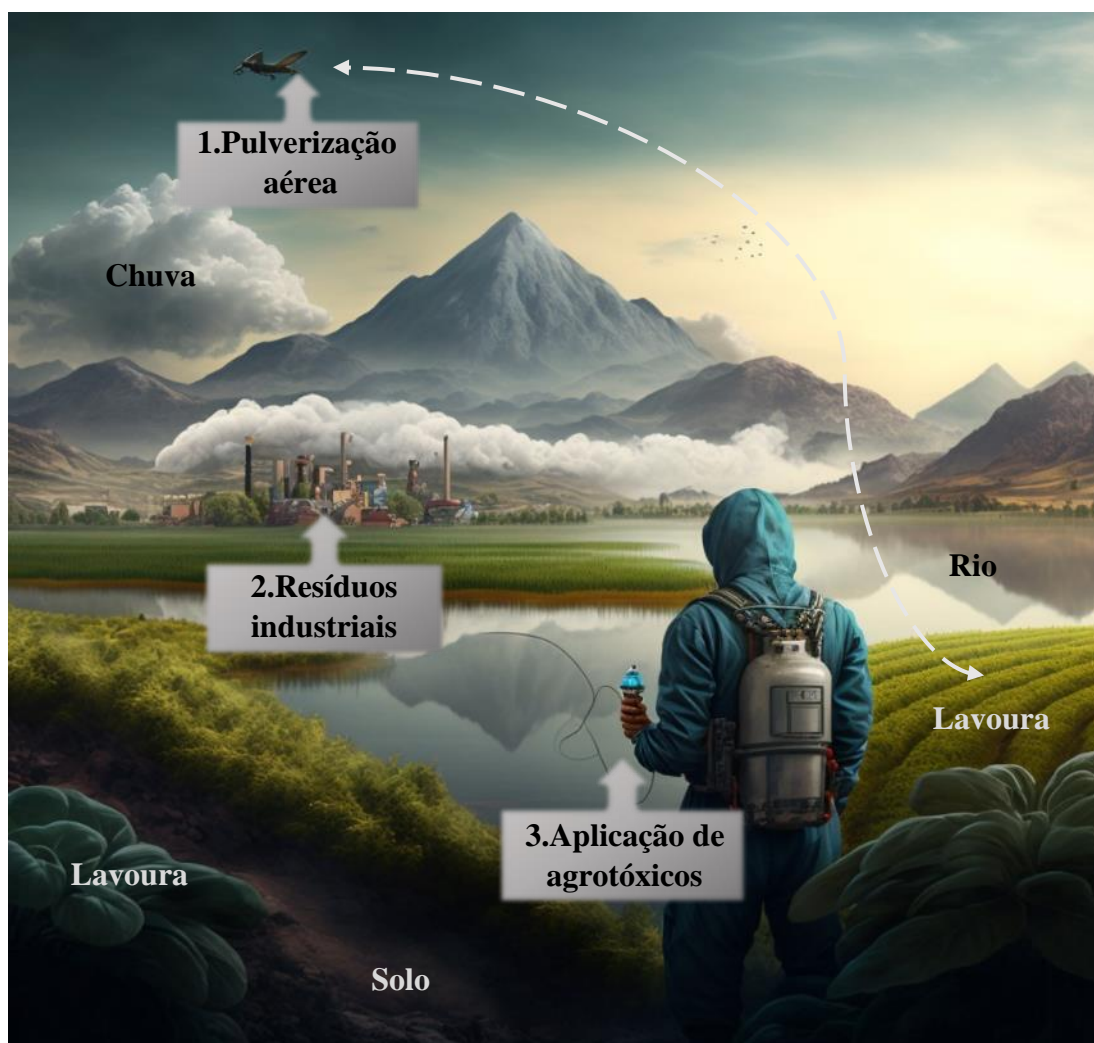


Figura 2: Algumas vias de contaminação de recursos hídricos.

Fonte: a autora

### 2.3 O uso de agrotóxicos no Brasil e no mundo

Segundo a *FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)* em seu último relatório disponibilizado em 2022, o uso total de agrotóxicos na agricultura, a nível mundial, manteve-se o mesmo que em 2020, tendo consumo estimado em 2,7 milhões de toneladas, aplicação por área de cultivo de 1,8 kg/ha e valor de US\$ 41,1 bilhões.

Os quatro gráficos demonstrados na Figura 3, relacionam-se com exportação e importação de agrotóxicos e seus respectivos valores. É notório uma crescente no consumo desde a década de 90, tendo o continente Asiático superado o Europeu nas exportações, no ano de 2020, porém este se manteve com maior lucro em comparação aos demais continentes. Em

contrapartida, no que tange às importações de ingredientes ativos, o continente Europeu superou os demais tanto nas importações quanto nos lucros, seguido do Americano, Asiático, Africano e Oceania.

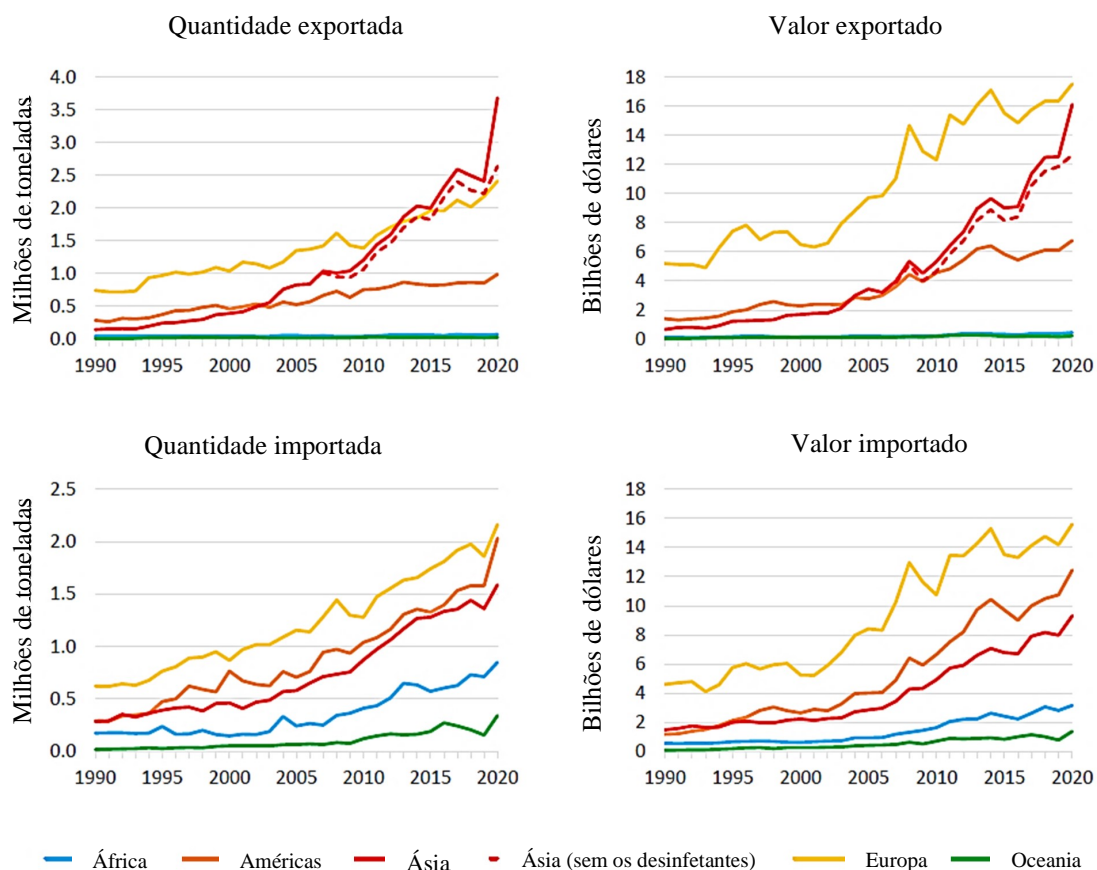


Figura 3: Total de agrotóxicos importados e exportados e valores por região

Fonte: (FAO, 2022)

A Figura 4 representa o aumento do uso de herbicidas na última década, em todos os continentes, destacando-se o Americano e Oceania com aproximadamente 70% de seu consumo, referente a esta classe de agrotóxicos. Em menor escala aparecem os fungicidas e bactericidas, inseticidas e outras classes. (FAO, 2022)

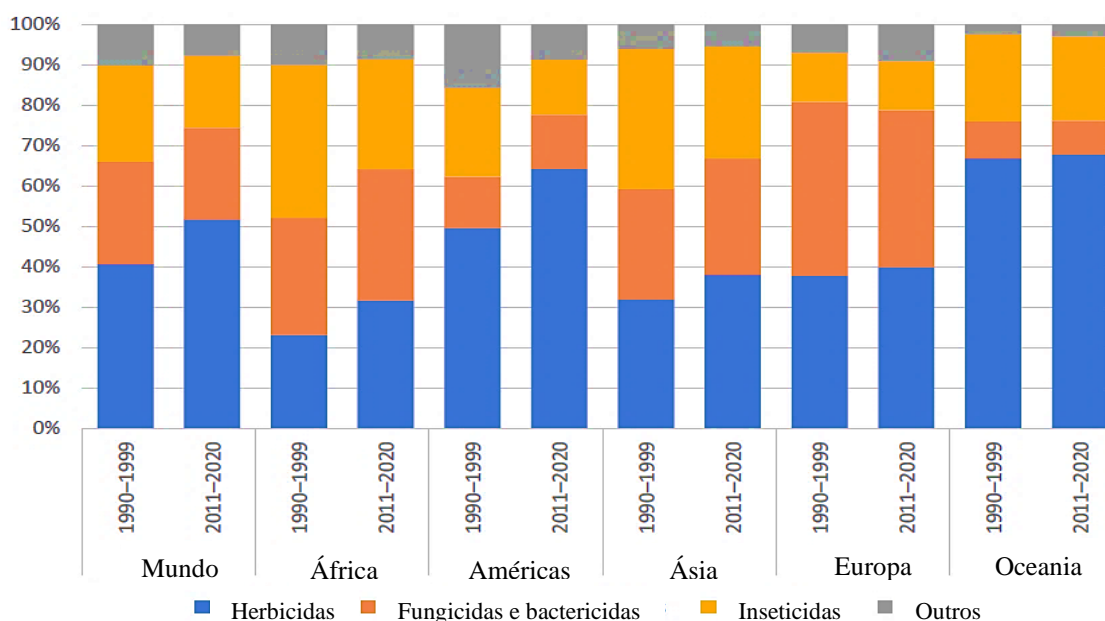


Figura 4: Uso de agrotóxicos por correlacionando classes e regiões.

Fonte: (FAO, 2022)

A Figura 5 contrasta com a realidade apresentada na figura anterior que a ponta a Oceania como maior consumidor de herbicidas da última década. Ao correlacionar o uso com países consumidores, no ano de 2020, destacam-se os EUA com aproximadamente 400.000 toneladas e o Brasil com 350.000 toneladas em média. (FAO, 2022)

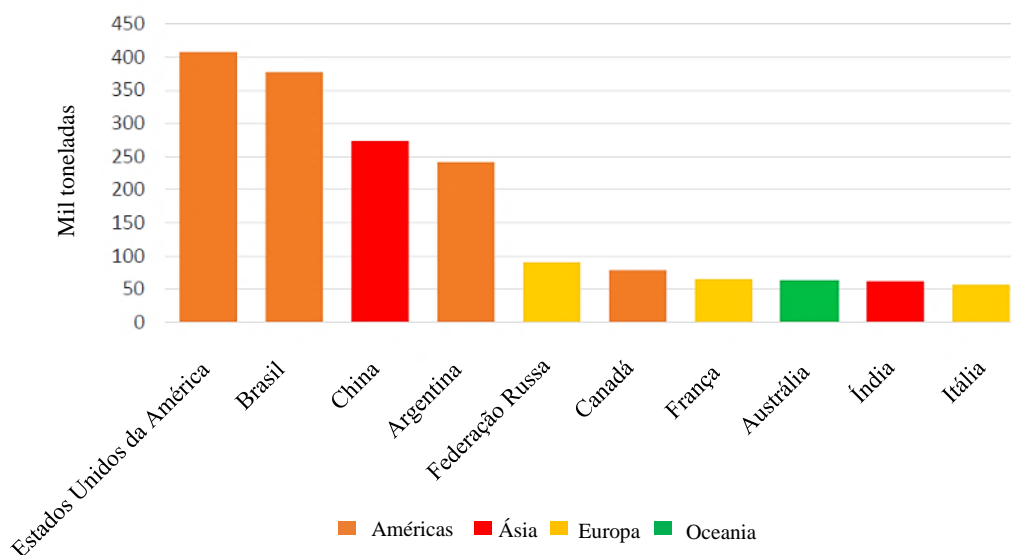


Figura 5: Correlação do uso de agrotóxicos e países consumidores em 2020.

Fonte: (FAO, 2022)

É evidente que o agronegócio movimenta bilhões de dólares por ano e contribui com mais de 20% do PIB nacional, fato que tem impulsionado cada vez mais o uso de agrotóxicos na agricultura para garantir o aumento e sucesso da produção, tornando o Brasil, um dos maiores consumidores destes compostos químicos (CEPEA - USP, 2023).

Segundo dados do LSPA - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, IBGE, em novembro de 2022, a produção nacional atingiu aproximadamente 260 milhões de toneladas, com área a ser colhida de aproximadamente 73 milhões de hectares. Os principais produtos com valores estimados de produção são: soja (120 milhões de toneladas), milho (110 milhões de toneladas), arroz (10 milhões de toneladas), trigo (10 milhões de toneladas), algodão herbáceo (4 milhões de toneladas). Soja e milho representam juntos aproximadamente 90% da produção e quase 90% da área a ser colhida.

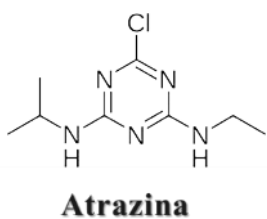
Nesse levantamento feito pelo IBGE, é possível ver os estados brasileiros que mais produzem. Em destaque o estado do Mato Grosso como o maior produtor nacional de grãos, tendo uma participação de 28,3%, seguido pelo Rio Grande do Sul com 14,9%, Paraná com 13,1%, Goiás com 10,0%, Mato Grosso do Sul com 7,5% e Minas Gerais com 6,0%, que, somados, representaram quase 80% do total nacional. Em relação a essa distribuição pelas regiões brasileiras, tem-se a configuração de: Centro-Oeste (46,1%), Sul (30,4%), Sudeste (9,9%), Nordeste (9,1%) e Norte (4,5%). (IBGE, 2022)




Os dados apresentados acima, corroboram com os apresentados pelo IBAMA, em sua mais recente publicação, sobre o consumo de agrotóxicos no Brasil no ano de 2022. De acordo com este órgão, as classes de agrotóxicos mais vendidas foram os herbicidas, em torno de 400 mil toneladas, seguidos de fungicidas e inseticidas com aproximadamente 100 mil e 80 mil toneladas, respectivamente. É possível verificar um ranking dos 10 ingredientes ativos mais vendidos, destacando-se o glifosato e seus sais, 2,4-D, mancozebe, clorotalonil, atrazina, acefato, malationa, cletodim, enxofre e s-metolaclor, nesta ordem de apresentação, do 1º ao 10º lugar. (IBAMA, 2022)

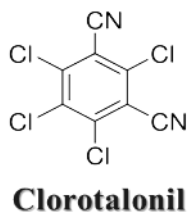
Pode-se perceber diante do exposto, que o grande aumento na produção nacional está diretamente relacionado à quantidade de agrotóxicos consumida. Tomando como exemplo o estado do Mato Grosso, que é o maior produtor nacional de grãos, essa relação fica bem evidente. Segundo o IBAMA, o consumo total de agrotóxicos deste estado superou 120 mil toneladas e dessas, quase 70 mil são do glifosato, que ocupa a primeira posição no ranking dos mais vendidos.




## 2.4 Agrotóxicos selecionados – saúde humana, destino ambiental e ecotoxicidade

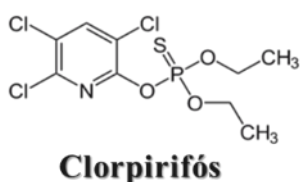
O esquema abaixo, exemplifica algumas características dos compostos que são objetos deste estudo, bem como o sinal de alerta em relação à toxicidade quando relacionados à saúde humana (**H**), destino ambiental (**A**) e ecotoxicidade (**E**). O vermelho indica **alta** toxicidade e o amarelo, **moderada**. (PESTICIDE PROPERTIES DATABASE - PPDB, 2023)






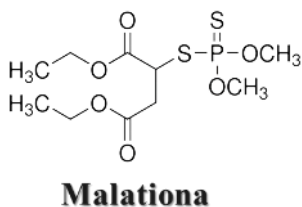
-  **H** – Desregulador endócrino. Irritante para pele, olhos e aparelho respiratório.
-  **A** – Baixa solubilidade aquosa, volátil e pode lixiviar para águas subterrâneas.
-  **E** – Tóxico para vida aquática, minhocas e abelhas.






-  **H** – Desregulador endócrino. Cancerígeno. Efeitos na reprodução e no desenvolvimento.
-  **A** – Baixa solubilidade aquosa, volátil e não é persistente no solo, mas pode ser em água.
-  **E** – Tóxico para pássaros, minhocas e abelhas.

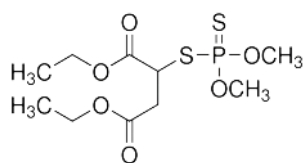


-  **H** – Neurotóxico, inibidor da acetilcolinesterase. Efeitos na reprodução e no sistema endócrino.
-  **A** – Baixa solubilidade aquosa, volátil e é persistente no solo, mas não na água.
-  **E** – Tóxico para pássaros, abelhas e invertebrados aquáticos.



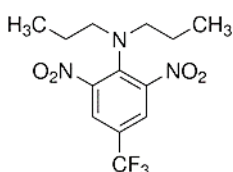
-  **H** – Neurotóxico, inibidor da acetilcolinesterase. Desregulador endócrino.
-  **A** – Solubilidade aquosa, volátil e não é persistente no solo e nem em ambientes aquáticos.
-  **E** – Tóxico para abelhas e espécies aquáticas, exceto algas.





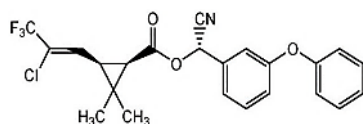
**Malationa**

- **H** – Neurotóxico, inibidor da acetilcolinesterase. Desregulador endócrino.
- **A** – Solubilidade aquosa, volátil e não é persistente no solo e nem em ambientes aquáticos.
- **E** – Tóxico para abelhas e espécies aquáticas, exceto algas.



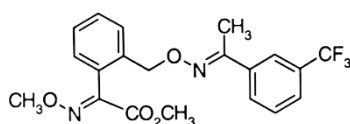
**Trifluralina**

- **H** – Desregulador endócrino. Efeitos na reprodução e no desenvolvimento.
- **A** – Persistente no solo e em ambientes aquáticos.
- **E** – Ecotoxicidade aguda em peixes.



**lambda-Cialotrina**

- **H** – Toxicidade aguda em mamíferos.
- **A** – Baixa solubilidade em água, relativamente volátil.
- **E** – Tóxico para peixes, invertebrados aquáticos e abelhas.



**Trifloxistrobina**

- **H** – Efeitos na reprodução e no desenvolvimento.
- **A** – Baixa solubilidade aquosa, não é persistente no solo nem ambiente aquático.
- **E** – Tóxico para pássaros, peixes e invertebrados aquáticos.

A seleção dos agrotóxicos deste estudo, baseou-se em critérios que serão detalhados no capítulo 3 da metodologia.

A tabela 6, mostra outras características mais detalhadas de cada analito, de forma individualizada. Está no capítulo 4 dos resultados e discussão por ter sido elaborada após a definição das condições cromatográficas e espectrométricas.

## **2.5 A vigilância da água para consumo humano no Brasil**

A Lei nº 7.802 de 11 de julho 1989 regulamenta o uso de agrotóxicos no país. Também disserta, dentre outros fatores, sobre a produção, utilização e destino das embalagens, bem como controle e fiscalização. Foi regulamentada pelo Decreto nº 4.070 de 4 de janeiro de 2002, determinando ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), ao Ministério do Meio Ambiente (MMA) e ao Ministério da Saúde (MS), dentre outras responsabilidades, o estabelecimento do limite máximo de resíduos e o intervalo de concentração de segurança dos agrotóxicos e afins.

A Portaria de GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, em seu anexo XX, estabelece os padrões de potabilidade da água no país, incluindo os valores máximos permitidos (VMP) para a concentração de agrotóxicos em águas de abastecimento humano. Em 04 de maio do 2021, o anexo XX foi alterado pela Portaria GM/MS nº 888 e mais agrotóxicos passaram a ser monitorados, totalizando 40 parâmetros estabelecidos pela portaria, incluindo os metabólitos e isômeros de alguns dos princípios ativos.

A vigilância da qualidade da água é coordenada pelo Ministério da Saúde através do Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para consumo Humano (VIGIAGUA), cujos resultados são sistematizados no SISAGUA (Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano), sendo este um instrumento do Ministério da Saúde para avaliação da qualidade da água fornecida pelas concessionárias de abastecimento de água, bem como das ações Vigilâncias Ambientais estaduais e municipais objetivando auxiliar o gerenciamento de riscos à saúde associados à qualidade da água destinada ao consumo humano, integrando parte das ações de prevenção de agravos e de promoção da saúde, previstas no Sistema Único de Saúde (SUS). O sistema é alimentado com dados inseridos rotineiramente pelos profissionais do setor saúde (Vigilância) e pelas concessionárias responsáveis pelos serviços de abastecimento de água (Controle) e permite a geração de relatórios sobre as formas de abastecimento utilizadas pela população e a respectiva qualidade da água consumida (SISAGUA, 2023; VIGIAGUA, 2023).

Determinando o princípio ativo, é possível através da estrutura química e suas respectivas propriedades físico-químicas, indicar a dinâmica do composto no ambiente, incluindo sua mobilidade e degradação, analisando o potencial de contaminação das águas por

meio de modelagem matemática. Os resultados desses estudos normalmente são apresentados na forma de índices e intervalos numéricos, tais como os critérios da Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (EPA, *Environmental Protection Agency*), o índice de vulnerabilidade de águas subterrâneas (GUS) (*Groundwater Ubiquity Score*) e o método de Goss, que são os critérios de avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais.

