

# Comunicado 94

## Técnico

ISSN 1981-206X  
São Carlos, SP  
Dezembro, 2009

Foto: Juliana Paine



## Desenvolvimento e aplicação do método Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) na análise de resíduos de agrotóxicos em água e sedimento

Silvia Helena Govoni Brondi<sup>1</sup>  
Ana Rita de Araujo Nogueira<sup>2</sup>  
Gustavo Henrique Lourenço Vicente<sup>3</sup>  
Adriana Nori de Macedo<sup>4</sup>

### Introdução

Os agrotóxicos desempenham papel importante na produtividade agrícola, evitando perdas econômicas e escassez de alimentos para a população. Apesar de sua importância no controle de pragas da agricultura, são compostos tóxicos que podem comprometer o ambiente e a saúde humana, quando utilizados de modo incorreto ou abusivo (SANCHES et al., 2003). Entre os contaminantes químicos que podem afetar nascentes e mananciais hídricos, como rios, lagos e represas, os agrotóxicos assumem posição de destaque, devido à intensidade com que são aplicados nas culturas agrícolas e à utilização indiscriminada pelos produtores (FERNANDES NETO e SARCINELLI, 2009). Essa contaminação pode ocorrer com o transporte dos agrotóxicos, inicialmente aplicados nas plantas ou no solo, por meio de fenômenos como a volatilização, a lixiviação e o escoamento superficial, atingindo os mananciais hídricos.

Agrotóxicos pouco solúveis em água podem se depositar nos sedimentos, fato que justifica sua análise tanto na água quanto no sedimento, para os estudos ambientais (SANCHES et al., 2003; REICHENBERGER et al., 2007).

Diversos estudos sobre contaminação de recursos hídricos por agrotóxicos aplicados na agricultura têm sido desenvolvidos para monitorar a presença desses compostos em mananciais e avaliar as consequências a eles associadas. Filizola et al. (2002) realizaram estudos sobre agrotóxicos aplicados na cultura do tomate, em águas superficiais e subterrâneas do município de Guaíra, no Estado de São Paulo, e encontraram ocasionalmente alguns pesticidas em concentrações acima dos limites máximos permitidos pela União Européia. Calheiros et al. (2006), em pesquisa realizada pela Embrapa Pantanal, juntamente com a Universidade Federal do Mato Grosso, constataram a presença de resíduos de agrotóxicos aplicados

<sup>1</sup> Bióloga, Dra., Jovem Pesquisadora FAPESP, São Carlos, SP, shgb@uol.com.br.

<sup>2</sup> Química, Dra., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, anarita@cppse.embrapa.br.

<sup>3</sup> Químico, Aluno de mestrado em Química Analítica na Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, guhelovi@hotmail.com.

<sup>4</sup> Aluna de graduação em Licenciatura em Química na Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, adriana\_nori@yahoo.com.br.

em culturas próximas à Bacia do Rio Paraguai, em amostras de sedimento, demonstrando a falta de comprometimento dos produtores pela proteção ambiental, pela preservação das matas ciliares, dos rios e dos córregos, e pela utilização correta dos agrotóxicos nas lavouras, em concordância com as chamadas “boas práticas agrícolas”, recomendadas para evitar mau uso do solo e prejuízos ao ambiente.

Devido à relevância do problema da contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos aplicados em culturas agrícolas, estudo nesses ambientes são necessários, de forma a prever impactos ambientais, níveis e formas de contaminação, além de desenvolver novas técnicas de produção que minimizem a utilização dos agrotóxicos, visando estabelecer sistemas de produção sustentáveis.

A cultura da cana-de-açúcar ocupa extensas áreas agricultáveis do Estado de São Paulo, com destaque para a região do município de São Carlos. Portanto a análise de resíduos de agrotóxicos nos mananciais dessa região é de grande importância e requer métodos analíticos adequados para esse fim.

Este estudo teve o objetivo de aplicar o método analítico Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS), o qual apresenta como vantagens o fato de ser rápido e fácil e de consumir pequenas quantidades de solventes orgânicos e reagentes, atendendo com isso aos princípios da química verde, seguido pela cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, na determinação de resíduos dos agrotóxicos atrazina, fipronil e endossulfan, os quais são aplicados na cultura da cana-de-açúcar na região do município de São Carlos, avaliando as matrizes água e sedimento. Após o desenvolvimento dos métodos, os mesmos foram aplicados em amostras de água e sedimento de represas localizadas na Embrapa Pecuária Sudeste, destinadas à dessedentação do rebanho bovino.

## Material e métodos

O método utilizado para extração dos agrotóxicos foi o QuEChERS, desenvolvido por Anastassiades et al. (2003) e Lehotay et al. (2005). As análises foram efetuadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS), técnica que

permitiu a separação, identificação e quantificação dos analitos em estudo.