Sendo assim, o principal mecanismo para avaliar esse impacto é a promoção de políticas voltadas à saúde e ao meio ambiente e realizar o monitoramento da qualidade da água (SZÉKÁCS; MÖRTL; DARVAS, 2015), sendo este último, feito através de análises laboratoriais periódicas da água e/ou solo, de acordo com os agrotóxicos utilizados em determinada cultura (FERREIRA FILIZOLA et al., 2002; POSSAVATZ et al., 2014)

## 2.6 Técnicas analíticas para análise de agrotóxicos em água – Extração em Fase Sólida (EFS) e Cromatografia em fase Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas com triplo quadrupolo (CG/EM-EM)

### 2.6.1 Extração em Fase Sólida (EFS)

A EFS, surgiu por volta dos anos 70 e é uma das principais técnicas de preparo de amostras de matrizes mais complexas, tanto biológicas como ambientais (LANÇAS, 2004).

O processo de extração em fase sólida, compreende 4 etapas: condicionamento do cartucho para recebimento da amostra, adição da amostra, lavagem para remoção de interferentes e eluição dos analitos de interesse. As etapas estão ilustradas na Figura 6.

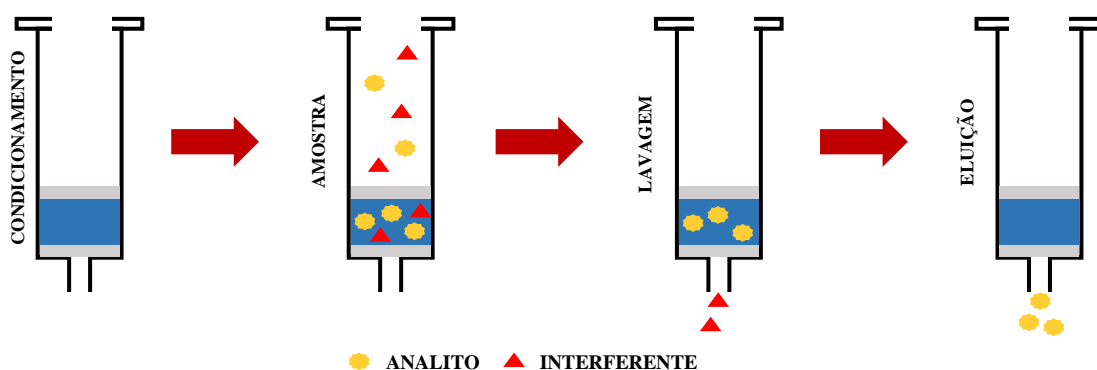


Figura 6: Esquema de Extração em Fase Sólida (EFS)

Fonte: adaptado de (LANÇAS, 2004).

No processo de extração (Figura 6), o cartucho contendo a sílica ideal para os analitos de interesse, é condicionado com solventes orgânicos, com o objetivo de ativá-lo para o recebimento da amostra. Na próxima etapa do processo, ocorre a adição da amostra e os analitos ficam aprisionados no cartucho, devido às suas interações com a fase sólida. A etapa de lavagem pode ser adicionada ou dispensada do processo, dependendo do tipo de matriz a ser trabalhada e os prováveis interferentes advindos da mesma. Caso seja necessária a etapa de lavagem, deve ser feita com um solvente capaz de remover apenas os interferentes e manter os analitos. A última etapa, consiste na eluição dos analitos retidos nos processos anteriores. Nesse momento, é imprescindível fazer uso de um solvente mais potente que seja capaz de carrear os analitos (ANDRADE-EIROA et al., 2016).

Esta técnica apresenta excelente recuperação e eficiência em relação à extração de agrotóxicos, sendo a mais adequada para este trabalho.

## **2.7 Validação de métodos analíticos**

De acordo com a orientação do Inmetro para a validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008, revisão 09, junho de 2020), os métodos utilizados em laboratório devem estar adequados ao uso pretendido. Portanto, devem ser validados métodos não normalizados, métodos criados/desenvolvidos pelo próprio laboratório, métodos normalizados usados fora dos escopos para os quais foram concebidos, além de ampliações e modificações de métodos normalizados. Os parâmetros de validação, bem como os critérios de aceitação, devem ser estabelecidos previamente à validação, devendo ser considerada sua aplicabilidade ou não. São eles: seletividade, linearidade (faixa de trabalho, faixa linear de trabalho), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), tendência/recuperação, precisão (repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade), robustez, sendo este parâmetro considerado opcional (INMETRO, 2020).

### *2.7.1 Linearidade e sensibilidade*

A linearidade é o parâmetro do método analítico capaz de produzir resultados que são diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em determinada faixa de

trabalho. Após a identificação, a sua qualificação depende da relação entre a concentração dos analitos pesquisados e a resposta do detector para cada um deles.

É comum determinar a sensibilidade durante a avaliação da linearidade, utilizando o coeficiente angular ou inclinação da curva analítica, sendo considerado o método mais sensível quando pequenas variações de concentração causam maiores variações de resposta do equipamento.

São sugeridos no mínimo cinco pontos para a curva de calibração, mantendo a coerência com o número de replicatas utilizado na rotina. Para a confecção da curva analítica através de regressão linear, os valores discrepantes devem ser desconsiderados aplicando testes, como por exemplo o de Grubbs, e a homocedasticidade (homogeneidade da variância dos resíduos) é verificada através do teste de Cochran ou de Levene (EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, 2021) .

### *2.7.2 Limite de Detecção*

O limite de detecção do método analítico (LD) é definido como a menor concentração do analito, determinada por um sinal gerado pelo equipamento e que difere do sinal que caracteriza o ruído. Determina-se através de uma análise completa de uma matriz que contenha o analito, em uma concentração baixa. Com estes resultados, multiplica-se o valor de  $t$  unilateral, com 99% de confiança da distribuição de Student pelo desvio padrão das replicatas deste nível baixo de concentração (EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, 2021).

### *2.7.3 Limite de Quantificação*

O limite de quantificação do método analítico (LQ) corresponde a menor concentração do analito, medida e quantificada em um nível aceitável de tendência e precisão, correspondendo ao ponto da curva analítica de menor valor de concentração, ou ainda podendo ser calculado pelo valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão (EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, 2021).

#### 2.7.4 Tendência / Recuperação

A tendência de um método analítico pode ser verificada pelo uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação (INMETRO, 2020).

A exatidão é avaliada numericamente através da tendência.

Através dos materiais de referência certificados, a performance do método pode ser avaliada de três formas distintas: através do cálculo do seu erro relativo (comparação dos resultados obtidos com aqueles declarados pelos MRC); pelo score-z (através da participação de ensaios interlaboratoriais); através do erro normalizado (expressão da incerteza da medida realizada).

A recuperação pode ser expressa pela razão entre o valor observado na análise, subtraindo o valor do branco e o valor esperado, multiplicado por 100. Ela pode ser estimada através da análise de matrizes fortificadas com quantidades conhecidas do analito de interesse, pelo menos em três níveis de concentração (EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, 2021).

### **2.8 Técnicas analíticas para degradação de agrotóxicos através de processos oxidativos avançados**

A tecnologia de processos de oxidação avançados, que inclui o tratamento por aplicação de ozônio ( $O_3$ ) (KING et al., 2020) tem se mostrado eficaz porque  $O_3$  é capaz de reagir com vários compostos orgânicos e inorgânicos devido ao seu alto potencial de oxidação ( $E_0 \approx 2.1$  V), que é maior do que  $Cl_2$  ( $E_0 \approx 1.4$  V) e  $KMnO_4$  ( $E_0 \approx 1.7$  V). Outra vantagem dessa aplicação é que o produto gerado em sua degradação é o oxigênio ( $O_2$ ), elemento não poluente (MAHMOUD; FREIRE, 2007).

(DE SOUZA et al., 2020) otimizaram um método de aplicação de ozônio utilizando o mesmo tipo de reator (ROPP) deste trabalho, para purificação e desinfecção de águas residuárias bovinas. Quatro tempos foram testados no tratamento (0,5 h, 1 h, 1,5 h e 2 h). Dentre os resultados de cada parâmetro avaliado, destacaram-se remoção de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e  $DBO_5$  (Demanda Bioquímica de Oxigênio de 5 dias) entre 55% e 64% em 2

horas. Remoção completa de óleos e graxas e o percentual de remoção dos sólidos totais e dos sólidos suspensos totais entre 65,7 e 93,5%, respectivamente, ambos no tempo de 2 horas. Coliformes fecais com remoção acima de 99% em 1,5 hora. O método mostrou-se eficiente e as águas residuárias da bovinocultura, poderiam ser utilizadas para irrigação de culturas cruas ou lançadas em corpos hídricos de acordo com a legislação brasileira.

Outro trabalho utilizou aplicação de ozônio com reator ROPP associado a uma membrana de ultrafiltração (UF), para tratamento terciário de efluentes e o tempo de reação foi de 40 minutos. No primeiro momento foi utilizado apenas o ozônio, e a remoção de DQO foi de 39,5% enquanto a de DBO<sub>5</sub> foi de 45,4%. No segundo momento, a membrana de ultrafiltração foi associada ao ozônio e os resultados observados para os mesmos parâmetros aumentou em aproximadamente 50%, sendo o de DQO 89,13% e DBO<sub>5</sub> 95,41%. Coliformes fecais atingiu 100% de remoção no mesmo tempo de reação. (CLEM; MENDONÇA, 2022)

Diante do que foi exposto, este estudo justifica-se pela necessidade de desenvolvimento de uma tecnologia com capacidade para a degradação de agrotóxicos em água para consumo humano e ambiental, aliando pela primeira vez, três técnicas (EFS, ROPP e CG/EM-EM) para este ensaio. De acordo com a literatura, a aplicação de ozônio em diferentes tempos de reação, tem se mostrado eficiente para outras matrizes como solo, alimentos, águas residuárias de bovinocultura e efluentes terciários, contendo outros contaminantes além de agrotóxicos e portanto, pode ser uma poderosa ferramenta para esse fim.

### 3. MATERIAIS E MÉTODO

Este trabalho envolveu, basicamente, quatro etapas distintas: definir quais agrotóxicos seriam estudados; otimizar e validar o processo de extração em fase sólida (EFS) e análises cromatográfica e espectrométrica dos compostos que já eram utilizados no laboratório; testar e validar a degradação destes compostos através do processo de ozonização; avaliar a qualidade da água após esse processo, a partir de teste de toxicidade com *Artemia salina*.

No primeiro momento, foi feita a escolha dos agrotóxicos a serem estudados. Após essa escolha, os padrões foram pesados e preparados para as análises. Em seguida, foi executada a validação da metodologia de extração de agrotóxicos em água por EFS e análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas com triplo quadrupolo, tendo como objetivo otimizar as etapas da marcha analítica, reduzir volumes de amostra e de solventes e otimizar as condições espectrométricas e cromatográficas. Uma vez otimizada esta etapa, foi testado o processo de oxidação avançado para degradação de agrotóxicos utilizando o ozônio, em diferentes tempos de reação. Definida a cinética de degradação capaz de degradar 100% dos compostos, as amostras foram avaliadas no que tange a qualidade para consumo ou reuso, através de ensaio de toxicidade com *Artemia salina*.

Todos os experimentos conduzidos neste estudo foram realizados no Setor de Agrotóxicos do Laboratório de Toxicologia do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), centro da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca (ENSP), nas dependências da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

#### 3.1 Seleção dos agrotóxicos escolhidos

A escolha dos agrotóxicos foi norteada de acordo com critérios de consumo estabelecidos nos boletins anuais disponibilizados pelo IBAMA, pelo alto nível de toxicidade, por constarem na portaria GM/MS Nº 888/21 (que define parâmetros de potabilidade da água para consumo humano) e pela possibilidade de análise por cromatografia em fase gasosa, visto que é um dos métodos utilizados para avaliação de resíduos de agrotóxicos em água. Atendiam a todos os critérios, 4 compostos listados no ranking dos 10 agrotóxicos mais utilizados no país, definidos pelo IBAMA. Foi utilizado o ranking do ano de 2020, último disponibilizado até novembro de 2022, período em que as análises foram finalizadas. Os 4 selecionados foram:



atrazina, clorotalonil, malationa, clorpirifós. Acefato foi selecionado inicialmente, porém não teve recuperação satisfatória no método de EFS, necessitando de mais experimentos para adequação, já que respondia bem à análise cromatográfica. Em relação ao imidacloprido, glifosato e seus sais, 2,4-D, mancozebe, e enxofre, foram substituídos já que os mesmos não podem ser analisados por cromatografia em fase gasosa, em função de suas propriedades físico-químicas, principalmente a termolabilidade.

Como a proposta inicial era utilizar os agrotóxicos que estavam listados entre os 10 mais usados no país e por tudo que foi explicado anteriormente, não pôde ser executada, foi ampliado o espectro para selecionar mais 3, totalizando 7 agrotóxicos que estivessem entre os 50 mais consumidos no país, com consumo superior a 2 mil toneladas por ano. Esta definição teve como objetivo fornecer maior número de substâncias analisadas, ampliando a variedade de classes químicas com diferentes propriedades físico-químicas. Sendo assim, por responderem bem à análise por cromatografia em fase gasosa, por possuírem nível de toxicidade alto, por estarem entre os 50 agrotóxicos mais consumidos no país e terem consumo nacional acima de 2 mil toneladas, os 3 compostos que foram inseridos à pesquisa foram: lambda-cialotrina, trifloxistrobina e trifluralina.

### 3.2 Preparo das soluções dos padrões de agrotóxicos selecionados

Tabela 1: Concentrações dos agrotóxicos nas soluções-estoque

Agrotóxicos	Pureza %	[ ] solução- estoque individual $\mu\text{g mL}^{-1}$	[ ] solução para otimização $\mu\text{g mL}^{-1}$	[ ] solução individual de trabalho $\mu\text{g mL}^{-1}$
Atrazina	100	2410	5	1
Clorpirifós	100	2060	5	1
Clorotalonil	98,9	2500	5	1
lambda - Cialotrina	99,9	2500	5	1
Malationa	99,9	2800	5	1
Trifloxistrobina	100	2520	5	1
Trifluralina	98,5	2405	5	1

Os padrões foram preparados pesando-se em torno de 5mg de cada um dos sete compostos escolhidos, em frascos de vidro âmbar, com tampa de plástico e batoque de teflon. Após a pesagem, direto no frasco, foram adicionados 2mL de acetona, homogeneizados, identificados e armazenados em freezer a -20°C. Apenas o clorpirifós foi preparado com metanol, por apresentar melhor solubilidade para este solvente.

A maioria dos padrões apresentava pureza maior que 99% e, por esta razão, não foi feita correção da concentração considerando a pureza. Entretanto, para o clorotalonil e trifluralina, que apresentavam purezas de 98,9% e 98,5, respectivamente, foi feito o acerto do volume levando em conta a pureza dos padrões, garantindo assim a mesma concentração dos demais.

Para as otimizações cromatográficas e espectrométricas, foram preparadas diluições individuais de todos os padrões na concentração de 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Para o estabelecimento das melhores condições no espectrômetro de massas com triplo quadrupolo estas soluções foram injetadas individualmente.

### **3.3 Preparo da curva de calibração do equipamento**

A curva de calibração do equipamento foi preparada a partir de diluições das soluções-estoque a 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . As diluições foram preparadas diretamente em vials âmbar, com tampa de rosca e batoque de teflon, com volume de 0,5ml. A curva foi feita com seis pontos de concentração (0,02; 0,05; 0,2; 0,5; 1 e 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e os detalhes do preparo podem ser observados na tabela 2, com os volumes aliqotados para cada ponto.

A curva de calibração do equipamento é um teste que antecede a otimização e validação da metodologia a fim de conhecer a performance do equipamento em relação aos compostos analisados em diferentes concentrações. Como as amostras estavam em  $\text{ng mL}^{-1}$ , as concentrações para serem analisadas pelo CG/EM-EM, adotaram o fator de concentração do método de 1000 vezes e foram injetadas em  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Tabela 2: Volumes aliquoteados das soluções-estoque de cada analito de acordo com os pontos da curva de calibração.

Agrotóxicos	[ ] MIX contendo os 7 analitos 5µg mL <sup>-1</sup>	Ponto VI 2µg mL <sup>-1</sup> µL	Ponto V 1µg mL <sup>-1</sup> µL	Ponto IV 0,5µg mL <sup>-1</sup> µL	Ponto III 0,2µg mL <sup>-1</sup> µL	Ponto II 0,05µg mL <sup>-1</sup> µL	Ponto I 0,02µg mL <sup>-1</sup> µL
Atrazina	5	200	100	50	20	5	2
Clorpirifós	5	200	100	50	20	5	2
Clorotalonil	5	200	100	50	20	5	2
lambda - Cialotrina	5	200	100	50	20	5	2
Malationa	5	200	100	50	20	5	2
Trifloxistrobina	5	200	100	50	20	5	2
Trifluralina	5	200	100	50	20	5	2

### 3.4 Otimização das condições cromatográficas e espectrométricas

O equipamento utilizado nas análises foi um cromatógrafo em fase gasosa acoplado a detector de massas por triplo quadrupolo da marca Thermo Fisher Scientific, modelos Trace 1310 (cromatógrafo) e TSQ EVO 8000 (espectrômetro de massas). O gás de arraste foi o hélio e o de colisão, o argônio. As condições espectrométricas foram otimizadas a partir de injeção dos padrões a 5 µg mL<sup>-1</sup>, individualmente.

Primeiramente, os compostos foram identificados em modo positivo em full scan (varredura total dos íons), permitindo assim identificar os tempos de retenção e a intensidade de cada composto e em SRM (monitoramento seletivo de reação pela avaliação de fragmentos de íons selecionados), sendo possível programar o equipamento para identificação e quantificação apenas de íons alvo, qualificando os analitos de interesse.

Foi otimizado um método cromatográfico específico para esse estudo, de modo que todas as condições de análise para cada analito, como tempo de retenção, íons precursores, íons produtos e energia de colisão, foram bem estabelecidas, tornando-se uma ferramenta fundamental para a determinação dos resíduos de agrotóxicos nos experimentos de remoção de ozônio.



Figura 7: CG/EM-EM

### 3.5 Parâmetros de validação de métodos analíticos

Os parâmetros de validação utilizados neste trabalho foram baseados na normativa do Inmetro DOQ-CGCRE-008, revisão 09, junho de 2020, que orienta a validação de métodos analíticos. A maioria dos parâmetros foi realizada, mas os parâmetros de seletividade, precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade), robustez e comparações interlaboratoriais não puderam ser executados pela dificuldade de estabelecimento de cooperação com algum laboratório que dispusesse de equipamento semelhante, durante o período de execução deste trabalho, bem como a disponibilidade de diferentes analistas para avaliação dos resultados gerados por eles.

Foram realizados testes de linearidade, sensibilidade, limites de detecção e de quantificação e recuperação.

#### 3.5.1 Linearidade e sensibilidade

Para a avaliação da linearidade, foi produzida a curva de calibração dos analitos na matriz, com o objetivo de verificar a resposta do equipamento em função do aumento da

concentração. A faixa de concentração escolhida reflete o que se espera encontrar em águas de superfície, de acordo com a literatura nacional e internacional, levando em consideração o fator de concentração das amostras de 1000 vezes, partindo de 100mL de água para o volume de 100 µL. A curva de calibração tem seus valores demonstrados na tabela 3.

Tabela 3: Concentração dos analitos em cada ponto de fortificação.

Agrotóxicos	[ ] MIX contendo os 7 analitos ng mL <sup>-1</sup>	Ponto VI ng mL <sup>-1</sup>	Ponto V ng mL <sup>-1</sup>	Ponto IV ng mL <sup>-1</sup>	Ponto III ng mL <sup>-1</sup>	Ponto II ng mL <sup>-1</sup>
Atrazina	5	2	1	0,5	0,2	0,05
Clorpirifós	5	2	1	0,5	0,2	0,05
Clorotalonil	5	2	1	0,5	0,2	0,05
lambda - Cialotrina	5	2	1	0,5	0,2	0,05
Malationa	5	2	1	0,5	0,2	0,05
Trifloxistrobina	5	2	1	0,5	0,2	0,05
Trifluralina	5	2	1	0,5	0,2	0,05

Os cinco pontos da curva foram feitos em triplicata, conforme orientação do Inmetro, que preconiza que o número de replicatas deve refletir a rotina do laboratório e pelo custo elevado dos cartuchos da extração em fase sólida, muitas vezes só permite uma análise por amostra.

A transição de maior intensidade foi considerada para a quantificação dos analitos e, partir dela, através da equação da reta  $y = ax + b$  foi possível fazer a determinação dos coeficientes de interseção (**b**) e inclinação (**a**), sendo **y** a resposta medida, e **x** a concentração.

A partir dos resultados da curva de calibração, foi determinada a faixa de trabalho também.

A sensibilidade do método é razão da variação da resposta, por concentração, e é calculada por  $S = dx / dc$ , sendo  $S$  = sensibilidade,  $dx$  = variação da resposta do íon alvo e  $dc$  = variação da concentração (ng mL<sup>-1</sup>). A sensibilidade foi expressa pelo coeficiente angular da curva de calibração. (INMETRO, 2020)

### 3.5.2 Limite de Detecção

O limite de detecção, foi estabelecido a partir de 7 replicatas do menor ponto da curva de calibração, feitas em dois dias diferentes. Esse ponto corresponde à concentração de 0,05 ng mL<sup>-1</sup> para todos os analitos. A partir dos resultados, o limite de detecção foi calculado a partir da expressão:

$$LD = t(n-1, 1-\alpha) \cdot s$$

Onde  $t$  é a distribuição de *Student*, para  $n-1$  graus de liberdade, e grau de confiança de  $1-\alpha$ , e  $s$  é o desvio padrão do menor ponto de fortificação.

O valor de  $t$  tabelado para 6 graus de liberdade com um intervalo de confiança de 95% é de 1,943, que foi usado para o cálculo do LD.

### 3.5.3 Limite de Quantificação

O limite de quantificação também foi determinado a partir de 7 replicatas do ponto de 0,05 ng mL<sup>-1</sup>, menor ponto da curva de calibração, feitas em dois dias diferentes. O limite de quantificação foi estabelecido a partir da expressão:

$$LQ = 10 \times s$$

Onde  $s$  é o desvio padrão das 7 replicatas no menor ponto da curva.

### 3.5.4 Recuperação

A recuperação foi avaliada através das fortificações 3 pontos da curva de calibração, um baixo, um intermediário e um alto (pontos 0,05; 0,5; 2 ng mL<sup>-1</sup>) em triplicata. Os experimentos foram feitos com fortificações de água tipo I antes da extração, para avaliar a concentração inicial e após a evaporação, sendo estas consideradas o 100% de recuperação do método analítico.

Foram calculados o desvio padrão e coeficiente de variação para cada ponto da curva. O critério de aceitação do método foi a recuperação média de todos os pontos compreendida na faixa de 60 a 115% (AOAC INTERNATIONAL, 2016; INMETRO, 2020).

A expressão utilizada para calcular a recuperação foi:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{concentração obtida}}{\text{concentração adicionada}} \times 100$$

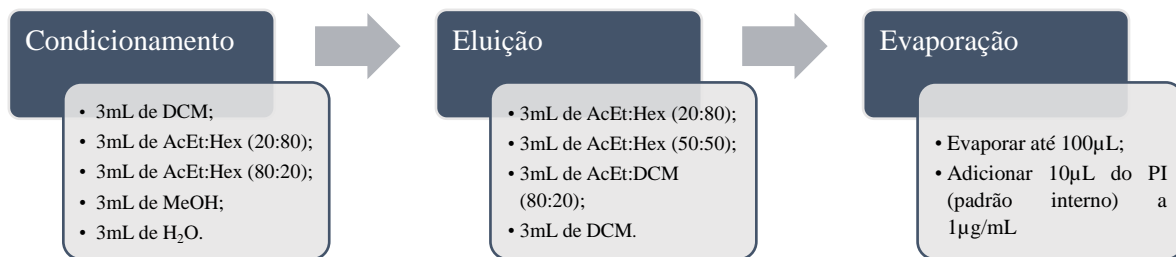
### 3.6 Otimização da metodologia de extração de agrotóxicos em água por SPE

Antes do processo de ozonização foi necessário otimizar o método de extração de agrotóxicos em água por extração em fase sólida e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Este método já era utilizado pelo setor de agrotóxicos do CESTE, mas foram necessárias adaptações que tornariam sua execução mais rápida e com menor custo. Os testes objetivaram, especificamente, reduzir o volume de amostra de 500mL para 100mL, reduzir os volumes e substituir alguns solventes orgânicos e aumentar a concentração da amostra com evaporação total sob N<sub>2</sub> (evaporação à securo) e posterior ressuspensão. Após a execução de cada teste, era verificado se a modificação feita no método impactaria ou não na recuperação dos analitos. Com os testes feitos, foi possível definir a melhor marcha analítica, conforme demonstrado nos esquemas abaixo.

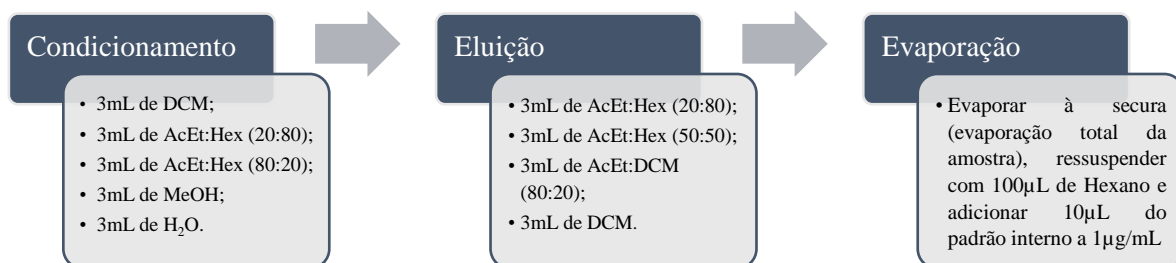


Figura 8: Extração de agrotóxicos em água

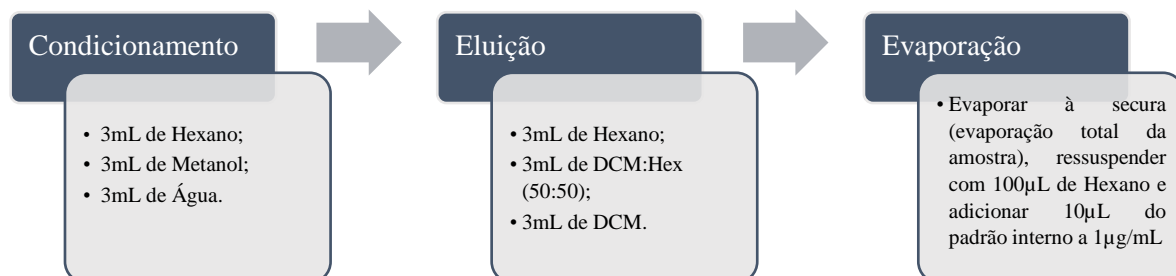
**Teste 1: Método com redução de volumes de solventes e evaporação total até 100µL (cartucho Oasis)**



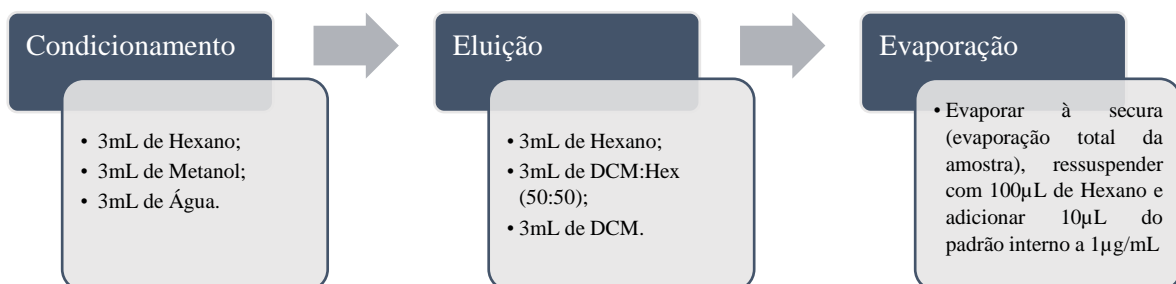
**Teste 2: Método com redução de volumes e evaporação total com ressuspensão (cartucho Oasis)**



**Teste 3: Método com alteração dos Solventes (Cartucho Oasis)**



**Teste 4: Método com alteração dos Solventes e do cartucho (C<sub>18</sub>)**





### *3.6.1 Principais modificações feitas entre os testes de otimização*

Foram feitos quatro testes de otimização em duplicatas e nas seguintes concentrações: 0,05 ng mL<sup>-1</sup>, 0,5 ng mL<sup>-1</sup> e 2 ng mL<sup>-1</sup> (fortificações feitas antes da extração e após a evaporação).

#### **Teste 1: Método com redução de volumes de solventes e evaporação até 100µl (cartucho Oasis)**

O objetivo principal foi reduzir a quantidade dos volumes de condicionamento e eluição, que antes eram de 9 mL dos solventes descritos no esquema acima, para 3mL, sendo essa a única alteração do método original.

Apesar da redução de volumes ter sido satisfatória e os compostos permanecerem com recuperação dentro da faixa aceitável, havia a necessidade de diminuição das etapas da marcha analítica, como por exemplo, retirar a etapa de evaporação até 100µL e passar para evaporação total ou “secura”. Esse procedimento seria testado nos testes subsequentes.

#### **Teste 2: Método com redução de volumes e evaporação total com ressuspensão (cartucho Oasis)**

Neste teste foi mantido o cartucho OASIS HLB 60mg/3mL de fase híbrida, por apresentar propriedade de retenção hidrofílica e hidrofóbica, ideal para análise de agrotóxicos em água, sendo capaz de reter uma variedade de compostos e apresentar recuperação dentro da faixa de referência das normas recomendadas. (INMETRO, 2020)

O teste mantém as outras condições do anterior, porém a etapa de evaporação até 100µL foi substituída por evaporação total, com posterior ressuspensão com 100µL de hexano ao final da etapa de evaporação. Com a evaporação à secura, o fator de concentração foi de 1000 vezes, favorecendo a análise de alguns compostos que não respondiam bem no método anterior.

Apesar as recuperações estarem dentro da faixa aceitável, o método utilizava vários solventes. Foi necessário modificar os solventes de condicionamento e eluição, retirar as misturas de acetato de etila e hexano e diminuir ao máximo o uso de diclorometano.

### **Teste 3: Método com alteração dos solventes (cartucho Oasis)**

No teste 3, foi realizada a troca dos solventes de condicionamento e eluição para diminuir o uso de solventes e as etapas da marcha analítica. As misturas de acetato de etila e hexano foram retiradas tanto do condicionamento quanto da eluição, permanecendo somente o hexano. O diclorometano permaneceu somente na etapa de eluição.

As recuperações dos testes anteriores mantiveram a faixa aceitável, porém o cartucho C18 precisava ser testado, por apresentar menor custo em relação ao Oasis, por já ser utilizado no laboratório em outras metodologias de extração de agrotóxicos em matrizes biológicas, tendo ótima recuperação dos analitos.

### **Teste 4: Método com alteração dos solventes e do cartucho (C18)**

No teste 4, foi alterado do cartucho de extração em fase sólida. O cartucho C18 foi testado e apresentou recuperação dentro da faixa aceitável 60% a 115% para todos os analitos). Dessa forma foi possível otimizar o método, reduzindo significativamente os volumes e substituindo solventes, demonstrando celeridade no processo analítico, concentrando mais a amostra e trocando o cartucho OASIS com maior custo pelo C18, com custo inferior. Essa otimização foi implementada no laboratório após a validação, garantindo assim, maior capacidade com menor custo.

#### *3.6.2 Descrição do **TESTE 4** (método otimizado e validado):*

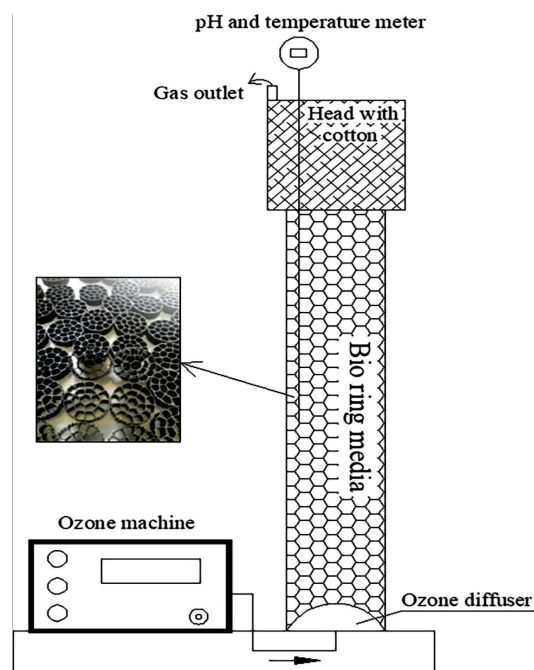
Consistiu em um método de EFS com cartuchos de octadesilsilica (C18) e utilização de volume de amostra de 100mL. Inicialmente as amostras, já em temperatura ambiente, foram avolumadas em balões volumétricos de 100mL. Juntamente com cada sequência diária, foi necessário fazer uma curva com 5 pontos de fortificação para quantificação posterior por padronização externa e para o controle qualidade. Os pontos da curva de calibração foram 0,05 ng mL<sup>-1</sup>, 0,2 ng mL<sup>-1</sup>, 0,5 ng mL<sup>-1</sup>, 1 ng mL<sup>-1</sup> e 2 ng mL<sup>-1</sup>.

No primeiro momento, os cartuchos foram condicionados com 3mL dos solventes hexano, metanol e água. Após o condicionamento, 100mL de amostra foram adicionados aos cartuchos a um vácuo de 5mm Hg. Em seguida, o vácuo foi aumentado (15mm Hg) para que

ocorresse a secagem dos cartuchos, garantindo a retenção dos analitos de interesse e remoção da água em sua totalidade. O segundo momento deste método consistiu na eluição dos analitos e evaporação à secura. Após a secagem, cada cartucho foi eluído com 3mL dos solventes hexano, mistura de diclorometano e hexano (1:1) e diclorometano. Ao produto da eluição, adicionou-se 1mL de isooctano em todas as amostras e iniciou-se o processo de evaporação à secura sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Durante a evaporação, as paredes dos tubos foram rinsadas ao atingirem os volumes de 5mL, 3mL e 0,5mL. Atingindo a evaporação completa, foi feita ressuspensão das amostras com 100µL de hexano, com agitação em vórtex por 3 segundos e transferência do volume para vials contendo inserts de 150 µL. Como o volume de amostra inicial é de 100mL e ao final da evaporação, há ressuspensão de 100µL de hexano, um fator de concentração final da amostra de 1000 vezes foi alcançado. A técnica para identificação e quantificação foi a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas com triplo quadrupolo (BARBOSA et al., 2016; CRUZEIRO et al., 2015)

### **3.7 Otimização do método de ozonização em água potável para remoção de agrotóxicos**

De acordo com (LEE et al., 2008), o processo de ozonização associado à flotação é mais econômico do que outros tratamentos avançados e pode atender satisfatoriamente os padrões de qualidade de água. Este processo usado como tratamento ou pós-tratamento provou ser eficiente para águas superficiais contendo agrotóxicos de diversas classes (OLLER; MALATO; SÁNCHEZ-PÉREZ, 2011; PAŹDZIOR et al., 2017). Foi otimizado um método de remoção de agrotóxicos em água por um reator de ozônio – ROPP (Reator com aplicação de Ozônio e Preenchimento Plástico), conforme descrito e exemplificado na Figura 9.



Esquema do reator de ozônio - UASB  
 Fonte: Souza et.al, 2020

Figura 9: Esquema do reator de ozônio - ROPP

Fonte: (SOUZA et al., 2020)

Um gerador de  $O_3$  (Ozone Generation, GL-3189A, China), com uma taxa de fluxo de  $1,3 \text{ L min}^{-1}$ , pureza de 92% ( $\pm 2\%$ ) e concentração média de  $7,8 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\pm 1 \text{ mg L}^{-1}$ ), foi usado para conduzir o experimento.

O reator demonstrado na Figura 9 tem um volume útil de 1000 mL, preenchido com meio plástico poroso (bio-anéis) para maximizar o gás de transferência de líquido. Na parte inferior do reator, um difusor (tamanho de poro de  $20 \mu\text{m}$ ) foi conectado ao gerador de ozônio. Algodão é inserido na ponta do reator, a fim de gerar uma atmosfera interna com maior concentração de ozônio, evitando o contato direto com o ar atmosférico e com a superfície do gás/líquido. O algodão também serve para reter as partículas flutuantes mobilizadas pela força de arraste do gás durante o processo de tratamento. A Figura 10 mostra o esquema experimental realizado para este trabalho com adaptações a partir do reator exemplificado na figura 9.



Experimento para degradação de agrotóxicos em água por ozonização  
 Figura 10: Esquema degradação de agrotóxicos em água por ozonização

Para a otimização do método de degradação de agrotóxicos por ozônio, foram feitos 4 experimentos descritos a seguir. Em todos os testes de cinética de remoção, as amostras foram fortificadas, de forma individual, com a concentração estabelecida de  $1 \text{ ng mL}^{-1}$  em 1000 mL de água tipo I, que corresponde ao que costuma ser relatado em amostras reais. (PANIS et al., 2022). Ao final de cada experimento com o  $\text{O}_3$ , em todas as amostras foi feito o procedimento de extração em fase sólida e posterior análise por cromatografia em fase gasosa com espectrometria de massas para quantificação dos experimentos (modo SRM).

### 3.7.1 *Experimento 1: verificação da degradação dos analitos com divisão do fluxo de $\text{O}_3$*

No primeiro experimento, cada amostra previamente fortificada foi submetida a diferentes tempos de reação com o objetivo de avaliar o percentual de remoção e produtos de transformação de cada um dos compostos.

Cada um dos equipamentos de geração de  $\text{O}_3$  gerou uma concentração de  $1000 \text{ mg h}^{-1}$ . Nesse primeiro teste, cada equipamento continha 2 analitos e os tempos testados foram 0 (sem tratamento), 30, 60, 90, 120 e 150 minutos.

### 3.7.2 **Experimento 2:** verificação da degradação dos analitos *sem* divisão do fluxo de $O_3$

Foi observado no experimento 1 que a degradação não ocorreu conforme o previsto. Decidiu-se então repetir o experimento 1, com duas modificações, a realização do experimento em duplicata e sem divisão do fluxo de ozônio. Todas as demais condições foram mantidas neste segundo teste.

### 3.7.3 **Experimento 3:** Primeira curva de degradação – exploratória

No experimento 2, ficou evidenciada a eficiência do ozônio, quando dedicada a concentração máxima de  $2000 \text{ mg h}^{-1}$  para cada analito de forma individual. Dessa forma, observou-se que 5 dos 7 analitos testados atingiram 100% de degradação no tempo de reação de 30 minutos, sendo eles atrazina, clorpirifós, malation, l-cialotrina e trifluralina.

Para construir a curva e verificar o percentual de degradação em função do tempo, foram testados os tempos de reação a cada 5 minutos até o tempo de 30 minutos. A curva foi feita com um total de 7 pontos testados: 0 (amostras sem tratamento), 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos, em duplicata.

Em relação ao clorotalonil e trifloxistrobina, os tempos iniciais da curva preliminar foram mantidos e não foram repetidos neste experimento, já que para estes analitos o tempo de degradação foi superior a 30 minutos.

### 3.7.4 **Experimento 4:** Segunda curva de degradação – confirmatória

A fim de obter a confirmação do teste 3, um 4º experimento foi necessário, já que alguns compostos como lambda-cialotrina, trifluralina e malationa atingiram 100% da degradação da concentração inicial, em até 10 minutos, sendo este um resultado muito satisfatório, mas que precisou ser confirmado.

Neste teste, as amostras foram feitas em triplicata e a curva inicial do clorotalonil e trifloxistrobina foi repetida.

Após a realização do experimento 4, foi possível estabelecer o percentual de degradação, em cada um dos tempos de reação, para cada analito testado. Além disso, cada analito que apresentava degradação de 100%, em determinado tempo específico, foi analisado em modo full scan, com o objetivo de identificar se houve algum produto de degradação que apresentasse toxicidade relevante.

### 3.8 Ensaio de toxicidade com *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade aguda foi realizado no Laboratório de Toxicologia do Cesteh/Fiocruz e teve como base a norma brasileira ABNT 12713 de 2016. A norma utiliza como organismo a *Daphnia spp* em diferentes etapas do ciclo evolutivo e este ensaio foi adaptado para *Artemia salina* já em fase adulta.

O experimento foi feito em 4 replicatas para cada analito mais o controle. O objetivo foi verificar nos intervalos de 24 e 48 horas, quantos organismos ainda apresentavam características vitais.

As amostras utilizadas neste teste, foram as que atingiram o percentual máximo de degradação. Degradações com tempos de 30 minutos (atrazina, clorpirifós, malation, l-cialotrina e trifluralina), 120 minutos (trifloxistrobina) e 150 minutos (clorotalonil).

Os testes foram feitos em recipientes plásticos, com capacidade para 250 mL, contendo 150 mL de água ozonizada e 25 organismos. O pH da água estava em 7,6 para todas as amostras e os controles. A temperatura da sala variou entre 18°C e 22°C e fotoperíodo foi de 12h, sem alimentação. Após 24 horas, foram contabilizados e registrados, os números de organismos móveis e imóveis. Ao final das 48 horas, o experimento foi concluído e houve repetição do procedimento anterior. A tabela 4, apresenta um resumo das condições experimentais (ABNT 12713, 2016).

Para a determinação da toxicidade, utilizou-se o item 6.4 da norma “**determinação qualitativa**”, que se aplica perfeitamente a este estudo, uma vez que não houve diluição das amostras. Para que o resultado seja expresso como “**não tóxico**” precisa não haver diferença estatisticamente significativa entre o número de organismos imóveis e o número de organismos dos controles. Se houver diferença significativa, o resultado será expresso como “**tóxico**” (ABNT 12713, 2016).

Tabela 4: Condições experimentais do ensaio de toxicidade aguda com *Artemias salinas*.

Requisitos	Conduta
Organismo - teste	<i>Artemia salina sp</i>
Fase do ciclo evolutivo	adulta
Tipo de ensaio	Estático
Período de exposição	48 horas
Amostra	Água ozonizada recosntituída
Volume de amostra no recipiente	150 mL
Número de organismos por amostra	25
Número de replicatas	4
Temperatura da sala	18°C a 22°C
Fotoperíodo	12 horas
Alimentação	nenhuma durante as 48 horas
Efeito observado	imobilidade
Expressão dos resultados	tóxico ou não tóxico

### 3.9 Análises estatísticas dos resultados

A avaliação das áreas das amostras, tanto na validação da metodologia de extração em fase sólida, quanto nos ensaios de degradação de agrotóxicos, foi feita no software Microsoft Excel®, versão 2010.

A quantificação das áreas das amostras foi feita por padronização externa, com utilização da expressão de equação da reta e correlação linear da reta.

Na análise estatística descritiva do ensaio de toxicidade, foi verificado se havia ou não normalidade através do teste de Shapiro-Wilk. Verificando que a amostragem não seguia um padrão de normalidade, uma vez que as amostras são não paramétricas, o teste escolhido para verificação da significância e atribuição do parâmetro “tóxico” ou “não tóxico”, foi o de Mann-Whitney. O software responsável por essas análises foi Jamovi®, versão 2022. (JAMОВI, 2022)



## **4.RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Otimização das condições cromatográficas e espectrométricas**

Posteriormente à extração em fase sólida, as amostras precisam ser qualificadas e quantificadas. Para tanto, as condições cromatográficas e espectrométricas precisam estar otimizadas para que possa ser feita a avaliação da metodologia, bem como verificar se garantem que o método atende ao uso pretendido.

Após a identificação dos tempos de retenção através da injeção dos padrões de agrotóxicos, foram selecionados o íon quantificador e outros dois qualificadores, cada qual na sua melhor energia de colisão. A energia de colisão que apresentou maior sensibilidade tanto para íons quantificadores (os mais abundantes) como qualificadores, foi escolhida e utilizada na validação desta metodologia.

As condições cromatográficas demonstradas na Tabela 5, foram testadas no modo de ionização positivo e fonte de ionização por impacto de elétrons. Para parâmetros como temperatura (injetor, linha de transferência e fonte de íons), fluxo de gás de arraste, modo e volume de injeção, dentre outros e escolhidas após alguns testes de otimização considerando as propriedades físico-químicas de cada composto de forma isolada e em conjunto. A coluna cromatográfica que apresentou melhores resultados foi da marca Thermo Scientific, com 30m de comprimento, diâmetro interno de 0,25mm, espessura do filme de 0,25µm, faixa de temperatura de -60 até 320/350°C e fase similar a 5% fenil metilpolisiloxano.

As condições cromatográficas e espectrométricas deste trabalho são equiparáveis aos trabalhos de (CASSOLI et al., 2017; DONATO et al., 2015; SCHWANZ et al., 2019).No entanto algumas modificações como volume de injeção e ajustes na rampa cromatográfica, foram necessárias para melhor análise dos agrotóxicos selecionados na matriz trabalhada.

Tabela 5: Condições cromatográficas e espectrométricas otimizadas

<b>CONDIÇÕES ESPECTROMÉTRICAS</b>	
<b>Parâmetro</b>	<b>Condição otimizada</b>
Fonte de ionização	EI
Polaridade	Positivo
Voltagem da lente eletrônica	15 V
Voltagem do elétron	70 eV
Frequência da guia de íons	1670.4
Frequência do Q1 (Quadrupolo 1)	1087.0
Frequência da cela de colisão	1869.0
Frequência do Q3 (Quadrupolo 3)	1087.0
Voltagem da multiplicadora de elétrons	1425.2 V
Sensibilidade do detector	$2.1 \times 10^5$
Temperatura da linha de transferência	300 °C
Temperatura da fonte de íons	300 °C
Pressão	58 mTorr
Pressão do medidor de íons	$3.6 \times 10^{-6}$ Torr
<b>CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS</b>	
Tipo de coluna cromatográfica	Trace GOLD TG-5SilMS
Fluxo de hélio (gás de arraste da coluna)	$1 \text{ mL/minuto}^{-1}$
Modo	Pressão constante
Tipo de Injeção	CT SPLITLESS
Fluxo da purga	5 mL/min
Temperatura do injetor	280°C
Temperatura da linha de transferência	300°C
Temperatura da fonte de íons	300°C
Rampa cromatográfica (início)	50° por 2 minutos
<b>Rampa 1</b>	10°C/min até 180°C
<b>Rampa 2</b>	3°C/min até 230°C
<b>Rampa 3</b>	5°C/min até 280°C
<b>Rampa 4</b>	15°C/min até 310°C por 7min
Tempo total de corrida	51 minutos
Volume injetado	2 µL

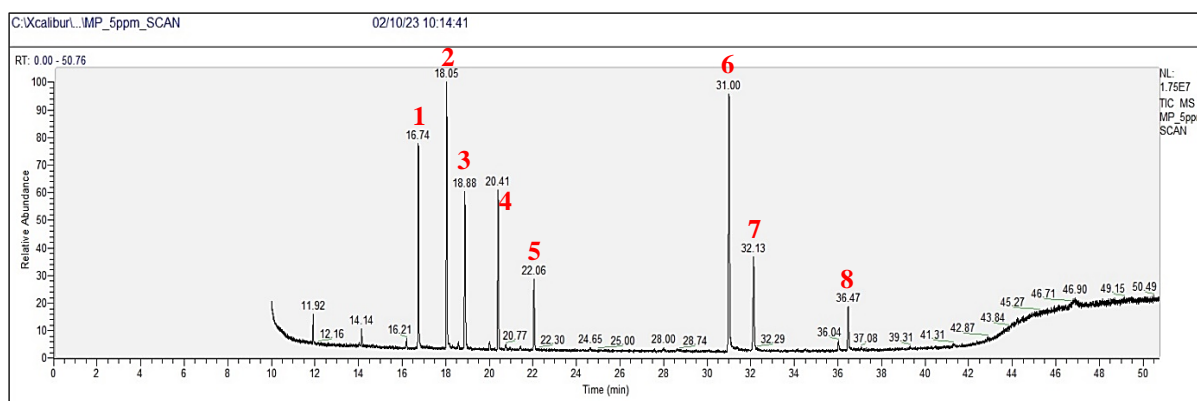


Figura 11: Cromatograma em full scan dos agrotóxicos a  $5\mu\text{g mL}^{-1}$

1. Trifluralina
2. Atrazina
3. Clorotalonil
4. Clorpirifós
5. Malationa
6. Trifloxistrobina
7. Trifenilfosfato (padrão interno)
8. lambda – Cialotrina

Após a identificação dos tempos de retenção de cada composto e escolha dos íons quantificadores, qualificadores e melhores energias de colisão, foi criado um método no software do equipamento (Trace Finder 3.2), para que as injeções fossem feitas em SRM (*Selected Reaction Monitoring*). A Figura 12, mostra os analitos em uma injeção no modo SRM, livres de interferentes, em um cromatograma de íons totais (TIC). A ordem de eluição dos analitos já foi descrita na Figura 11.

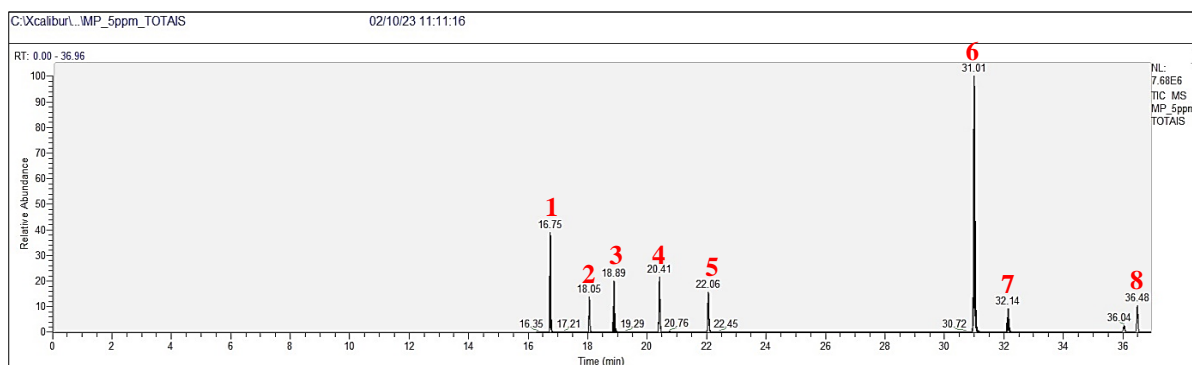


Figura 12: Cromatograma de íons totais dos agrotóxicos a  $5\mu\text{g mL}^{-1}$

A Figura 13 mostra a injeção em SRM, visualizada do software de trabalho do equipamento (Trace Finder 3.2), de uma mistura de padrões dos agrotóxicos deste estudo mais o padrão interno trifenilfosfato, na concentração de  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ . É possível verificar os resultados por amostra e posteriormente extraídos para uma planilha excel. Ao selecionar a amostra, é possível observar cada analito, de forma individualizada, com seu respectivo tempo de retenção e área. A presença do analito é confirmada através da sobreposição das três transições setadas no software correspondente a cada composto (íon quantificador e íons qualificadores).

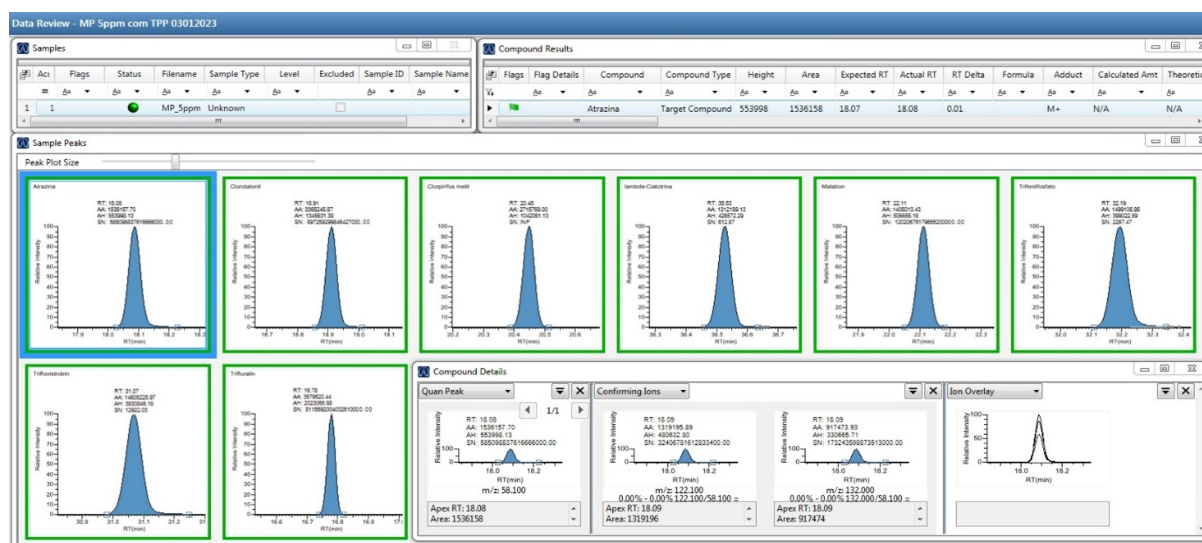
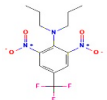
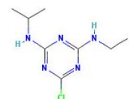
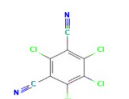
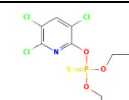
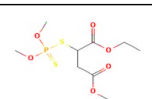
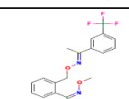
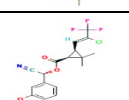


Figura 13: Cromatograma em SRM extraído do software Trace Finder.

A Tabela 6, demonstra de forma resumida, algumas características dos agrotóxicos como grupo químico, fórmula estrutural, fórmula molecular, CAS, tempo de retenção e as transições cromatográficas otimizadas (íons precursores, íons produtos e energias de colisão).

As figuras 14 e 15, mostram cada um dos agrotóxicos, destacando o tempo de retenção e suas respectivas transições cromatográficas, observadas no software Trace Finder 3.2.

Tabela 6: Características dos agrotóxicos avaliados.

Composto	Grupo Químico	Fórmula Estrutural	Fórmula Molecular	Massa Molecular	CAS	Tempo de Retenção	Íon Precursor	Íon Produto	Energia de Colisão
Trifluralina	Herbicida		C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	335.28	1582-09-8	16.78	306.1	159.7	20
							306.1	206	10
							306.1	264.1	8
Atrazina	Herbicida		C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	215.68	1912-24-9	18.08	200	122.1	8
							200	132	8
							215.1	58.1	12
Clorotalonil	Fungicida		C <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>2</sub>	265.9	1897-45-6	18.91	228.8	168.8	8
							265.8	133	36
							265.8	170	24
Clorpirifós	Inseticida		C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> OS	350.6	2921-88-2	20.45	125	47	12
							125	79	6
							285.9	93	20
Malationa	Inseticida		C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	330.4	121-75-5	22.11	92.8	63	8
							125	79	8
							173.1	99	12
Trifloxistrobina	Fungicida		C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	408.4	141517-21-7	31.07	116.1	89	14
							116.1	63	24
							145	95	14
lambda-Cialotrina	Inseticida		C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>	449.8	91465-08-6	36.53	180.9	151.9	22
							197	141.1	10
							208.1	180.9	8

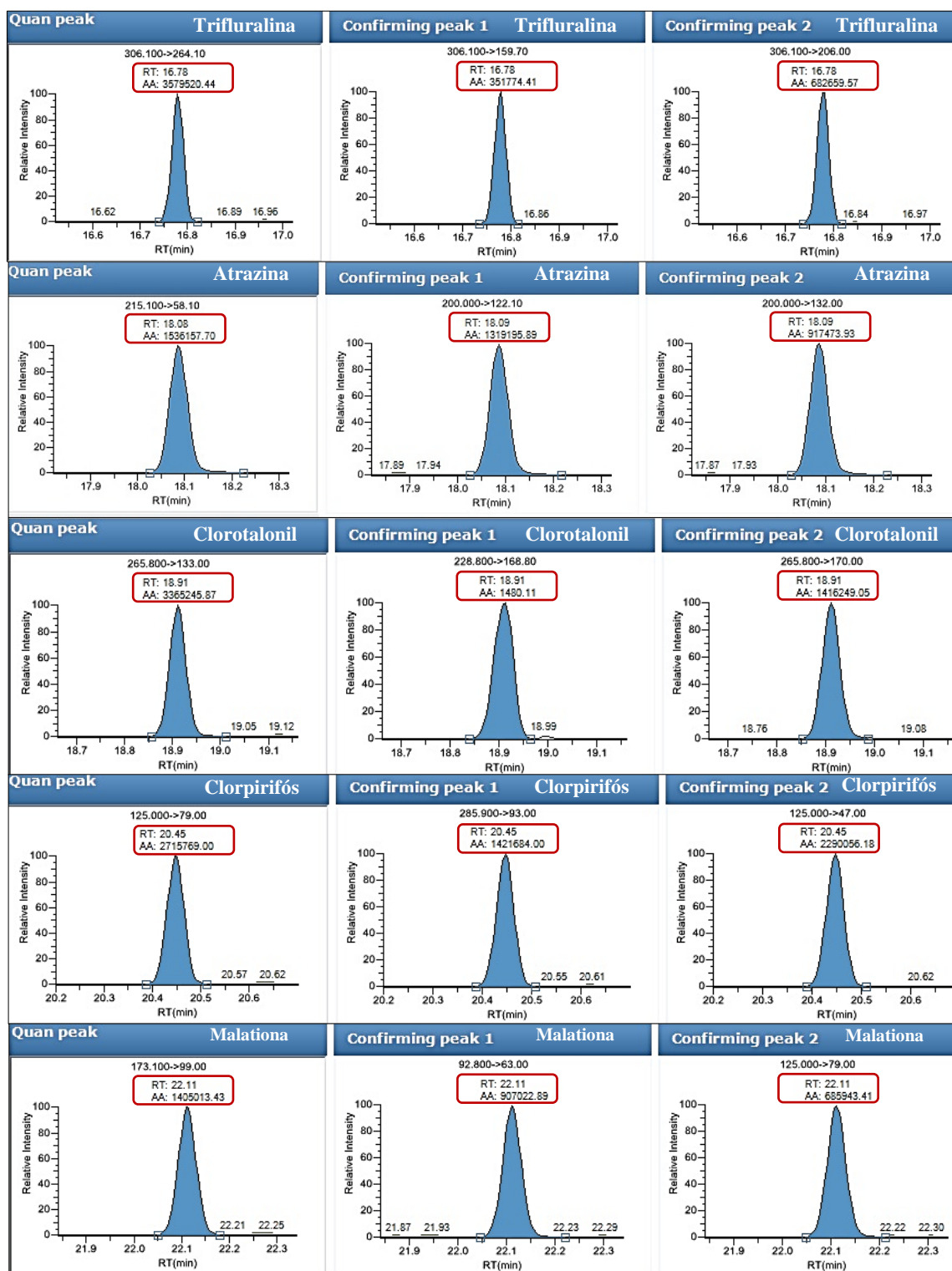


Figura 14: Transições otimizadas dos agrotóxicos trifluralina, atrazina, clorotalonil, clorpirifós e malationa.

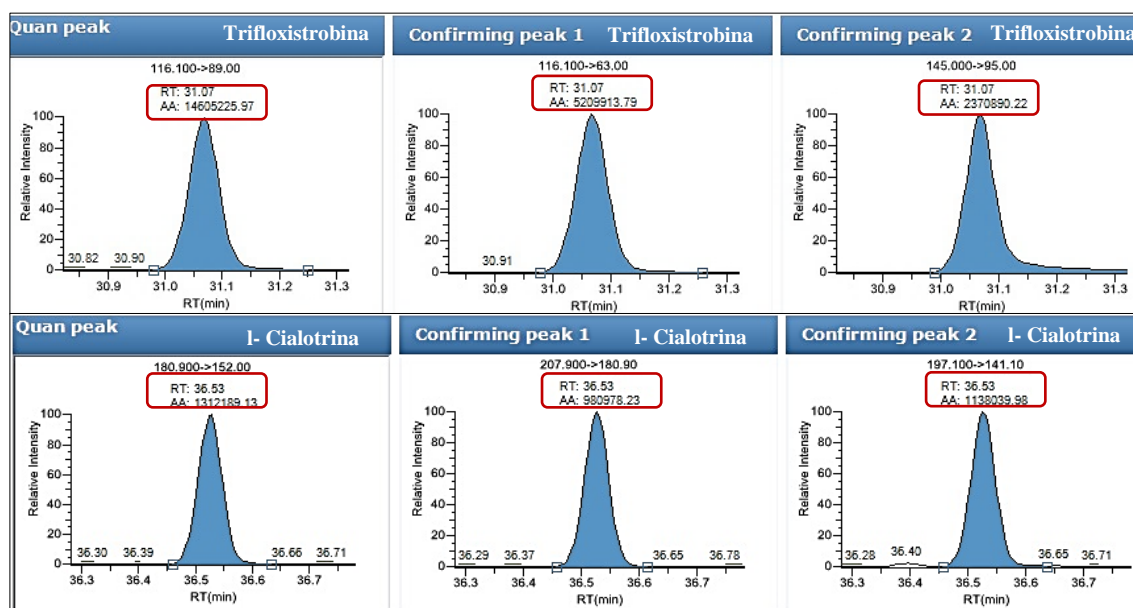


Figura 15: Transições otimizadas dos agrotóxicos trifloxistrobina e lambda-cialotrina

## 4.2 Otimização do método de extração de agrotóxicos em água por EFS

A otimização do método apresentou percentual de recuperação aceitável (75 a 115%) e coeficiente de variação inferior a 10% para os 4 testes realizados (INMETRO, 2020). A otimização demonstrou similaridade com outros trabalhos (CASSOLI et al., 2017; MONDAL et al., 2018)

O teste 1 objetivou a **redução de volumes de solventes**, obteve médias de recuperação entre 75 e 98% e o coeficiente de variação ficou entre 3 e 8%. O agrotóxico atrazina teve o percentual de recuperação mais baixo (75%), enquanto a malationa teve a recuperação mais alta, 98%, em comparação aos demais analitos.

O teste 2 avaliou a **redução do volume de solventes e evaporação completa**, tendo médias de recuperação maiores que as do teste 1 para a maioria dos agrotóxicos, variando entre 80 e 98%. Atrazina e lambda-cialotrina, obtiveram 80% de recuperação, enquanto a trifloxistrobina, atingiu 98%, tendo a maior média deste teste. Houve um aumento sutil da recuperação em relação ao teste 1 para todos os agrotóxicos, exceto para a malationa que recuperou 95% neste teste e no anterior 98%. O coeficiente de variação ficou entre 2 e 9%.

O teste 3 **alterou os solventes de condicionamento e eluição** e a faixa de recuperação foi de 85 a 115%. Neste teste, a lambda-cialotrina apresentou 85% de recuperação, tendo o

menor percentual, assim como no teste 2. Já a trifloxistrobina manteve o maior percentual, em comparação aos demais agrotóxicos e atingiu 115% de recuperação. O coeficiente de variação ficou entre 4 e 9%.

O teste 4 **reduziu volume de solventes, troca de cartucho de extração de Oasis para C18 e evaporação completa**, sendo selecionado para ser validado e aplicado nas análises deste estudo. A recuperação ficou entre 88 e 105% e o coeficiente de variação, entre 4 e 9%.

CASSOLI et al., 2017, apresentaram recuperação de 64% para o composto trifluralina com coeficiente de variação de 10%. Já para o clorpirifós, o percentual de recuperação foi de 74% e coeficiente de variação de 12%. Conforme demonstrado na tabela 7, o método validado para este trabalho apresentou recuperação de 98% para trifluralina e 95% para clorpirifós, ambos com coeficientes de variação inferiores a 5%, demonstrando melhor desempenho. Diferenças entre os métodos como solventes de condicionamento e eluição, além do tempo de secagem dos cartuchos, podem influenciar na recuperação dos analitos.

A Tabela 7, demonstra o percentual médio de recuperação e coeficiente de variação entre as replicatas dos analitos, nos quatro testes de otimização da metodologia de análise de agrotóxicos em água.

Tabela 7: Percentual de recuperação e coeficiente de variação entre as replicatas dos analitos, nos 4 testes de otimização da metodologia de análise de agrotóxicos em água.

TESTES DE OTIMIZAÇÃO	TESTE 1		TESTE 2		TESTE 3		TESTE 4	
Agrotóxicos	Rec %	CV %	Rec %	CV %	Rec %	CV %	Rec %	CV %
Atrazina	75	6	80	3	90	4	93	9
Clorpirifós	90	3	95	5	94	7	95	4
Clorotalonil	89	3	92	9	97	9	102	6
lambda - Cialotrina	78	8	80	6	85	4	88	6
Malationa	98	8	95	3	98	6	105	7
Trifloxistrobina	95	5	98	8	115	4	99	8
Trifluralina	83	3	87	2	93	7	98	4

A Figura 16, descreve o fluxograma do método de extração de agrotóxicos em água após otimização.



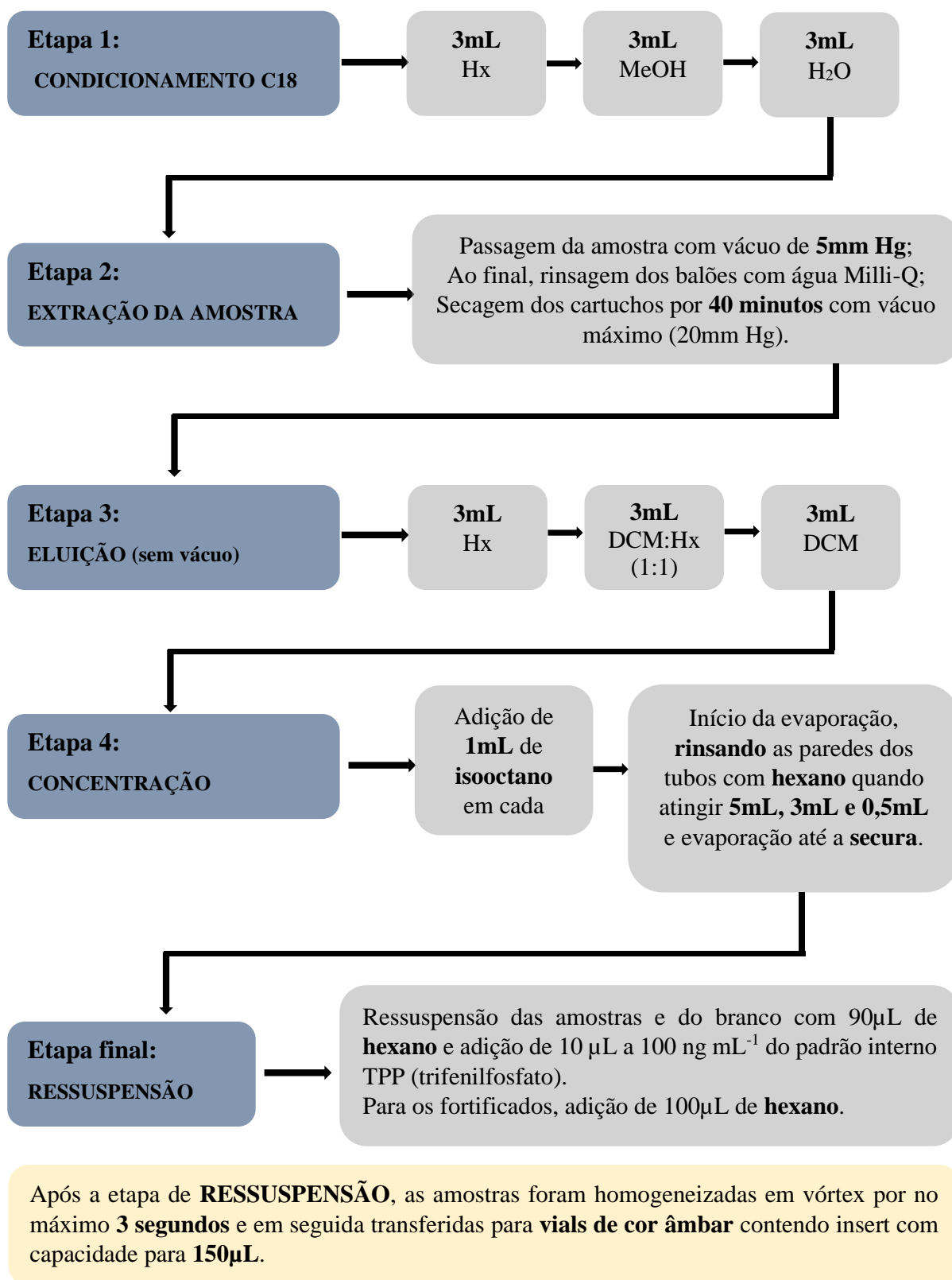


Figura 16: Fluxograma do método de análise de agrotóxicos em água.

### 4.3 Parâmetros da validação da metodologia empregados ao teste 4

#### 4.3.1 Linearidade e sensibilidade

A curva de calibração construída em acetona permitiu a compreensão da linearidade da resposta do equipamento. Os resultados da equação da reta e coeficiente de correlação entre as variáveis concentração e resposta do detector, estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8: Equação da reta da curva em acetona.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>Coeficiente de correlação linear da reta (R)</b>
Atrazina	$y = 587.404x - 8.605$	0,9998
Clorpirifós	$y = 948.446x - 23.625$	0,9992
Clorotalonil	$y = 849.502x - 45.241$	0,9800
lambda - Cialotrina	$y = 507.865x - 12.196$	0,9996
Malationa	$y = 687.923x - 37.222$	0,9800
Trifloxistrobina	$y = 803.366x - 29.365$	0,9998
Trifluralina	$y = 1.697.149x - 4.755$	0,9995

A curva de calibração na água, permitiu avaliar a linearidade do método. Os coeficientes de variação ficaram abaixo de 10% o que é desejável. Os resultados da equação da reta e coeficiente de correlação entre as variáveis concentração e resposta do detector, estão expressos na Tabela 9.

Tabela 9: Equação da reta da curva em água.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>Coefficiente de correlação linear da reta (R)</b>
Atrazina	$y = 1.915.147x - 49.398$	0,9992
Clorpirifós	$y = 822.782x - 18.600$	0,9994
Clorotalonil	$y = 3.814.075x - 328.493$	0,9859
lambda - Cialotrina	$y = 596.654x + 5.783$	0,9692
Malationa	$y = 9.097.118x - 284.573$	0,9995
Trifloxistrobina	$y = 7.348.486x - 36.599$	0,9862
Trifluralina	$y = 1.999.285x + 307.430$	0,9839

A sensibilidade foi expressa pelo coeficiente angular da reta de calibração na água, em unidades arbitrárias e está demonstrada na Tabela 10.

Tabela 10: Sensibilidade expressa pelo coeficiente angular da equação da reta em água.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>Coefficiente angular</b>
Atrazina	1.915.147
Clorpirifós	822.782
Clorotalonil	3.814.075
lambda - Cialotrina	596.654
Malationa	9.097.118
Trifloxistrobina	7.348.486
Trifluralina	1.999.285

#### 4.3.2 Limite de Detecção do Método (LDM) e Limite de Quantificação do Método (LQM)

Tabela 11: Limites de detecção e quantificação do método

Agrotóxicos	LQM ng mL <sup>-1</sup>	LDM ng mL <sup>-1</sup>
Atrazina	0,051	0,014
Clorpirifós	0,053	0,017
Clorotalonil	0,054	0,016
lambda - Cialotrina	0,208	0,069
Malationa	0,051	0,011
Trifloxistrobina	0,050	0,011
Trifluralina	0,498	0,164

#### 4.3.3 Recuperação

Tabela 12: Percentual de recuperação do método

Agrotóxicos	% Recuperação
Atrazina	93
Clorpirifós	95
Clorotalonil	102
lambda - Cialotrina	88
Malationa	105
Trifloxistrobina	99
Trifluralina	98

A recuperação superior a 100% se dá devido ao efeito matriz. Interferentes presentes na amostra, podem magnificar o sinal do equipamento. (INMETRO, 2020)

#### 4.4 Método de ozonização em água potável para degradação de agrotóxicos

O método de ozonização em água potável para degradação de agrotóxicos foi adaptado e otimizado no Laboratório de Toxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ.

Cada composto foi analisado de forma individual a fim de avaliar a existência de produtos de degradação que apresentassem toxicidade observável, evitando possíveis contaminações cruzadas ao longo do processo. Sendo assim, foram usadas garrafas de vidro âmbar com capacidade de 1000 mL como reatores, devidamente identificadas para cada um dos analitos em suas diferentes condições cinéticas.

Ao final de cada tempo de reação, as amostras já ozonizadas, passavam pela etapa de extração em fase sólida seguindo o método de extração em fase sólida otimizado e validado, conforme descrição no capítulo anterior. Ao final da etapa de EFS, as amostras foram analisadas no CG/EM/EM.

##### 4.4.1 *Experimento 1: verificação da degradação dos analitos com divisão do fluxo de $O_3$*

Neste experimento, o objetivo foi verificar o comportamento dos agrotóxicos diante da aplicação de ozônio. O teste foi feito com uma única repetição e as áreas das amostras foram analisadas e correlacionadas com o percentual de remoção em cada um dos casos.

As tabelas a seguir mostram que a divisão de fluxo de 1000 mg h<sup>-1</sup> de  $O_3$  apresentou degradação insatisfatória. Em nenhum dos tempos testados verificou-se uma degradação superior a 50%, o que confirmou a necessidade de otimização dessa condição.

Tabela 13: Experimento 1 – Trifluralina.

TRIFLURALINA			
Condição	Área da amostra I	[ $\mu$ g mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	985.247,36	1,382	-
30 minutos	897.365,14	1,259	9%
60 minutos	823.415,29	1,155	16%
90 minutos	810.254,98	1,137	18%
120 minutos	670.895,17	0,941	25%
150 minutos	516.895,21	0,725	48%

Tabela 14: Experimento 1 – Clorotalonil.

<b>CLOROTALONIL</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	4.455.369,25	1,168	-
30 minutos	4.133.504,36	1,084	7%
60 minutos	4.085.402,03	1,071	8%
90 minutos	3.865.121,78	1,013	13%
120 minutos	3.842.198,27	1,007	14%
150 minutos	3.624.899,15	0,950	19%

Tabela 15: Experimento 1 – Atrazina.

<b>ATRAZINA</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	2.365.235,29	1,250	-
30 minutos	2.185.361,52	1,155	8%
60 minutos	1.866.636,94	0,987	21%
90 minutos	1.680.255,28	0,888	29%
120 minutos	1.578.695,35	0,834	33%
150 minutos	1.158.954,77	0,613	47%

Tabela 16: Experimento 1 – Clorpirifós.

<b>CLORPIRIFÓS</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.045.299,25	1,361	-
30 minutos	957.854,35	1,247	8%
60 minutos	834.963,15	1,087	20%
90 minutos	795.854,27	1,036	24%
120 minutos	654.897,65	0,853	37%
150 minutos	578.967,15	0,754	40%

Tabela 17: Experimento 1 – Trifloxistrobina.

<b>TRIFLOXISTROBINA</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	7.825.463,78	1,073	-
30 minutos	7.137.933,96	0,979	9%
60 minutos	6.998.341,55	0,960	11%
90 minutos	6.939.211,86	0,952	11%
120 minutos	6.481.027,07	0,889	17%
150 minutos	6.128.147,19	0,841	14%

Tabela 18: Experimento 1 – Malationa.

<b>MALATIONA</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	8.833.397,00	0,997	-
30 minutos	7.895.366,45	0,892	11%
60 minutos	7.395.691,80	0,835	16%
90 minutos	6.436.981,25	0,727	27%
120 minutos	5.789.444,80	0,654	34%
150 minutos	5.396.487,12	0,609	39%

Tabela 19: Experimento 1 – lambda-Cialotrina.

<b>lambda-CIALOTRINA</b>			
Condição	Área da amostra I	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	670.975,28	1,125	-
30 minutos	597.616,80	1,002	11%
60 minutos	518.089,06	0,868	23%
90 minutos	494.584,05	0,829	26%
120 minutos	439.877,45	0,737	34%
150 minutos	411.899,19	0,690	39%

#### 4.4.2 *Experimento 2: verificação da degradação dos analitos sem divisão do fluxo de O<sub>3</sub>*

Este experimento foi realizado nas mesmas condições e tempos de reação do anterior, em duplicata, e sem divisão de fluxo de O<sub>3</sub>. Foram avaliados desvio padrão e coeficiente de variação entre as replicatas, concentração e percentual de remoção.

Após avaliação, notou-se que alguns agrotóxicos, atrazina, trifluralina, clorpirifós, malationa e lambda-cialotrina, degradaram com 30 minutos de ozonização a 2000mg h<sup>-1</sup>. Nesses casos, as cinéticas precisaram sofrer adequações e a curva de degradação com tempo de reação inferior a 30 minutos foi testada, a fim de conhecer em que tempo aconteceu a degradação em sua totalidade.

As tabelas a seguir demonstram a degradação total destes compostos em 30 minutos e a essa foi a amostra utilizada para o teste de toxicidade e para injeção no modo full scan para verificação de possíveis produtos de degradação.

Tabela 20: Experimento 2 – Atrazina.

ATRAZINA					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	3.206.893,12	2,4	78.553,16	1,223	-
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
60 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
90 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
120 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

Tabela 21: Experimento 2 – Trifluralina.

TRIFLURALINA					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	2.474.807,40	1,1	26.055,18	1,238	-
30 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
60 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
90 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
120 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%



Tabela 22: Experimento 2 – Clorpirifós.

<b>CLORPIRIFÓS</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.658.235,35	3,4	56.707,00	1,001	-
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
60 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
90 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
120 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

Tabela 23: Experimento 2 – Malationa.

<b>MALATIONA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	16.444.111,12	1,8	295.807,00	1,036	-
30 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
60 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
90 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
120 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%

Tabela 24: Experimento 2 – lambda-Cialotrina.

<b>lambda-CIALOTRINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	643.464,15	2,9	18.820,28	1,129	-
30 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
60 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
90 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
120 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	0,00	0,000	100%

Os agrotóxicos clorotalonil e trifloxistrobina, não tiveram o mesmo comportamento no processo de degradação. Após 150 minutos de ozonização, o primeiro degradou em 84% a sua concentração inicial. Já o segundo degradou 100%, porém seu tempo total foi de 120 minutos.

Tabela 25: Experimento 2 – Clorotalonil.

CLOROTALONIL					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	5.148.274,88	2,1	106.939,40	0,981	-
30 minutos	3.438.343,70	3,3	114.264,34	0,655	33%
60 minutos	2.402.161,34	10,8	258.443,40	0,458	53%
90 minutos	2.082.939,01	3,2	67.413,96	0,397	60%
120 minutos	914.421,46	1,3	12.336,86	0,174	82%
150 minutos	810.074,04	0,4	3.409,22	0,154	84%

Tabela 26: Experimento 2 – Trifloxistrobina.

TRIFLOXISTROBINA					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	2.810.001,66	2,8	55.257,48	0,999	-
30 minutos	355.875,48	4,3	10.925,42	0,126	87%
60 minutos	132.364,08	6,2	8.272,29	0,047	95%
90 minutos	42.225,96	3,8	1.602,69	0,015	98%
120 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
150 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

#### 4.4.3 Experimento 3: Primeira curva de degradação – exploratória

Como no experimento anterior, alguns agrotóxicos degradaram em até 30 minutos, foi necessário explorar tempos de reação inferiores a 30 minutos a fim de verificar o momento em que aconteceu a degradação total de cada analito. Para tanto foi construída uma curva de decaimento de 7 pontos, partindo do tempo máximo de 30 minutos até o mínimo de 5 minutos. Essa curva se aplicou aos agrotóxicos que tiveram esse perfil de degradação. Para o clorotalonil e trifloxistrobina, a cinética anterior se manteve.

Os agrotóxicos atingiram a totalidade da degradação da concentração inicial em até 20 minutos, porém cada um deles apresentou um perfil diferente.

Tabela 27: Experimento 3 – Atrazina.

<b>ATRAZINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	2.351.010,68	1,5	36.072,35	1,243	-
5 minutos	425.386,82	13,4	56.972,68	0,225	82%
10 minutos	20.615,79	6,0	1.244,75	0,011	99%
15 minutos	1.141,57	5,2	58,91	0,001	100%
20 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
25 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

A atrazina atingiu 100% de degradação com 20 minutos de ozonização. Essa condição foi confirmada no experimento 4. A Tabela 27 demonstra o percentual de remoção a partir da redução da média das abundâncias obtidas.

Tabela 28: Experimento 3 – Clorpirifós

<b>CLORPIRIFÓS</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.057.010,53	3,6	37.556,49	1,376	-
5 minutos	325.368,03	9,3	30.109,31	0,424	69%
10 minutos	13.066,96	9,9	1.299,02	0,017	99%
15 minutos	6.805,40	10,8	735,24	0,009	99%
20 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
25 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

O clorpirifós atingiu 100% de degradação, com 20 minutos de ozonização, assim como a atrazina. Essa condição também foi confirmada no experimento 4. A Tabela 28 demonstra o percentual de remoção a partir da redução da média das abundâncias obtidas.

Tabela 29: Experimento 3 – Malationa.

<b>MALATIONA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	917.215,51	2,8	25.476,02	1,071	-
5 minutos	273.810,77	12,6	34.555,01	0,320	70%
10 minutos	1.611,35	4,8	76,67	0,002	100%
15 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
20 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
25 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

A malationa atingiu 100% de degradação, com 15 minutos de ozonização. Essa condição foi confirmada no experimento 4. A Tabela 29 demonstra o percentual de remoção a partir da redução da média das abundâncias obtidas.

Tabela 30: Experimento 3 – Trifluralina.

<b>TRIFLURALINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	233.054,66	8,9	20.749,70	1,208	-
5 minutos	1.956,04	1,3	25,12	0,010	99%
10 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
15 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
20 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
25 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

A trifluralina atingiu 100% de degradação, com 10 minutos de ozonização. Essa condição foi confirmada no experimento 4. A Tabela 30 demonstra o percentual de remoção a partir da redução da média das abundâncias obtidas.

Tabela 31: Experimento 3 – lambda-Cialotrina.

<b>lambda-CIALOTRINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ] ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	671.755,45	3,3	22.467,75	1,126	-
5 minutos	28.243,81	4,9	1.378,24	0,047	96%
10 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
15 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
20 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
25 minutos	0,00	-	-	0,000	100%
30 minutos	0,00	-	-	0,000	100%

A lambda-cialotrina, assim como a trifluralina, atingiu 100% de degradação, com 10 minutos de ozonização. Essa condição foi confirmada no experimento 4. A Tabela 31 demonstra o percentual de remoção a partir da redução da média das abundâncias obtidas.

#### 4.4.4 Experimento 4: Segunda curva de degradação – confirmatória

Com base no experimento 3, tornou-se necessária a repetição das curvas de decaimento dos agrotóxicos que degradaram em até 20 minutos, como forma de confirmar essa condição da metodologia. Em relação ao clorotalonil e trifloxistrobina, os tempos das curvas anteriores foram mantidos e repetidos também.

Tabela 32: Experimento 4 – Atrazina.

<b>ATRAZINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ] ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	756.949,63	1,40	10.553,25	1,03	-
5 minutos	80.852,23	3,66	2.920,08	0,11	89%
10 minutos	645,47	3,99	25,71	0,00	100%
15 minutos	474,54	8,42	38,38	0,00	100%
20 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
25 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
30 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Tabela 33: Experimento 4 – Trifluralina.

<b>TRIFLURALINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
SEM O <sub>3</sub>	797.097,96	1,76	13.974,92	1,20	-
5 minutos	16.964,85	6,30	1.090,68	0,03	98%
10 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
15 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
20 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
25 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
30 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Tabela 34: Experimento 4 – Clorpirifós.

<b>CLORPIRIFÓS</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.236.919,10	12,01	144.134,07	1,18	-
5 minutos	64.482,19	9,73	6.073,23	0,06	95%
10 minutos	18.712,16	1,70	317,18	0,02	98%
15 minutos	8.326,52	1,81	149,20	0,01	99%
20 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
25 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
30 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Tabela 35: Experimento 4 – Malationa.

<b>MALATIONA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	5.814.972,46	3,26	190.638,52	1,15	-
5 minutos	40.879,75	2,22	920,96	0,01	99%
10 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
15 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
20 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
25 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
30 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Tabela 36: Experimento 4 – lambda-Cialotrina.

<b>lambda-CIALOTRINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	806.504,91	1,84	14.755,57	1,10	-
5 minutos	76.438,97	3,53	2.653,20	0,10	91%
10 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
15 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
20 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
25 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
30 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Tabela 37: Experimento 4 – Clorotalonil.

<b>CLOROTALONIL</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.956.482,26	2,36	45.876,68	1,00	-
30 minutos	1.475.312,46	4,52	66.605,22	0,76	25%
60 minutos	1.273.736,56	3,41	42.569,10	0,65	35%
90 minutos	975.634,50	1,08	10.581,82	0,50	50%
120 minutos	508.267,87	1,75	8.840,14	0,26	74%
150 minutos	311.677,38	1,30	4.041,06	0,16	84%

Tabela 38: Experimento 4 – Trifloxistrobina.

<b>TRIFLOXISTROBINA</b>					
Condição	Média	CV	DP	[ ]ng mL <sup>-1</sup>	% Remoção
Sem tratamento	1.952.974,69	1,61	31.086,76	1,03	-
30 minutos	337.544,39	3,95	13.035,16	0,18	83%
60 minutos	168.729,21	4,92	8.277,84	0,09	91%
90 minutos	33.019,60	0,42	139,88	0,02	98%
120 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%
150 minutos	0,00	-	0,00	0,00	100%

Comparando as curvas exploratória e confirmatória, os perfis de degradação se mantiveram os mesmos para todos os agrotóxicos, exceto para a malationa, que anteriormente havia degradado em sua totalidade no tempo de reação de 15 minutos e neste teste confirmatório, apresentou degradação total em 10 minutos.

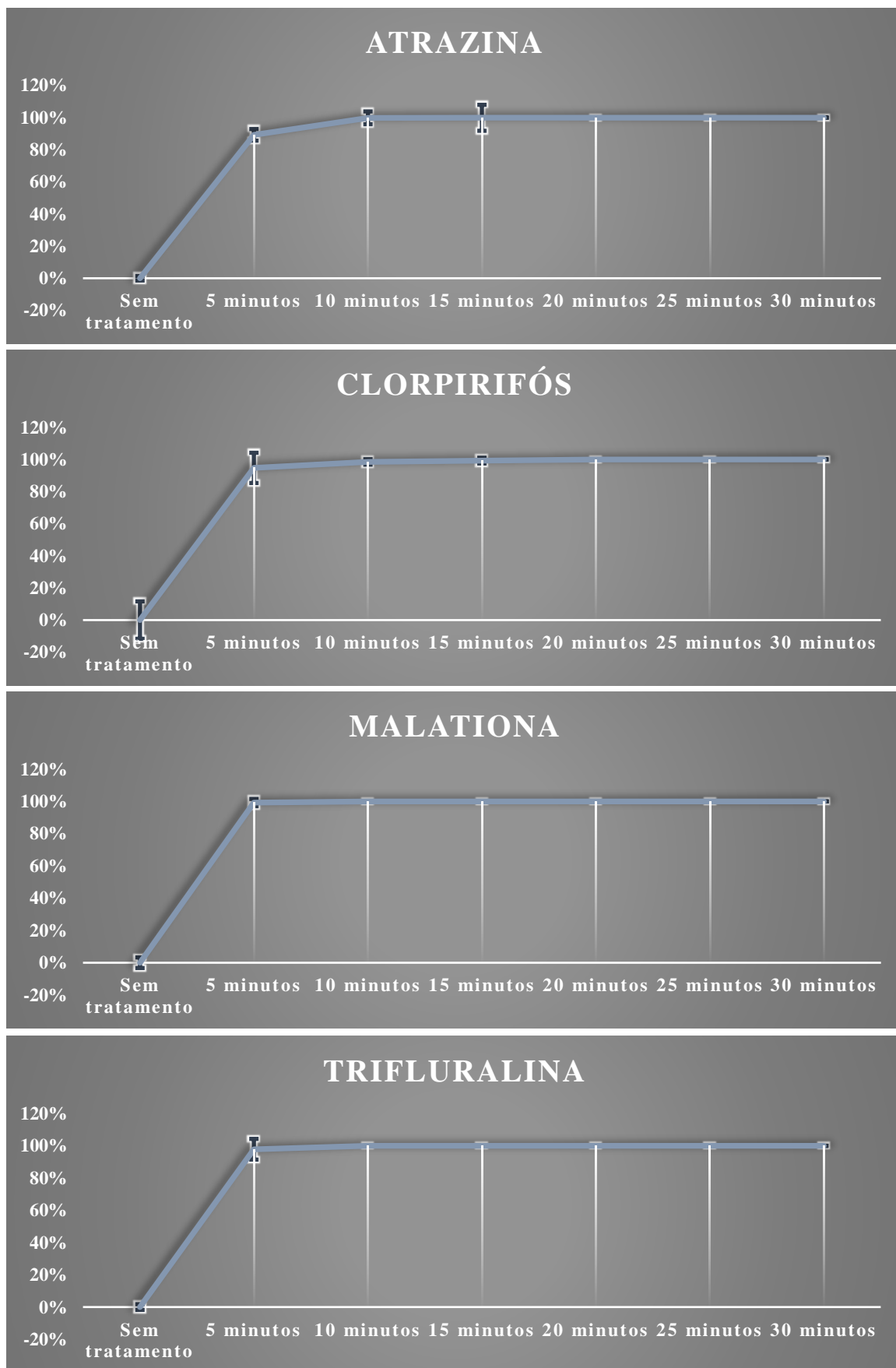


Figura 17: Curvas de degradação da atrazina, clorpirifós, malationa e trifluralina.