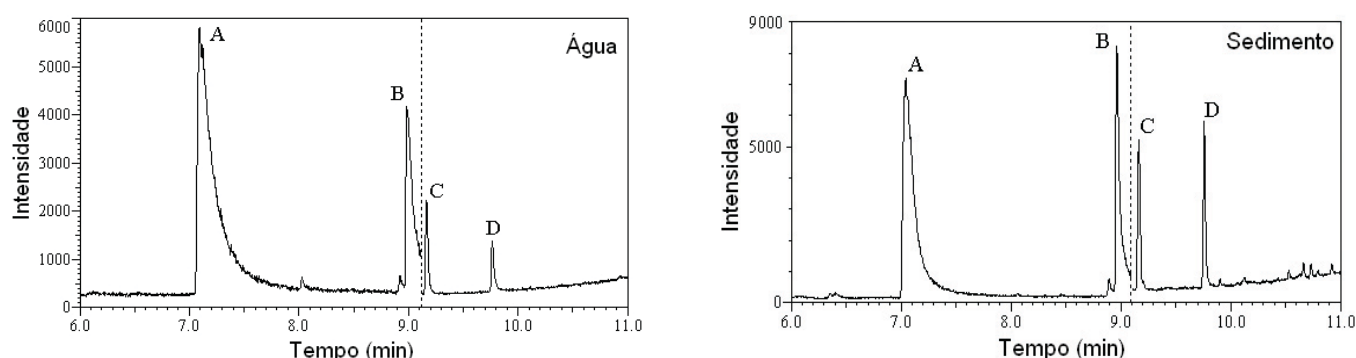
No processo de extração pelo método QuEChERS, 10 g de amostra (sedimento ou água) isenta de contaminação pelos analitos estudados, foram transferidos para tubo de centrifuga tipo Falcon de volume de 50 mL e enriquecidas com soluções contendo os analitos atrazina, fipronil e  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfan, em concentrações conhecidas de acordo com o experimento realizado. As amostras de sedimento foram secas à temperatura ambiente antes de serem pesadas. Decorridos 40 minutos de interação entre os agrotóxicos e a amostra, acrescentaram-se 10 mL de acetonitrila (MeCN), e a mistura foi agitada manualmente. A seguir adicionaram-se 4 g de sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) e 1 g de cloreto de sódio (NaCl), agitando-se manualmente e centrifugando a 3.000 rpm por 1 min. Da fase superior formada, correspondente ao solvente orgânico MeCN, 5 mL foram transferidos para um cartucho de extração em fase sólida (SPE), contendo 330 mg de octadecilsilano (C18), 330 mg de amina primária e secundária (PSA) e 700 mg de  $MgSO_4$ , pré-ativado com 3 mL de MeCN, em sistema de vácuo. O eluato foi recolhido em tubo de centrifuga do tipo Falcon de volume de 15 mL, transferindo-se 1 mL para um frasco específico do amostrador automático do GC/MS, para posterior análise cromatográfica.

As análises cromatográficas foram feitas utilizando cromatógrafo gasoso equipado com detector de espectrometria de massas (GC/MS). Utilizou-se coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,1  $\mu$ m), gás de arraste hélio, injetor automático, modo de injeção splitless, volume de injeção de 1 L, temperaturas do injetor, interface e fonte de íons de 250 °C, com a seguinte programação de temperatura do forno: temperatura inicial de 120 °C, permanecendo nesta temperatura por 3 minutos, após aquecimento de 18 °C min<sup>-1</sup> até atingir 220 °C, seguido por um aquecimento de 20 °C min<sup>-1</sup> até 270 °C, permanecendo por 5 min, modos de aquisição SCAN e SIM.

Foram amostradas três represas da Embrapa Pecuária Sudeste, Casarini, Colônia e Sistema, selecionando-se três pontos de amostragem para cada represa, sendo que para cada ponto a amostragem foi realizada em duplicata, coletando-se amostras de água e sedimento.

## Apresentação e discussão dos resultados

Concentrações conhecidas dos agrotóxicos em estudo foram injetadas no GC/MS a fim de se estabelecer as melhores condições cromatográficas de análise. Para otimizar o procedimento de extração pelo método QuEChERS, aplicaram-se as metodologias descritas em Lehotay et al. (2005) e Anastassiades et al. (2003), sendo necessário realizar adaptações dos mesmos, variando as quantidades de amostra e de reagentes utilizados. Acredita-se que é a primeira vez que o método QuEChERS é aplicado às matrizes água e sedimento. As melhores condições cromatográficas e de extração foram as descritas no item “Material e métodos”. Na Figura 1 são apresentados os cromatogramas obtidos das amostras de água e sedimento, enriquecidas com os agrotóxicos em estudo, nas concentrações de 100 µg/L e 100 µg/kg, respectivamente, após aplicação do método desenvolvido: QuEChERS-GC/MS.



**Figura 1.** Cromatogramas dos extratos obtidos pelo método QuEChERS-GC/MS, analisando os agrotóxicos atrazina (A), fipronil (B),  $\alpha$ -endossulfan (C) e  $\beta$ -endossulfan (D), nas concentrações de 100 µg/L para a matriz água e 100 µg/kg para a matriz sedimento.

Na validação do método QuEChERS-GC/MS, foram avaliados os parâmetros exatidão, precisão, especificidade, linearidade e limites de detecção e de quantificação.

A exatidão foi calculada pela recuperação, que é definida como a porcentagem da quantidade de analito adicionada na amostra que é extraída e possível de ser analisada (RIBANI et al., 2004). A Tabela 1 apresenta os valores de recuperação e desvio padrão relativo (DPR) obtidos para análises de água e sedimento, em diferentes concentrações dos analitos. Alguns valores de recuperação obtidos estão fora da faixa de aceitação que é de 70% a 120%, entretanto, de acordo com o Documento SANCO/10684/2009 (PIHLSTROM, 2010) da União Européia, tais valores podem ser aceitos no caso de métodos multirresíduos ou de métodos que apresentem boa repetibilidade (demonstrada por baixos valores de DPR). O presente método, além de ser multirresíduos, apresenta boa repetibilidade (maior DPR foi de 16%), de modo que é possível considerar aceitáveis os resultados de recuperação obtidos.

**Tabela 1.** Valores de recuperação e desvio padrão relativo (DPR) para os agrotóxicos atrazina, fipronil e  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfan, avaliando diferentes concentrações, para as matrizes água e sedimento.

Agrotóxicos	Recuperação $\pm$ DPR (%)						
	Água (µg/L)				Sedimento (µg/kg)		
	10	50	100	500	20	50	500
Atrazina	111 $\pm$ 8	72 $\pm$ 10	108 $\pm$ 5	99 $\pm$ 4	48 $\pm$ 15	91 $\pm$ 4	78 $\pm$ 12
Fipronil	105 $\pm$ 7	72 $\pm$ 5	127 $\pm$ 4	116 $\pm$ 8	80 $\pm$ 16	115 $\pm$ 13	101 $\pm$ 7
$\alpha$ -Endossulfan	64 $\pm$ 11	57 $\pm$ 6	71 $\pm$ 2	77 $\pm$ 1	80 $\pm$ 2	76 $\pm$ 4	72 $\pm$ 4
$\beta$ -Endossulfan	63 $\pm$ 12	68 $\pm$ 12	86 $\pm$ 1	87 $\pm$ 2	69 $\pm$ 9	74 $\pm$ 3	76 $\pm$ 3

A precisão variou de 1% a 12% na matriz água e de 2% a 16% na matriz sedimento, estando dentro da faixa de aceitação estabelecida pela legislação, que é de até 20% (PIHLSTROM, 2010). A precisão interdiária ou intermediária, calculada para as análises realizadas em diferentes dias, variou de 2% a 17% na matriz água e de 2% a 24% na matriz sedimento. Como o sedimento é uma matriz complexa, são aceitáveis valores de DPR de até 30% (TOLOSA et al., 1996).

A especificidade do método foi avaliada pela análise do branco (amostra de água e sedimento isenta dos analitos estudados). Verificou-se que não há picos interferentes nas regiões dos tempos de retenção dos analitos avaliados.

Para avaliar a linearidade do método desenvolvido: QuEChERS-GC/MS, construiu-se uma curva de calibração, nas concentrações 0,01; 0,02; 0,05; 0,10; 0,20 e 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Na faixa de concentração estudada, o método mostrou-se linear para todos os analitos, com coeficientes de determinação superiores a 0,996 e 0,983 para água e sedimento, respectivamente. A Tabela 2 apresenta as equações da reta e os respectivos coeficientes de correlação ou de determinação.

Os limites de detecção e de quantificação para os agrotóxicos em estudo, após aplicação do método analítico desenvolvido, são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 2.** Equações das curvas analíticas e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) do método QuEChERS-GC/MS, aplicado às matrizes água e sedimento, para os agrotóxicos atrazina, fipronil e  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfan. x = concentração dos analitos; y = valor de área obtido.