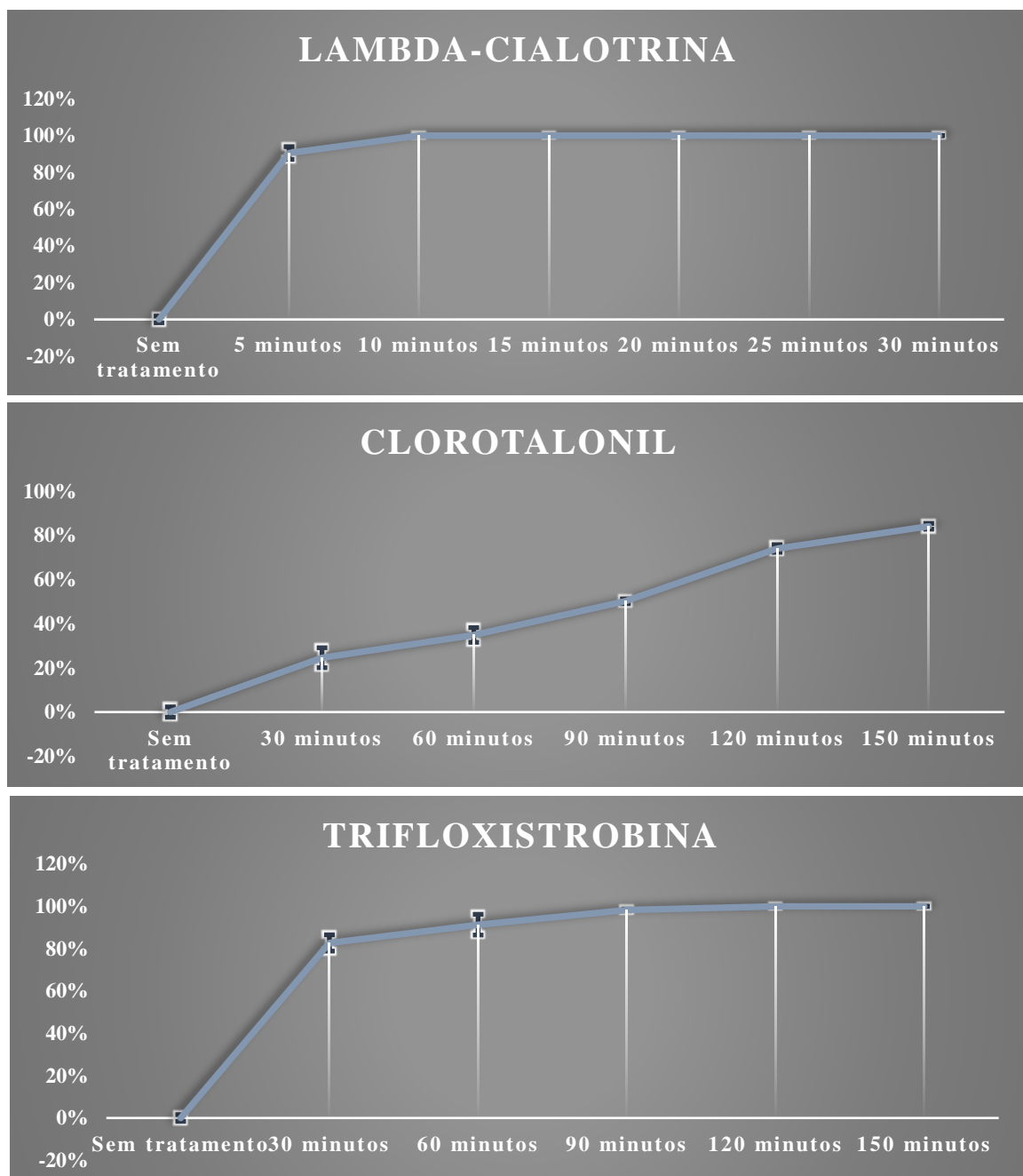


Figura 18: Curvas de degradação da lambda-cialotrina, clorotalonil e trifloxistrobina.

A Figura 17 mostra as curvas de degradação dos agrotóxicos que apresentaram remoção em sua totalidade no tempo máximo de 20 minutos, como atrazina, clorpirifós, malationa, trifluralina e lambda-cialotrina, sendo esta última localizada na Figura 18.

A Figura 18 apresenta os agrotóxicos com perfil de degradação diferente dos anteriores. Clorotalonil com 84% de remoção em 150 minutos e a trifloxistrobina com degradação total em 120 minutos.

A Figura 19 é um exemplo de análise antes e depois da ozonização extraída do CG/EM-EM, demonstrando a remoção em modo SRM, ficando em evidência apenas o agrotóxico em teste e o Trifenilfosfato (padrão interno). Todos os demais analitos estão sem integração, demonstrando que a amostra estava livre de contaminação cruzada.

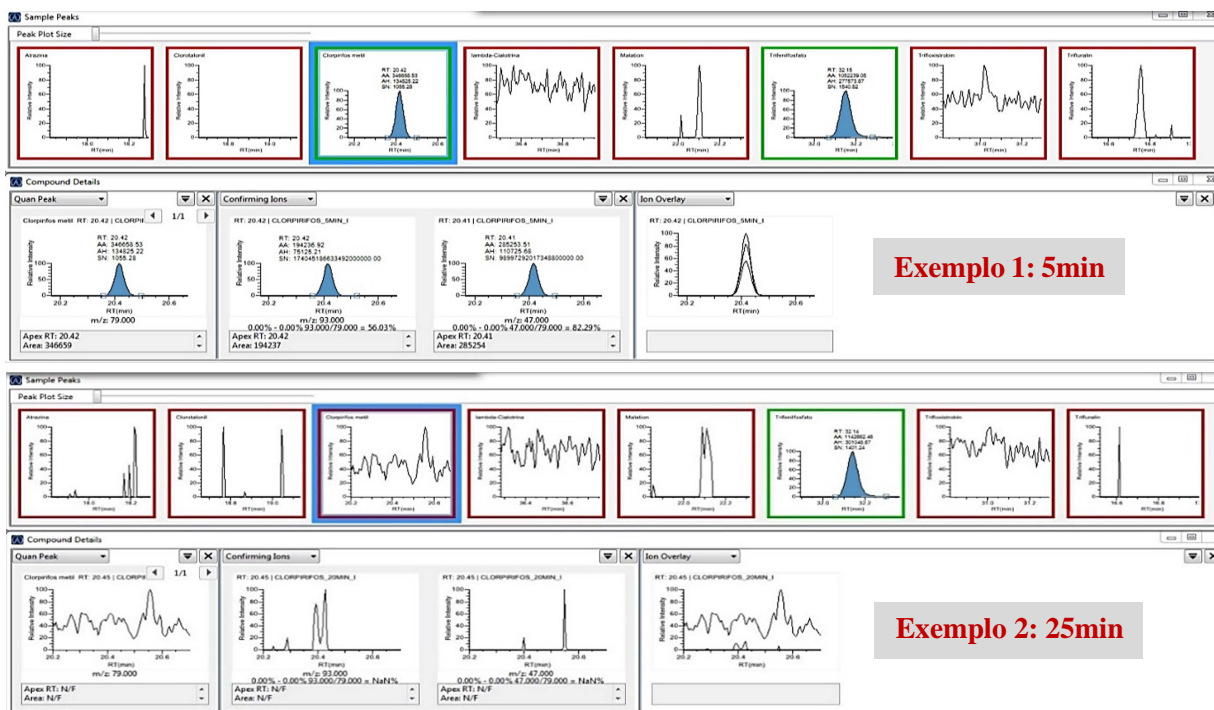


Figura 19: Análise antes e depois da ozonização comprovando a degradação

DONG et al. 2021 avaliaram a eficiência do ozônio na degradação de 29 agrotóxicos em 4 estações de tratamento de água potável, uma vez que técnicas convencionais (coagulação, sedimentação e filtração) não foram suficientes para remoção destes contaminantes. A aplicação do processo de tratamento avançado (ozonização + carvão ativado e ultrafiltração) foi capaz de remover os analitos de interesse. A degradação do isocarbofós após o processo de tratamento avançado atingiu 94,6%, enquanto no processo convencional foi de apenas 42,6%.

Já WANG et al. 2022 em seu estudo de degradação de malationa e carbosulfan, em tempo de reação de 30 minutos, atingiu 83% de remoção para o primeiro e 66,3% para o segundo. Comparando com os resultados obtidos neste trabalho, a degradação da malationa atingiu a totalidade em tempo de 10 minutos a uma concentração de ozônio de 2000 mg h-1, demonstrando maior percentual de remoção em menos tempo.

ALDEGUER ESQUERDO et al. 2021 avaliaram o percentual de degradação da atrazina em uma concentração inicial de 0,7 mg L<sup>-1</sup>, em diferentes tempos de reação, de três formas distintas: por adsorção (utilizando carvão ativado em pó e granular), por oxidação (ozonização) e combinando as duas técnicas. Apenas com a adsorção com carvão ativado em pó nos tempos de 60 minutos, 24 horas e 48 horas, os percentuais de degradação foram de 81%, 92% e 94%, respectivamente. Já para adsorção com carvão granular, o maior percentual foi de 35% em 48 horas de contato. Com a aplicação de ozônio, o percentual de recuperação foi de 93% já nos primeiros 18 minutos, equiparando-se com este estudo que obteve 100% de degradação deste analito com 20 minutos. Apesar da eficiência em curto tempo, foram gerados produtos de degradação. Quando as técnicas foram combinadas, primeiro carvão em pó seguido de ozonização, a degradação atingiu 90% em 17 minutos e para o carvão granular, 3 dias. Quando foram invertidas, ozonização, seguida de carvão em pó, a degradação ocorreu em 52 minutos e 4 dias para carvão granular. Em comparação com este estudo, o processo de oxidação por ozonização isolado demonstra melhor performance, baixo custo e degradação satisfatória.

KIEFER et al. 2020 relatam difícil degradação completa dos produtos de degradação do clorotalonil, encontrados em quase todas as amostras de água do estudo. Os produtos de transformação fenólicos puderam ser removidos por técnicas como ozonização, processos oxidativos avançados (POAs), carvão ativado e até desinfecção UV. Já os sulfônicos, menos ricos em elétrons, são mais resistentes e não puderam ser removidos nem por ozonização, nem por POAs. Esses produtos são adsorvidos pelo carvão ativado e, para uma remoção eficiente, o carvão precisaria ser trocado com maior frequência, o que aumentaria muito o custo do tratamento. A osmose reversa diminuiu significativamente os produtos de degradação do clorotalonil em 98%. Esse estudo vai de encontro com a dificuldade de degradação dessa molécula apesar de ter o maior tempo de contato com ozônio quando comparado com os demais analitos. Além da não degradação em sua totalidade, a avaliação de toxicidade, que será vista no tópico 4.5, demonstra que a água não está apta ao reuso.

BOHNENBERGER 2022 utilizou efluente sintético de atrazina com valores próximos a de águas residuárias de lavagem de embalagens e fábricas de agrotóxicos, degradando este agrotóxico em 45 minutos a uma concentração de ozônio de 45mg L<sup>-1</sup>.

Outros estudos avaliaram a eficiência da técnica da degradação de agrotóxicos por ozonização, sozinha ou combinada com outros processos de oxidação avançados, em outras matrizes como alimentos e solo, demonstrados a seguir.

ANBARASAN et al. 2022 avaliaram a degradação de clorpirifós em amostras de soja utilizando ozônio e plasma frio por 30 minutos e verificaram que houve uma redução de 50% da concentração de clorpirifós quando degradado por ozônio com concentração de 550mg/L. Já o plasma frio atingiu a mesma resposta de degradação em apenas 6 minutos.

Apesar de o tempo de tratamento ter causado uma redução significativa no teor de umidade e na integridade do revestimento da semente, alterando em pequenas proporções a qualidade da mesma, o plasma mostrou-se mais eficaz. Apesar das matrizes serem diferentes, este estudo degradou clorpirifós em sua totalidade apenas com ozônio em concentração quatro vezes maior e em 20 minutos.

#### *4.4.5 Análise full scan das amostras com degradação completa*

Para a verificação de prováveis produtos de degradação foi necessária a injeção de cada amostra degradada e seu respectivo tempo de degradação total.

Após as injeções, verificou-se que para todos os agrotóxicos o perfil se manteve o mesmo. Os picos evidenciados no cromatograma demonstraram que não houve produtos de degradação que poderiam ser correlacionados com os analitos deste estudo, visto terem massas moleculares muito superiores às massas dos analitos íntegros, e que apresentassem toxicidade observável no ensaio realizado.

As figuras dos cromatogramas que exemplificam branco de solvente orgânico (hexano), branco da matriz e a inexistência de produtos de degradação observáveis, podem ser verificadas no Anexo 2 (Figuras 1, 2 e 3 respectivamente).

As Figuras 4, 5 e 6 do Anexo 2 demonstram as características químicas das substâncias que aparecem em todas as amostras, inclusive no branco da matriz, e seus respectivos tempos de retenção, extraídas do banco de espectros NIST, disponível no próprio software Trace Finder do equipamento.

#### **4.5 Ensaio de toxicidade aguda com *Artemias salina***

Este teste teve como objetivo verificar se as amostras degradadas por ozônio apresentavam ou não toxicidade. Para tanto foi realizado um ensaio de toxicidade com *Artemias salinas*. A Figura 20 representa o desenho experimental descrito na metodologia e a Figura 21,

os 100 organismos, subdivididos em 4 grupos de 25, utilizados como controle em água livre de agrotóxicos.

O ensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*, é uma abordagem largamente utilizada em estudos toxicológicos e ecotoxicológicos devido a fatores como alta disponibilidade no mercado e fácil manutenção em condições laboratoriais. Uma das formas mais comumente empregadas de avaliação e emprego desses organismos, é através da taxa de mortalidade, a qual fornece resultados rápidos para aferir a toxicidade aguda das substâncias a serem estudadas. Utilizando esse modelo, portanto, podemos extrapolar no prazo de até 48 horas diversos parâmetros toxicológicos, sendo o mais adequado para esse trabalho, a determinação qualitativa. (ALBARANO et al., 2022)

Ao final da análise, foi possível classificar as amostras em “tóxicas” ou “não tóxicas”.

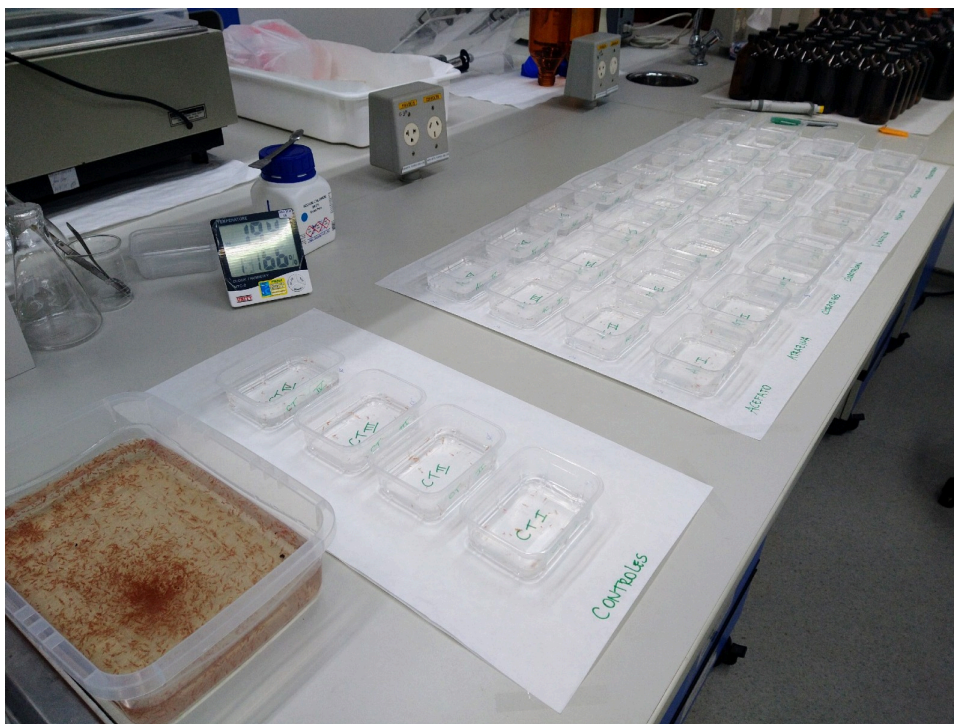


Figura 20: Ensaio de toxicidade aguda com *Artemias salinas*

#### 4.5.1 Controles

Nos 4 grupos de 25 organismos submetidos ao teste de toxicidade na condição de controles, apenas 2 morreram nas primeiras 24 horas e 12 ao final das 48 horas do teste. Esse

resultado mostrou-se favorável e eficiente, demonstrando que as condições do ambiente, como temperatura da sala, pH da água e fotoperíodo foram adequados.

A estatística descritiva demonstrada nas Tabelas 40, 42, 44, 46, 49, 52, 55 e 58, demonstram que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes ao **controle**, foram de 0,630, para 24 horas, e de 0,953, para as 48 horas, sendo ambos menores que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeitou-se a hipótese de normalidade.

Por essa razão utilizou-se para a avaliação de significância estatística, o teste de Mann-Whitney, o qual é recomendado para dados não paramétricos. Pode-se notar também a representação de um a valor NaN (Not a Number), o qual é utilizado pelo programa para devolver um resultado numérico não representável.

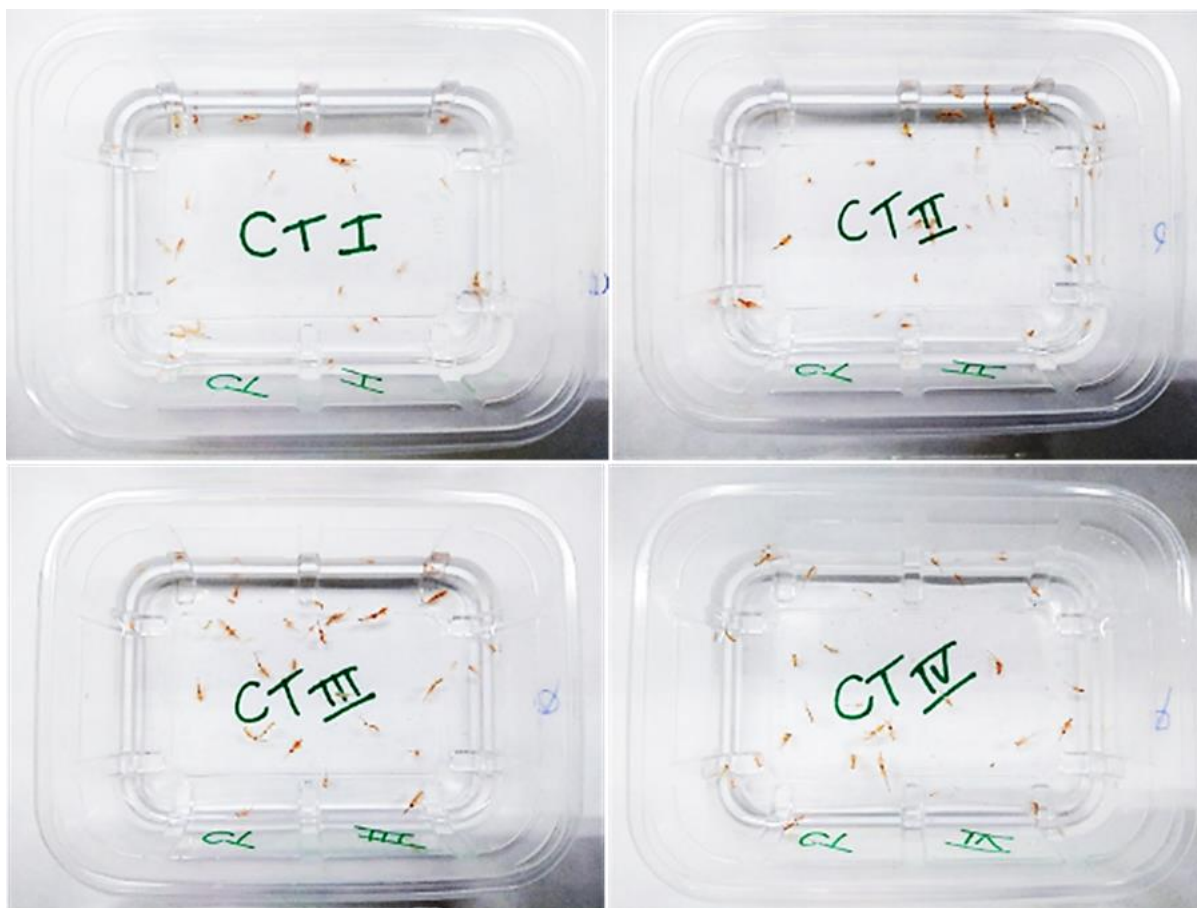


Figura 21: Replicatas do ensaio de toxicidade – Controles



#### 4.5.2 Atrazina

Para o agrotóxico atrazina, quando comparado ao controle, nas mesmas condições experimentais, não foi observada nenhuma perda nas 24 horas iniciais. Já nas 48 horas finais, 17 organismos morreram. A Tabela 39 mostra um comparativo entre o controle e a atrazina que melhor detalha essa situação.



Figura 22: Replicatas do ensaio de toxicidade - Atrazina

Tabela 39: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Atrazina.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	Atrazina I	25	25	19
Controle II	25	25	23	Atrazina II	25	25	21
Controle III	25	25	22	Atrazina III	25	25	21
Controle IV	25	25	25	Atrazina IV	25	25	22
Total	100	98	88	Total	100	100	83

A estatística descritiva apresentada na tabela 40, demonstrou que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a *atrazina* foram de NaN para 24 horas (o qual não é utilizado para efeito estatístico), e de 0,895, para as 48 horas, sendo este menor que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeitou-se a hipótese de normalidade.

O teste estatístico de Mann-Whitney (tabela X) retornou valores *p* de 0,453, para as 24 horas e de 0,381, para as 48 horas, demonstrando não haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico atrazina, após o tratamento com ozonização.

Tabela 40: Estatística descritiva - Atrazina.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Atrazina	25.0	25.0	20.8
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Atrazina	0.00	0.00	1.26
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Atrazina	NaN	NaN	0.895
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Atrazina	NaN	NaN	0.406

Tabela 41: Teste Mann Whitney - Atrazina.

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney	6.00	0.453	

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney	4.50	0.381	

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico atrazina, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 20 minutos, a amostra foi considerada “**não tóxica**” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.



### 4.5.3 Malationa

O agrotóxico malationa, quando comparado ao controle nas mesmas condições experimentais, 2 perdas foram observadas nas 24 horas iniciais. Já nas 48 horas finais, 18 organismos morreram. A Tabela 42 mostra um comparativo entre o controle e a malationa que melhor detalha essa situação.



Figura 23: Replicatas do ensaio de toxicidade – Malationa

Tabela 42: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Malationa.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	Malationa I	25	25	23
Controle II	25	25	23	Malationa II	25	24	20
Controle III	25	25	22	Malationa III	25	25	20
Controle IV	25	25	25	Malationa IV	25	24	19
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>98</b>	<b>88</b>	<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>98</b>	<b>82</b>

A estatística descritiva apresentada na Tabela 43, demonstrou que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a *malationa*, foram de 0,729, para 24 horas, e de 0,840, para as 48 horas, sendo ambos menores que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeitou-se a hipótese de normalidade.

O teste estatístico de Mann-Whitney (tabela 44) retornou valores *p* de 0,868, para as 24 horas e de 0,559, para as 48 horas, demonstrando não haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico malationa, após o tratamento com ozonização.

Tabela 43: Estatística descritiva - Malationa.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Malationa	25.0	24.5	20.5
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Malationa	0.00	0.577	1.73
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Malationa	NaN	0.729	0.840
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Malationa	NaN	0.024	0.195

Tabela 44: Teste Mann Whitney - Malationa.

Teste t para amostras independentes				
			Estatística	p
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney		7.00	0.868

Teste t para amostras independentes				
			Estatística	p
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney		5.50	0.559

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico malationa, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 10 minutos, a amostra foi considerada “**não tóxica**” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.

#### 4.5.4 Trifluralina

Para o agrotóxico trifluralina, quando comparado ao controle, nas mesmas condições experimentais, 3 perdas foram observadas nas 24 horas iniciais. Já nas 48 horas finais, 9 organismos morreram. A Tabela 45 mostra um comparativo entre o controle e a trifluralina, que melhor detalha essa situação.



Figura 24: Replicatas do ensaio de toxicidade - Trifluralina

Tabela 45: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Trifluralina.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	Trifluralina I	25	25	21
Controle II	25	25	23	Trifluralina II	25	23	23
Controle III	25	25	22	Trifluralina III	25	24	24
Controle IV	25	25	25	Trifluralina IV	25	25	23
Total	100	98	88	Total	100	97	91

A estatística descritiva apresentada na Tabela 46, demonstra que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a *trifluralina*, foram de 0,863, para 24 horas, e de 0,895, para as 48 horas, sendo ambos menores que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeita-se a hipótese de normalidade.

O teste estatístico de Mann-Whitney (Tabela 47) retornou valores *p* de 0,739, para as 24 horas e de 0,882, para as 48 horas, demonstrando não haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico trifluralina, após o tratamento com ozonização.

Tabela 46: Estatística descritiva - Trifluralina.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Trifluralina	25.0	24.3	22.8
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Trifluralina	0.00	0.957	1.26
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Trifluralina	NaN	0.863	0.895
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Trifluralina	NaN	0.272	0.406

Tabela 47: Teste Mann Whitney - Trifluralina.

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney	6.50	0.739	

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney	7.00	0.882	

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico trifluralina, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 10 minutos, a amostra foi considerada “**não tóxica**” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.



#### 4.5.5 Clorpirifós

Para o agrotóxico clorpirifós, quando comparado ao controle, nas mesmas condições experimentais, 8 perdas foram observadas nas 24 horas iniciais. Já nas 48 horas finais, 18 organismos morreram. A Tabela 48, mostra um comparativo entre o controle e a clorpirifós, que melhor detalha essa situação.



Figura 25: Replicatas do ensaio de toxicidade – Clorpirifós

Tabela 48: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Clorpirifós.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	Clorpirifós I	25	24	21
Controle II	25	25	23	Clorpirifós II	25	22	19
Controle III	25	25	22	Clorpirifós III	25	22	21
Controle IV	25	25	25	Clorpirifós IV	25	24	21
Total	100	98	88	Total	100	92	82

A estatística descritiva apresentada na Tabela 49, demonstra que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a *clorpirifós*, foram de 0,729, para 24 horas, e de 0,630 para as 48 horas, sendo ambos menores que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeita-se a hipótese de normalidade.

O teste estatístico de Mann-Whitney (Tabela 50) retornou valores *p* de 0,099, para as 24 horas e de 0,301, para as 48 horas, demonstrando não haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico clorpirifós, após o tratamento com ozonização.

Tabela 49: Estatística descritiva - Clorpirifós.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Clorpirifós	25.0	23.0	20.5
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Clorpirifós	0.00	1.15	1.00
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Clorpirifós	NaN	0.729	0.630
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Clorpirifós	NaN	0.024	0.001

Tabela 50: Teste Mann Whitney - Clorpirifós.

Teste t para amostras independentes			
		Estatística	p
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney	2.00	0.099
Teste t para amostras independentes			
		Estatística	p
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney	4.00	0.301

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico clorpirifós, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 20 minutos, a amostra foi considerada “**não tóxica**” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.

#### 4.5.6 *lambda-Cialotrina*

Para o agrotóxico *lambda-cialotrina*, quando comparada ao controle, nas mesmas condições experimentais, 1 perdas foram observadas nas 24 horas iniciais. Já nas 48 horas finais, 10 organismos morreram. A Tabela 51, mostra um comparativo entre o controle e a *lambda-cialotrina*, que melhor detalha essa situação.



Figura 26: Replicatas do ensaio de toxicidade – *lambda-Cialotrina*

Tabela 51: Comparativo mortalidade 24 e 48h da *lambda-Cialotrina*.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	I-Cialotrina I	25	24	20
Controle II	25	25	23	I-Cialotrina II	25	25	23
Controle III	25	25	22	I-Cialotrina III	25	25	24
Controle IV	25	25	25	I-Cialotrina IV	25	25	23
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>98</b>	<b>88</b>	<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>99</b>	<b>90</b>

A estatística descritiva apresentada na Tabela 52, demonstra que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a ***lambda-Cialotrina***, foram de 0,630, para 24 horas, e de 0,840 para as 48 horas, sendo ambos menores que o valor tabelado de 0,985 (para uma população amostral de 25 organismos e com intervalo de confiança de 95%), portanto rejeita-se a hipótese de normalidade.

O teste estatístico de Mann-Whitney (Tabela 53) retornou valores *p* de 1,000, para as 24 horas e de 0,882, para as 48 horas, demonstrando não haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico ***lambda-cialotrina***, após o tratamento com ozonização.

Tabela 52: Estatística descritiva – ***lambda-Cialotrina***.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	I-Cialotrina	25.0	24.8	22.5
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	I-Cialotrina	0.00	0.500	1.73
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	I-Cialotrina	NaN	0.630	0.840
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	I-Cialotrina	NaN	0.001	0.195

Tabela 53: Teste Mann Whitney – ***lambda-Cialotrina***.

Teste t para amostras independentes				
			Estatística	p
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney		7.50	1.000
Teste t para amostras independentes				
			Estatística	p
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney		7.00	0.882

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico ***lambda-cialotrina***, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 10 minutos, a amostra foi considerada “**não tóxica**” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.



#### 4.5.7 Clorotalonil

Para o agrotóxico clorotalonil, quando comparado ao controle, nas mesmas condições experimentais, todos morreram nas 24 horas iniciais. A Tabela 54, mostra um comparativo entre o controle e a clorotalonil, que melhor detalha essa situação.



Figura 27: Replicatas do ensaio de toxicidade - Clorotalonil

Tabela 54: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Clorotalonil.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18
Controle II	25	25	23
Controle III	25	25	22
Controle IV	25	25	25
Total	100	98	88

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Clorotalonil I	25	0	0
Clorotalonil II	25	0	0
Clorotalonil III	25	0	0
Clorotalonil IV	25	0	0
Total	100	0	0

A estatística descritiva apresentada na Tabela 55, demonstra que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a **clorotalonil**, foram de NaN, para 24 horas e para as 48 horas, os quais não são utilizados para efeito estatístico. Como nesse caso todos os organismos estavam mortos nas primeiras 24 horas, não foi possível realizar essa análise, sendo, nesse caso, extrapolado dos resultados anteriores a anuência para a utilização do segundo teste estatístico, como descrito no parágrafo seguinte.

O teste estatístico de Mann-Whitney (Tabela 56) retornou valores *p* de 0,018, para as 24 horas e de 0,021, para as 48 horas, demonstrando haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico clorotalonil, após o tratamento com ozonização.

Tabela 55: Estatística descritiva - Clorotalonil.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Clorotalonil	25.0	0.00	0.00
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Clorotalonil	0.00	0.00	0.00
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Clorotalonil	NaN	NaN	NaN
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Clorotalonil	NaN	NaN	NaN

Tabela 56: Teste Mann Whitney – Clorotalonil.

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney	0.00	0.018	

Teste t para amostras independentes				
		Estatística	p	
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney	0.00	0.021	

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico clorotalonil, ao atingir a degradação de 84% fixada no tempo de reação de 150 minutos, a amostra foi considerada “tóxica” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.

#### 4.5.8 Trifloxistrobina

Para o agrotóxico trifloxistrobina, quando comparado ao controle, nas mesmas condições experimentais, todos morreram nas 24 horas iniciais. A Tabela 57, mostra um comparativo entre o controle e a trifloxistrobina que melhor detalha essa situação.



Figura 28: Replicatas do ensaio de toxicidade - Trifloxistrobina

Tabela 57: Comparativo mortalidade 24 e 48h da Trifloxistrobina.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h
Controle I	25	23	18	Trifloxistrobina I	25	0	0
Controle II	25	25	23	Trifloxistrobina II	25	0	0
Controle III	25	25	22	Trifloxistrobina III	25	0	0
Controle IV	25	25	25	Trifloxistrobina IV	25	0	0
Total	100	98	88	Total	100	0	0

A estatística descritiva apresentada na Tabela 58, demonstra que os valores de W de Shapiro-Wilk calculados nos dois momentos experimentais referentes a *trifloxistrobina*, foram de NaN, para 24 horas e para as 48 horas, os quais não são utilizados para efeito estatístico. Como nesse caso todos os organismos estavam mortos nas primeiras 24 horas, não foi possível realizar essa análise, sendo, nesse caso, extrapolado dos resultados anteriores a anuência para a utilização do segundo teste estatístico, como descrito no parágrafo seguinte.

O teste estatístico de Mann-Whitney (Tabela 59) retornou valores *p* de 0,018, para as 24 horas e de 0,021, para as 48 horas, demonstrando haver significância estatística entre o número de organismos vivos nos grupos controle e nos grupos expostos ao agrotóxico trifloxistrobina, após o tratamento com ozonização.

Tabela 58: Estatística descritiva - Trifloxistrobina.

Estatística Descritiva				
	Grupos	VIVOS 0	VIVOS 24 Horas	VIVOS 48 Horas
Média	Controle	25.0	24.5	22.0
	Trifloxistrobina	25.0	0.00	0.00
Desvio-padrão	Controle	0.00	1.00	2.94
	Trifloxistrobina	0.00	0.00	0.00
W de Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.630	0.953
	Trifloxistrobina	NaN	NaN	NaN
p Shapiro-Wilk	Controle	NaN	0.001	0.734
	Trifloxistrobina	NaN	NaN	NaN

Tabela 59: Teste Mann Whitney – Trifloxistrobina.

Teste t para amostras independentes			
		Estatística	p
VIVOS 24 Horas	U de Mann-Whitney	0.00	0.018
Teste t para amostras independentes			
		Estatística	p
VIVOS 48 Horas	U de Mann-Whitney	0.00	0.021

Os testes estatísticos confirmaram que para o agrotóxico trifloxistrobina, ao atingir a degradação completa no tempo de reação de 120 minutos, a amostra foi considerada “tóxica” na análise qualitativa do ensaio de toxicidade aguda para *Artemia salina*.

As figuras 29 e 30 mostram os gráficos de comparação entre os intervalos de tempo de 24 horas e 48 horas e o perfil dos agrotóxicos, comparando com os demais e de forma individual.

Tabela 60: Comparativo de mortalidade de todos os agrotóxicos 24 e 48 horas.

Amostras	Vivos 0	Vivos 24h	Vivos 48h	Perdas 48h
Controles total	100	98	88	12
Atrazina total	100	100	83	17
Malationa total	100	98	88	12
Trifluralina total	100	97	91	9
Clorpirifós total	100	92	82	18
l-Cialotrina total	100	99	90	10
Clorotalonil total	100	0	0	100
Trifloxistrobina total	100	0	0	100

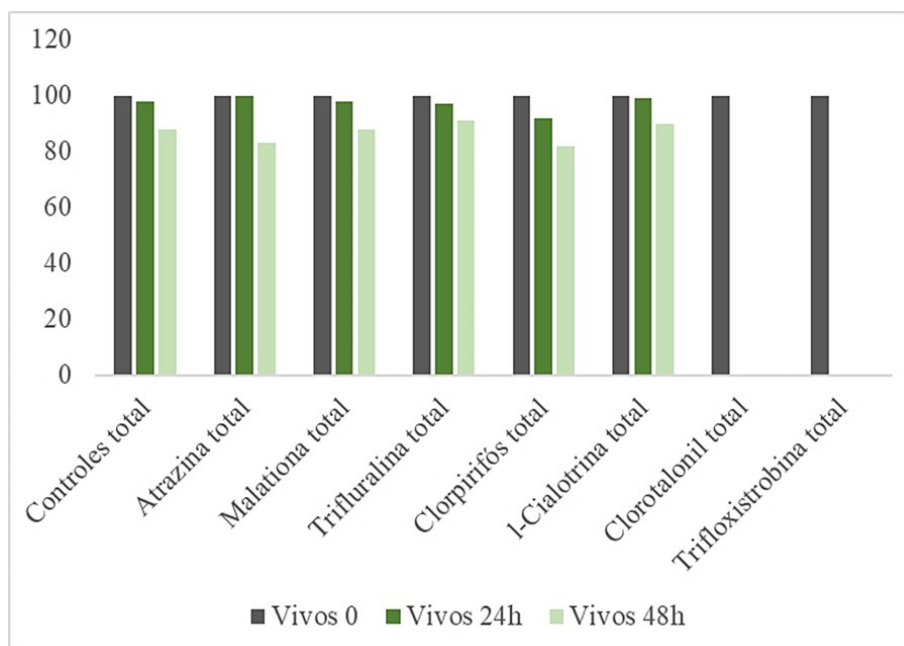


Figura 29: Comparativo da toxicidade em 24 e 48 horas de todos os agrotóxicos

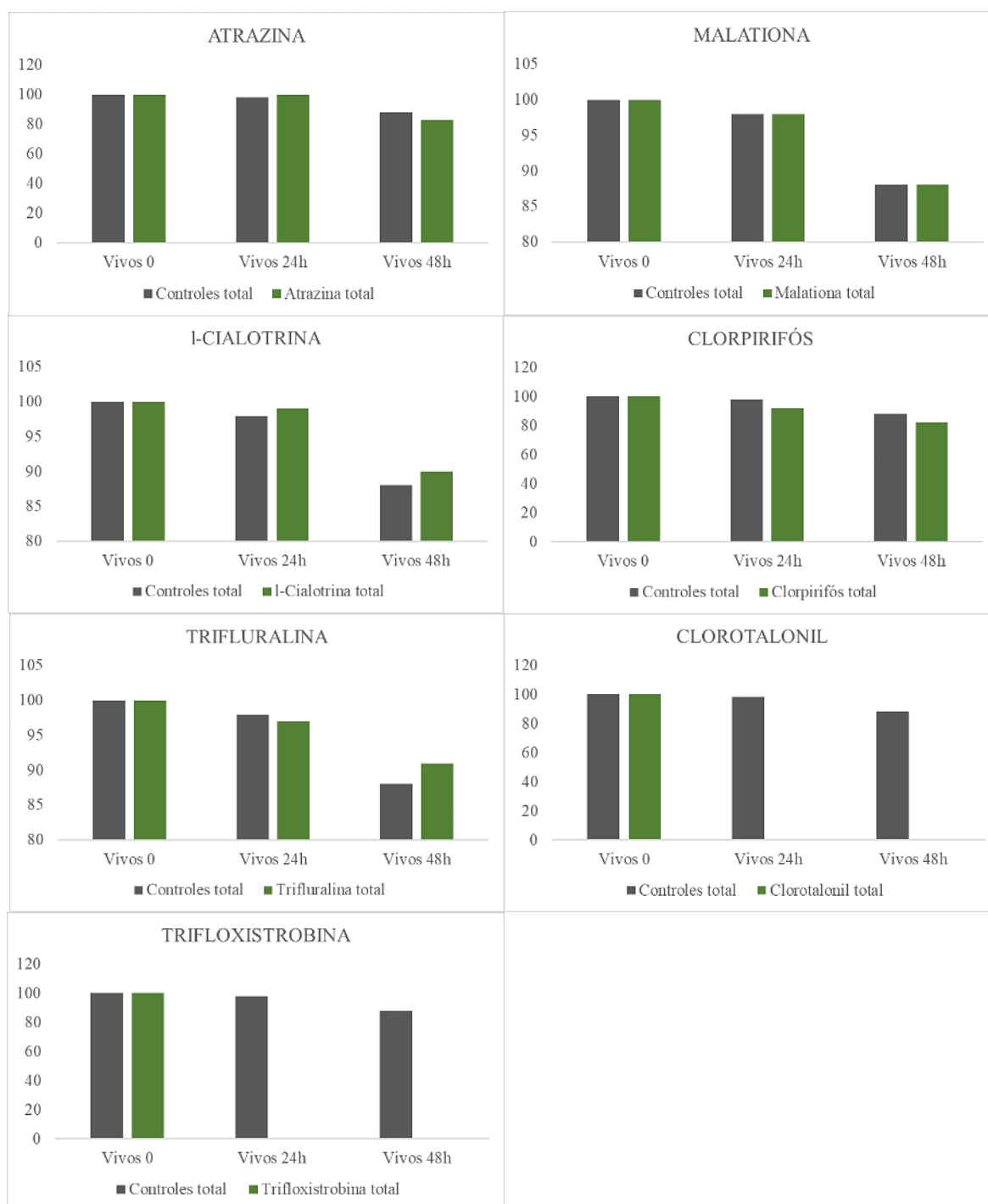


Figura 30: Toxicidade em 24 e 48 horas dos agrotóxicos individualmente

Tabela 61: Resumo da análise estatística do ensaio de toxicidade aguda.

Amostras	W de Shapiro-Wilk 24 horas	W de Shapiro-Wilk 48 horas	U de Mann-Whitney 24	U de Mann-Whitney 48	Análise qualitativa
Controles total	0.630	0.953	-	-	-
Atrazina total	NaN	0.895	0.453	0.381	"não tóxica"
Malationa total	0.729	0.840	0.868	0.559	"não tóxica"
Trifluralina total	0.863	0.895	0.739	0.882	"não tóxica"
Clorpirifós total	0.729	0.630	0.099	0.301	"não tóxica"
l-Cialotrina total	0.630	0.840	1.000	0.882	"não tóxica"
Clorotalonil total	NaN	NaN	0.018	0.021	"tóxica"
Trifloxistrobina total	NaN	NaN	0.018	0.021	"tóxica"

NaN - Not a Number

W de Shapiro-Wilk tabelado para N de 25 = 0,985 com 95% de intervalo de confiança  
p-valor 0,05

Esses resultados demonstram que clorotalonil e trifloxistrobina apresentaram toxicidade para a *Artemia salina* por estarem em sua forma íntegra, e não terem sido degradados. Já atrazina, trifluralina, clorpirifós, malationa e lambda-cialotrina, não apresentaram toxicidade no ensaio, demonstrando que a ozonização degradou estes agrotóxicos e que o produto gerado no processo de ozonização, não apresentou toxicidade observável por este ensaio.

Em se tratando de exposição à agrotóxicos organofosforados, é preciso maior cautela. Uma vez que estudos (FORGET et al., 1998; VARÓ et al., 1998, 2002) apontam a resistência de *Artemia salina* e *Artemia parthenogenetica* a essas substâncias, sendo unicamente o ensaio biológico, desaconselhável nessas circunstâncias, devendo uma outra forma de avaliação da remoção desses compostos, ser empregada conjuntamente.



## 5. CONCLUSÃO

Os resultados estão sendo apresentados pela primeira vez, com a união de três técnicas que se complementaram ao longo do processo, para confirmarem a degradação dos agrotóxicos e qualidade da água, demonstrando sua relevância para a comunidade científica.

A degradação em sua totalidade foi bem-sucedida no tempo de reação de até 20 minutos, com concentração de  $O_3$  de 2000 mg  $h^{-1}$ . Os agrotóxicos atendidos nessas condições foram trifluralina, atrazina, clorpirifós, malationa e lambda-cialotrina. O ensaio de toxicidade demonstrou não haver significância estatística entre os organismos dos grupos controle e desses agrotóxicos, sendo as amostras consideradas não tóxicas.

Em relação aos agrotóxicos clorotalonil e trifloxistrobina, não foi possível obter degradação total no tempo de 30 minutos como os demais. Para o clorotalonil, o percentual máximo de degradação, atingiu 84% em 150 minutos, necessitando de outros experimentos futuros para sua otimização. Já a trifloxistrobina, atingiu 100% da degradação em 120 minutos de ozonização, necessitando também de experimentos futuros para melhores resultados. Os ensaios de toxicidade, para esses dois compostos, determinaram que havia significância estatística entre os grupos, tratando-se então de amostras tóxicas.

O método de ozonização para degradação de agrotóxicos se mostrou eficiente, de fácil execução e baixo custo, demonstrando ter aplicabilidade para águas residuárias de agricultura e de estação de tratamento.



## Referências Bibliográficas

ABNT 12713. **Ecotoxicologia aquática. Toxicidade aguda. Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera) Aquatic ecotoxicology. Acute toxicity. Test with Daphnia spp (Cladocera, Crustacea).** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/joaquimgoncalvesmachadone to/nbr12713-2016-toxic-aguda-daphnia.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2023.

ALBARANO, L. et al. Genotoxicity in Artemia spp.: An old model with new sensitive endpoints. **Aquatic Toxicology**, v. 252, p. 106320, 1 nov. 2022.

ALDEGUER ESQUERDO, A. et al. Efficacy of atrazine pesticide reduction in aqueous solution using activated carbon, ozone and a combination of both. **Science of The Total Environment**, v. 764, p. 144301, 10 abr. 2021.

ANBARASAN, R. et al. Chlorpyrifos pesticide reduction in soybean using cold plasma and ozone treatments. **LWT**, v. 159, p. 113193, 1 abr. 2022.

ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641–654, 1 jun. 2016.

ANVISA. **Reclassificação dos Agrotóxicos.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <[encurtador.com.br/doGOT](http://encurtador.com.br/doGOT)>. Acesso em: 30 jan. 2023.

AOAC INTERNATIONAL. Guidelines for Standard Method Performance Requirements. 2016.

BARBOSA, M. O. et al. Eco-friendly LC-MS/MS method for analysis of multi-class micropollutants in tap, fountain, and well water from northern Portugal. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2016.

BOHNENBERGER, L. DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA PRESENTE EM ÁGUAS PELO PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO DE ELETRO-FOTO-OZONIZAÇÃO. **UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL CAMPUS CERRO LARGO**, 2022.

BRASIL. LEI N° 7802. **Lei 7802.** Disponível em: <[https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l7802.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm)>. Acesso em: 12 fev. 2023.

BUENO, M. R.; CUNHA, J. P. A. R. DA; DE SANTANA, D. G. Assessment of spray drift from pesticide applications in soybean crops. **Biosystems Engineering**, v. 154, p. 35–45, 1 fev. 2017.

CASSOLI, D. R. et al. VIII IBEROLAB DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO MULTIRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ÁGUA UTILIZANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE) E GC-MS/MS. 2017.

CEPEA - USP. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - CEPEA-Esalq/USP. 2023.

CLEM, V.; MENDONÇA, H. V. DE. Ozone reactor combined with ultrafiltration membrane: A new tertiary wastewater treatment system for reuse purpose. **Journal of environmental management**, v. 315, 1 ago. 2022.

CRUZEIRO, C. et al. Occurrence and seasonal loads of pesticides in surface water and suspended particulate matter from a wetland of worldwide interest-the Ria Formosa Lagoon, Portugal. **Environ Monit Assess**, v. 187, p. 669, 2015.

DE SOUZA, D. S. et al. Optimization of Ozone Application in Post-Treatment of Cattle Wastewater from Organic Farms. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 7, p. 1–10, 1 jul. 2020a.

DE SOUZA, R. M. et al. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 135, p. 22–37, 1 mar. 2020b.

DONATO, F. F. et al. Development of a Multiresidue Method for Pesticide Analysis in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Determination by Gas and Liquid Chromatography with Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 10, p. 2077–2087, 1 out. 2015.

DONG, H. et al. Effective abatement of 29 pesticides in full-scale advanced treatment processes of drinking water: From concentration to human exposure risk. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123986, 5 fev. 2021.

EL-NAHHAL, I.; EL-NAHHAL, Y. Pesticide residues in drinking water, their potential risk to human health and removal options. **Journal of Environmental Management**, v. 299, p. 113611, 1 dez. 2021.

EPA. **What is a Pesticide?** Disponível em: <<https://www.epa.gov/minimum-risk-pesticides/what-pesticide>>. Acesso em: 30 jan. 2023.

EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY. Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. 2021.

FAO. Pesticides use, pesticides trade and pesticides indicators. 2022.

FERREIRA FILIZOLA, H. et al. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 659–667, 2002.

FORGET, J. et al. Mortality and LC50 Values for Several Stages of the Marine Copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) Exposed to the Metals Arsenic and Cadmium and the Pesticides Atrazine, Carbofuran, Dichlorvos, and Malathion. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 40, n. 3, p. 239–244, 1 jul. 1998.

GHS UNECE. GLOBALLY HARMONIZED SYSTEM OF CLASSIFICATION AND LABELLING OF CHEMICALS (GHS). 2019.

GORITO, A. M. et al. Ozone-based water treatment (O<sub>3</sub>, O<sub>3</sub>/UV, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) for removal of organic micropollutants, bacteria inactivation and regrowth prevention. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, 1 ago. 2021.

IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos — Ibama**. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#sobreosrelatorios>>. Acesso em: 12 fev. 2023.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola | IBGE**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?edicao=36068&t=destaques>>. Acesso em: 12 fev. 2023.

INMETRO. Orientação para Validação de Métodos Analíticos. 2020.

JAMOVİ. **jamovi - open statistical software for the desktop and cloud**. Disponível em: <<https://www.jamovi.org/>>. Acesso em: 11 fev. 2023.

KIEFER, K. et al. Chlorothalonil transformation products in drinking water resources: Widespread and challenging to abate. **Water Research**, v. 183, p. 116066, 15 set. 2020.

KING, J. F. et al. Efficacy of ozone for removal of pesticides, metals and indicator virus from reverse osmosis concentrates generated during potable reuse of municipal wastewaters. **Water Research**, v. 176, 1 jun. 2020.

LANÇAS, F. MAURO. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Paulo: [s.n.].

LEE, B. H. et al. Dissolved ozone flotation (DOF) - a promising technology in municipal wastewater treatment. **Desalination**, v. 225, n. 1–3, p. 260–273, 1 maio 2008.

LEE, G. H.; CHOI, K. C. Adverse effects of pesticides on the functions of immune system. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 235, p. 108789, 1 set. 2020.

LERRO, C. C. et al. Pesticide exposure and incident thyroid cancer among male pesticide applicators in agricultural health study. **Environment International**, v. 146, p. 106187, 1 jan. 2021.

LIU, T. et al. A review on removal of organophosphorus pesticides in constructed wetland: Performance, mechanism and influencing factors. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 2247–2268, 15 fev. 2019.

MA, D. et al. Critical review of advanced oxidation processes in organic wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 275, p. 130104, 1 jul. 2021.

MAHMOUD, A.; FREIRE, R. S. Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 198–205, jan. 2007.

MARTÍNEZ-ESCUADERO, C. M. et al. Remediation of triazole, anilinopyrimidine, strobilurin and neonicotinoid pesticides in polluted soil using ozonation and solarization. **Journal of Environmental Management**, v. 310, p. 114781, 15 maio 2022.

MONDAL, R. et al. GC-MS/MS determination and ecological risk assessment of pesticides in aquatic system: A case study in Hooghly River basin in West Bengal, India. **Chemosphere**, v. 206, p. 217–230, 1 set. 2018.

MONTAGNER, C. C. et al. Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Article J. Braz. Chem. Soc**, v. 30, n. 3, p. 614–632, 2019.

MORILLO, E.; VILLAYERDE, J. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. **Science of The Total Environment**, v. 586, p. 576–597, 15 maio 2017.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 20, p. 4141–4166, 15 set. 2011.

PANIS, C. et al. Widespread pesticide contamination of drinking water and impact on cancer risk in Brazil. **Environment International**, v. 165, p. 107321, 1 jul. 2022.

PARKS, C. G. et al. Lifetime pesticide use and antinuclear antibodies in Male farmers from the Agricultural health Study. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. JULY, p. 1476, 11 jul. 2019.

PAŹDZIOR, K. et al. Influence of ozonation and biodegradation on toxicity of industrial textile wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 195, p. 166–173, 15 jun. 2017.

PESTICIDE PROPERTIES DATABASE - PPDB. Pesticide Properties DataBase - PPDB. 2023.

POSSAVATZ, J. et al. Resíduos de pesticidas em sedimento de fundo de rio na Bacia Hidrográfica do Rio Cuiabá, Mato Grosso, Brasil Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos. **An Interdisciplinary Journal of Applied Science Rev. Ambient. Água**, v. 9, [s.d.].

RAJMOHAN, K. S.; CHANDRASEKARAN, R.; VARJANI, S. A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. **Indian journal of microbiology**, v. 60, n. 2, p. 125–138, 1 jun. 2020.

SALVADOR DE SOUZA, D. et al. Optimization of Ozone Application in Post-Treatment of Cattle Wastewater from Organic Farms. [s.d.].

SCHWANZ, T. G. et al. Validation of a multi-residue method and estimation of measurement uncertainty of pesticides in drinking water using gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1585, p. 10–18, 25 jan. 2019.

SHARMA, A. et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1–16, 1 nov. 2019a.

SHARMA, A. et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. **SN Applied Sciences**, v. 1, n. 11, p. 1–16, 1 nov. 2019b.

SHEARER, J. J. et al. Pesticide use and kidney function among farmers in the Biomarkers of Exposure and Effect in Agriculture study. **Environmental Research**, v. 199, p. 111276, 1 ago. 2021.

SHRESTHA, S. et al. Pesticide use and incident Parkinson's disease in a cohort of farmers and their spouses. **Environmental Research**, v. 191, p. 110186, 1 dez. 2020.

SISAGUA. **Sisagua - Autenticação**. Disponível em: <<https://sisagua.saude.gov.br/sisagua/login.jsf>>. Acesso em: 12 fev. 2023.

SZÉKÁCS, A.; MÖRTL, M.; DARVAS, B. Monitoring pesticide residues in surface and ground water in Hungary: Surveys in 1990-2015. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.

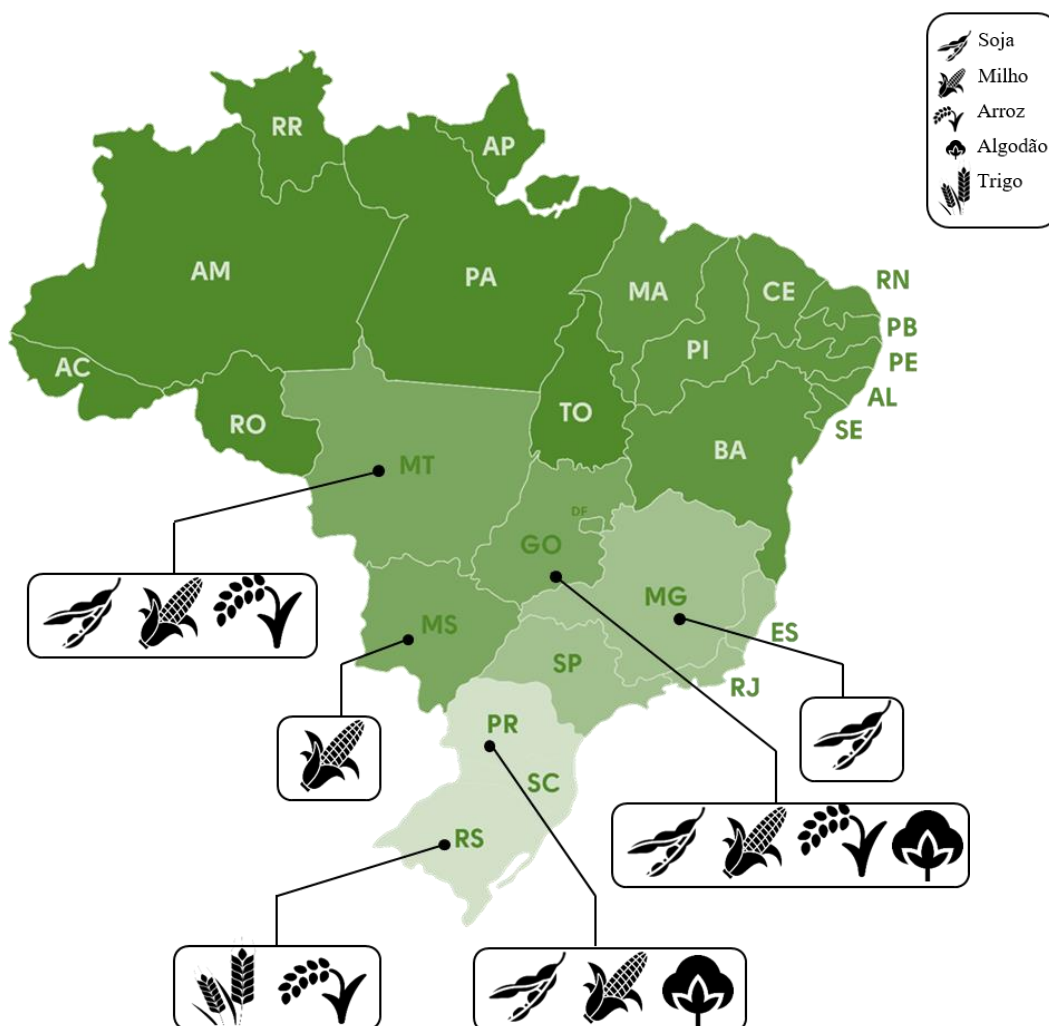
VARÓ, I. et al. Acute lethal toxicity of the organophosphorus pesticide chlorpyrifos to different species and strains of *Artemia*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 61, n. 6, p. 778–785, 1998.

VARÓ, I. et al. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. **Chemosphere**, v. 48, n. 6, p. 563–569, 1 ago. 2002.

VIGIAGUA. **VIGIAGUA — Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/se/demas/situacao-de-saude/vigiagua>>. Acesso em: 12 fev. 2023.

WANG, S. et al. Degradation of malathion and carbosulfan by ozone water and analysis of their by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 15, p. 7072–7078, 1 dez. 2022.

## ANEXO 1



Agrotóxicos analisados neste estudo	Consumo Nacional (t)	MT (t)	MS (t)	GO (t)	RS (t)	PR (t)	MG (t)
<b>Atrazina</b>	33.321,11	7.548,72	3.342,41	4.167,55	1.405,59	4.049,41	2.443,23
<b>Clorotalonil</b>	24.191,03	4.897,56	1.766,66	2.292,35	1.882,77	3.011,26	1.596,39
<b>Clorpirifós</b>	8.864,88	3.553,29	358,84	682,05	239,22	381,91	1.095,23
<b>lambda-Cialotrina</b>	3.218,53	1.136,51	343,70	237,98	185,02	239,15	116,10
<b>Malationa</b>	15.702,11	5.975,99	214,05	160,60	16,47	24,35	303,24
<b>Trifloxistrobina</b>	4.378,06	1.048,94	331,97	370,99	434,39	607,14	311,31
<b>Trifluralina</b>	1.705,81	801,52	67,31	72,85	60,25	70,89	54,14

MT - Mato Grosso; MS - Mato Grosso do Sul; GO - Goiás; RS - Rio Grande do Sul; PR - Paraná; MG - Minas Gerais  
t - consumo em toneladas

Figura 1: Consumo dos agrotóxicos deste estudo por Unidade de Federação mais consumidoras x culturas mais praticadas. (IBGE, 2022)

## ANEXO 2

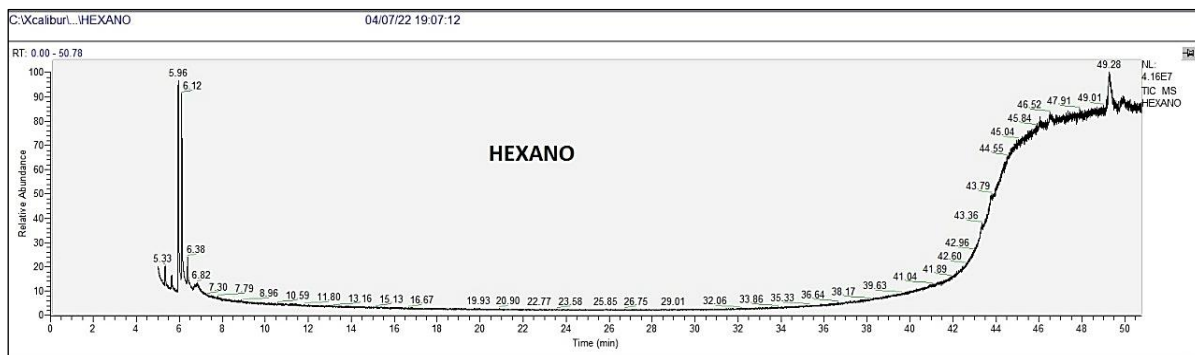


Figura 1: Injeção full scan branco em solvente orgânico (hexano).

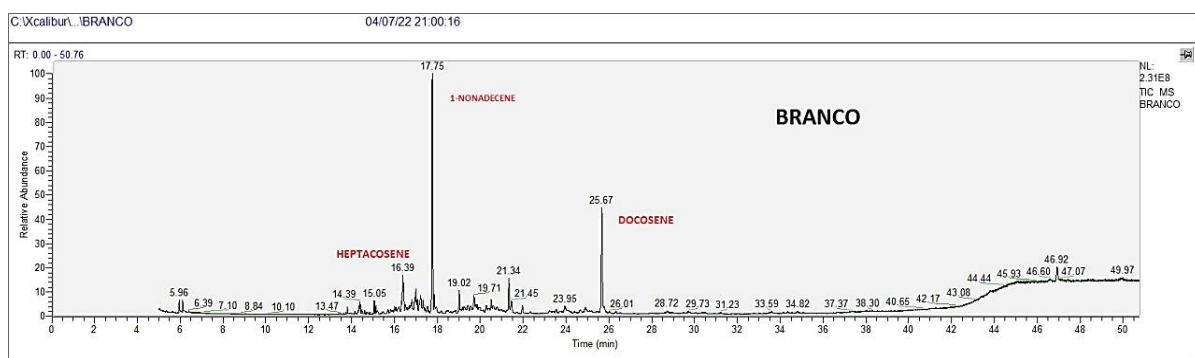


Figura 2: Injeção full scan branco da matriz.

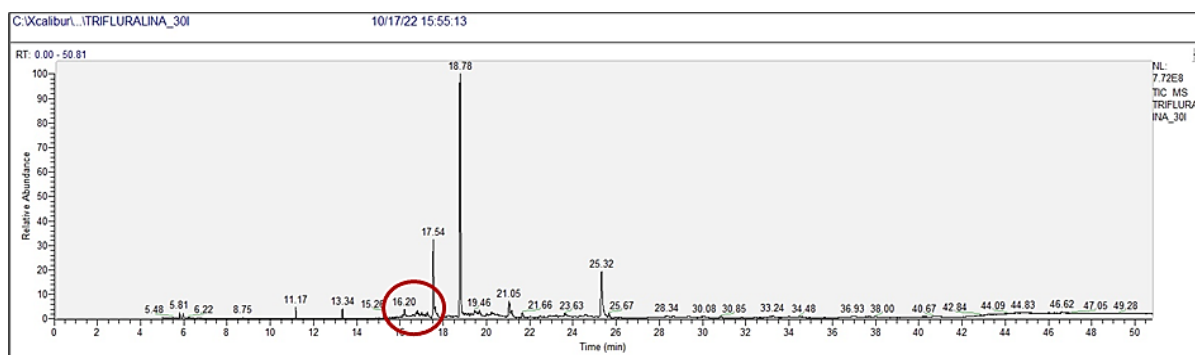


Figura 3: Injeção em full scan demonstrando degradação completa da trifluralina.



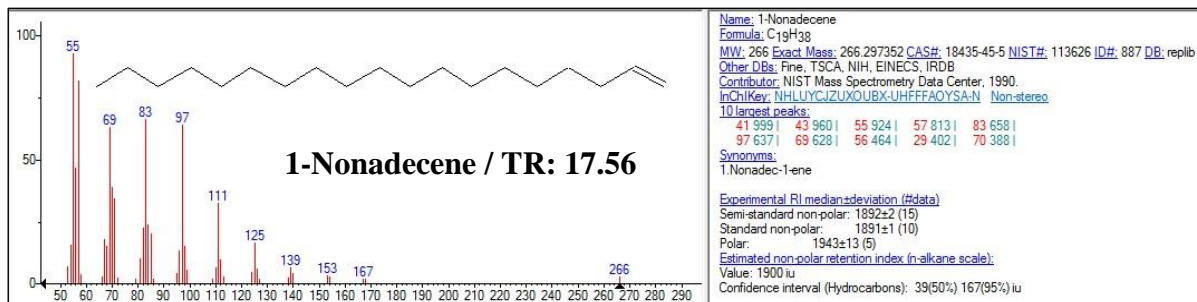


Figura 4: 1- Nonadecene

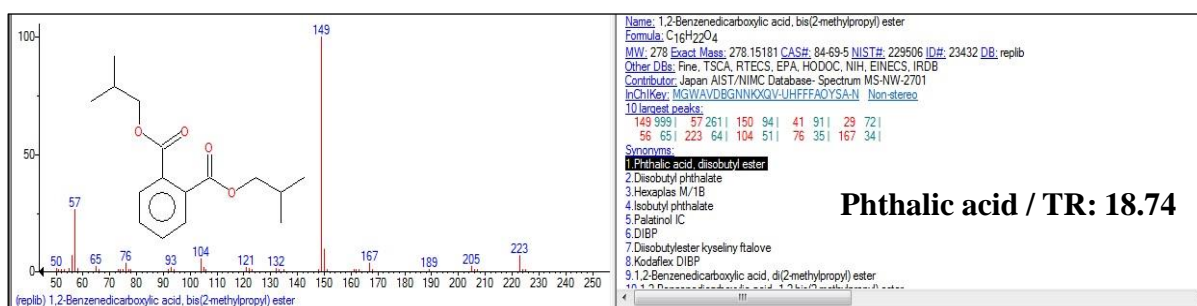


Figura 5: Phthalic acid

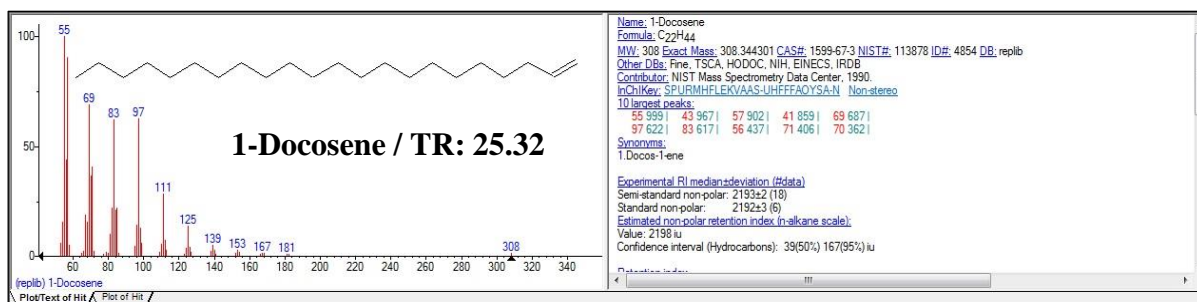


Figura 6: 1-Docosene