Agrotóxicos	Água		Sedimento	
	Equação	$R^2$	Equação	$R^2$
Atrazina	$y = 654,98x - 11695$	0,9964	$y = 257,47x - 3463,7$	0,9853
Fipronil	$y = 179,28x - 2033,7$	0,9970	$y = 127,36x - 2048,5$	0,9835
$\alpha$ -Endossulfan	$y = 40,08x - 418,62$	0,9969	$y = 38,78x - 9,1994$	0,9993
$\beta$ -Endossulfan	$y = 23,09x - 209,06$	0,9972	$y = 15,00x - 276,17$	0,9860

x = concentração dos analitos; y = valor de área obtido.

**Tabela 3.** Limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para os agrotóxicos atrazina, fipronil e  $\alpha$  e  $\beta$ -endossulfan, para as matrizes água e sedimento.

Agrotóxicos	Água		Sedimento	
	LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	LOD ( $\mu\text{g/kg}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/kg}$ )
Atrazina	3	10	20	50
Fipronil	3	10	3	10
$\alpha$ -Endossulfan	2	5	3	10
$\beta$ -Endossulfan	2	5	3	10

Após o desenvolvimento e a validação do método QuEChERS-GC/MS, o mesmo foi aplicado em amostras reais de água e sedimento, procedentes de represas situadas na Embrapa Pecuária Sudeste, as quais são utilizadas para o abastecimento de bebedouros para o rebanho bovino. Não houve detecção dos agrotóxicos monitorados, o que indica que as represas não estão sofrendo contaminação por esses agrotóxicos, considerando os limites de detecção do método proposto.

## Conclusões

O método QuEChERS-GC/MS, desenvolvido para analisar resíduos dos agrotóxicos atrazina, fipronil e  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfan, em amostras de água e sedimento, apresenta as vantagens de ser fácil e rápido, de utilizar pequenas quantidades de reagentes e de envolver menor geração de resíduos, em comparação com as técnicas de extração convencionais, como a extração líquido-líquido. Na validação, o método apresentou resultados de exatidão, precisão e linearidade dentro dos valores aceitáveis pela legislação, de modo que pode ser considerado como um método confiável para investigar a presença de resíduos de atrazina, fipronil e endossulfan em água e sedimento. Ao aplicar o método desenvolvido em amostras de água e sedimento, coletadas nas represas Casarini, Colônia e Sistema da Embrapa Pecuária Sudeste, não houve detecção de nenhum dos agrotóxicos estudados, considerando os limites de detecção para cada composto.

## Agradecimentos

À FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

CALHEIROS, D. F.; OLIVEIRA, M. D.; DOLORES, E. F. G. **Poluição por pesticidas, nutrientes e material em suspensão nos rios formadores do Pantanal Mato-grossense**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 4 p. (Embrapa Pantanal. Artigo de Divulgação na Mídia, 96). Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/ADM096.pdf>. Acesso em: 22 de março de 2009.

PIHLSTROM, T. (Coord.). **Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. (01/01/2010). DOCUMENTO SANCO/10684/2009 - União Européia. Disponível em: [www.ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol\\_en.pdf](http://www.ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf). Acesso em: 25 de fevereiro de 2010.

FERNANDES NETO, M. L.; SARCINELLI, P. N. Agrotóxicos em água para consumo humano: uma abordagem de avaliação de risco e contribuição ao processo de atualização da legislação brasileira. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, p. 69-78, 2009.

FILIZOLA, H. F.; FERRACINI, V. R.; SANS, L. M. A.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea da região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 659-667, 2002.

LEHOTAY, S. J.; MAŠTOVSKÁ, K.; YUN, S. J. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. **Journal of AOAC International**, v. 88, p. 630-638, 2005.

REICHENBERGER, S.; BACH, M.; SKITSCHAK, A.; FREDE, H.G. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness; A review. **Science of the Total Environment**, v. 384, p. 1-35, 2007.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

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

TOLOSA, I.; READMAN, J. W.; MEE, L. D. Comparison of the performance of solid-phase extraction techniques in recovering organophosphorus and organochlorine compounds from water. **Journal of Chromatography A**, v. 725, p. 93-106, 1996.

### Comunicado Técnico, 94

Embrapa Pecuária Sudeste  
Endereço: Rod. Washington Luiz, km 234,  
São Carlos, SP  
Fone: (16) 3411-5600  
Fax: (16) 3361-5754  
E-mail: sac@cppse.embrapa.br

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



1ª edição on-line: (2009)

### Comitê de publicações

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira.  
Secretário-Executivo: Simone Cristina Méo Niciura.  
Membros: Ane Lisye F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito, Milena Ambrosio Telles, Sônia Borges de Alencar.

### Expediente

Revisão de texto: Simone Cristina Méo Niciura.  
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito.