UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional
Tecnologia em Química e Bioquímica

DANILO AUGUSTO ALVES PEREIRA

**Avaliação da técnica de cromatografia líquida de ultra performance
acoplada à espectrometria de massas na determinação de
substâncias orgânicas indicadoras de potabilidade de águas
segundo a Portaria 2914/11**

Versão corrigida da Dissertação
O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo
Data do Depósito na SPG:
09/01/2018

DANILO AUGUSTO ALVES PEREIRA

**Avaliação da técnica de cromatografia líquida de ultra performance
acoplada à espectrometria de massas na determinação de
substâncias orgânicas indicadoras de potabilidade de águas
segundo a Portaria 2914/11**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Ciências,
Área de Concentração Tecnologia em
Química e Bioquímica*

ORIENTADOR: Prof. Dr. Jorge César Masini

SÃO PAULO
2018

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

P426a Pereira, Danilo Augusto Alves
Avaliação da técnica de cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas na determinação de substâncias orgânicas indicadoras de potabilidade de águas segundo a Portaria 2914/11 / Danilo Augusto Alves Pereira. - São Paulo, 2018.
74 p.

Mestrado Profissional - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.

Orientador: Masini, Jorge César

1. UPLC-MSMS. 2. Portaria 2914/11. 3. água potável. 4. indicadores de potabilidade. I. T. II. Masini, Jorge César, orientador.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge César Masini, pela oportunidade de orientação e ensinamentos transmitidos, pela excelência na condução do projeto e incentivo em momentos críticos, pela serenidade e paciência durante todo o percurso deste trabalho.

Ao Programa de Mestrado Profissional do Instituto de Química (IQ) da Universidade de São Paulo (USP).

À Waters pela disponibilização do Laboratório de Aplicações de Cromatografia e Espectrometria de Massas, em Barueri, SP, pela oportunidade de aprendizado na condução dos experimentos usufruindo de sua infraestrutura analítica.

Ao Leonardo Bortolotti Albano, LC/SFC Field Service Engineer da Waters Technologies do Brasil, pela amizade e companheirismo em todo este período.

Aos meus amigos e familiares por todo apoio e paciência durante este período.

Aos meus pais, José Eugênio Pereira e Cleusa Alves Pereria pelo carinho incondicional e companhia do dia a dia, com constante transmissão de valores e conhecimentos.

Obrigado!

RESUMO

Avaliação da técnica de cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas na determinação de substâncias orgânicas indicadoras de potabilidade de águas segundo a Portaria 2914/11. 2017. 51p. Dissertação (Mestrado Profissional) - Programa de Pós-Graduação de Tecnologia em Química e Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Este trabalho apresenta a aplicação da Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS) como uma técnica analítica em potencial para a determinação de contaminantes orgânicos em amostras de água para consumo humano. A técnica foi aplicada no desenvolvimento de um método analítico para a determinação de 28 praguicidas listados na Portaria 2914/11 como indicadores da qualidade de águas para o consumo humano. O método analítico apresentou limite de quantificação (LQ) (entre 0,2 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, considerando todas as substâncias investigadas) capaz de monitorar as substâncias de interesse em concentrações inferiores aos limites máximos permitidos pela legislação, com taxas de recuperação superiores a 80% e coeficiente de variação (CV) menor do que 15% no nível de $\mu\text{g L}^{-1}$. A filtração da amostra, empregando filtros de seringa de 0,22 μm de diâmetro de poro, foi empregada como etapa de preparo de amostra, não sendo necessário o emprego de métodos de extração e concentração da amostra previamente à análise. O método analítico proposto foi aplicado em duas amostras de água potável coletadas na cidade de Paulínia-SP; entretanto, os praguicidas investigados não foram detectados em ambas as amostras analisadas. Adições de padrão foram realizadas sobre as amostras no nível de concentração do Valor Máximo Permitido (VMP) e três vezes o VMP pela Portaria 2914/11. Valores de recuperação entre 80 e 120% foram obtidos, demonstrando a aplicabilidade e exatidão do método proposto.

Palavras-chave: UPLC-MSMS, Portaria 2914/11, água potável, indicadores de potabilidade

ABSTRACT

Evaluation of UPLC-MS/MS for the determination of the organic substances indicative of water portability according to Ordinance 2914/11. 2017. 51p. Dissertation (Professional Master's Degree) - Post-Graduate Program in Chemistry and Biochemistry Technology. Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo.

This work describes the application of Ultra Performance Liquid Chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for determination of organic contaminants in drinking water. The technique was used for the development of an analytical method for the determination of 28 pesticides, listed in the Brazilian Administrative Rule 2914/11, these compounds are considered as quality indicators for drinking waters. The limit of quantification (LQ) of the analytical method was between 0,1 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ for all target substances, being able to quantify the target substances at concentrations lower than the maximum levels of contamination (MLC) established by the Rule, with accuracy above 80% and relative standard deviation below 15%, at $\mu\text{g L}^{-1}$ level. The filtration of the sample, using 0.22 μm syringe filters, was applied as sample preparation step. The analytical method based on UPLC-MS/MS was used to analyze two drinking water samples collected in Paulínia-SP city. The target pesticides were not detected in any samples. The two samples were then enriched with analytical standards of the pesticides at the MLC and 3 times the MLC levels and analyzed by the proposed method. Recoveries ranged from 80 to 120%, showing the applicability and efficiency of the proposed analytical method.

Keywords: UPLC-MSMS, drinking water, pesticides, quality indicators

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS.....XXV

LISTA DE TABELAS.....XXVII

LISTA DE FIGURAS.....XXXI

1.	INTRODUÇÃO -----	15
1.1.	<i>Controle de potabilidade de água para consumo humano no mundo</i> -----	15
1.2.	<i>Regulamentação sobre controle de potabilidade de água no Brasil</i> -----	16
1.3.	<i>A contaminação das águas por elementos químicos</i> -----	17
2.	CONCEITOS GERAIS -----	19
2.1.	<i>Determinação analítica empregando UPLC-MS/MS</i> -----	19
2.2.	<i>Cromatografia líquida</i> -----	19
2.3.	<i>Espectrometria de Massas</i> -----	20
3.	OBJETIVOS -----	25
3.1.	<i>Objetivo geral</i> -----	25
3.2.	<i>Objetivos específicos</i> -----	25
4.	PARTE EXPERIMENTAL-----	26
4.1.	<i>Substâncias estudadas</i> -----	26
4.2.	<i>Reagentes e padrões analíticos</i> -----	29
4.3.	<i>Coleta e amostragem de águas para consumo humano</i> -----	31
4.4.	<i>Preparo de amostra</i> -----	31
4.5.	<i>Método analítico: UPLC-MS/MS</i> -----	31
4.6.	<i>Teste de Supressão Iônica para avaliação do Efeito de Matriz</i> -----	33
4.7.	<i>Validação do método</i> -----	33
4.8.	<i>Aplicação do método</i> -----	35
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	36
5.1.	<i>Desenvolvimento do método analítico baseado em UPLC-MS/MS</i> -----	36
5.2.	<i>Avaliação do método analítico</i> -----	45
5.3.	<i>Aplicação do método</i> -----	51
6.	CONCLUSÃO -----	64
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA-----	66

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

- AMPA** – Ácido aminometilfosfônico (do inglês - *aminomethylphosphonic acid*)
- 2,4D** – Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (do inglês - *2,4-dichlorophenoxyacetic acid*)
- 2,4,5T** - Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (do inglês - *2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid*)
- CID** – Dissociação Induzida Por Colisão (do inglês - *Collision-induced dissociation*)
- CNRH** – Conselho Nacional De Recursos Hídricos
- EM** – Efeito Matriz
- GC-ECD** - Cromatografia Gasosa com Detector por Captura de Elétrons (do inglês – *Gas Chromatography-Electron Capture Detector*)
- GC-FPD** - Cromatografia Gasosa com Detector por Fotométrico de Chama (do inglês – *Gas Chromatography-Flame Photometric Detector*)
- GC-MS** - Cromatografia Gasosa acoplado à espectrometria de massas (do inglês – *Gas chromatography–mass spectrometry*)
- HPLC** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês – *High performance liquid chromatography*).
- HPLC-FL** - Cromatografia Líquida com detector de fluorescência – (do inglês – *High-performance liquid chromatography with fluorescence detection*)
- HPLC-UV** - Cromatografia Líquida com detector de ultravioleta (do inglês – *High-performance liquid chromatography with ultraviolet detector*)
- IE** – Ionização por Impacto de Elétrons (do inglês – *Electron ionization*)
- LC-MS/MS** – Cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas sequencial (do inglês - *Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry*)
- MRM** – Monitoramento de reações múltiplas (do inglês - *Multiple Reaction Monitoring*)
- TOF** – Tempo de voo (do inglês - *Time Of Flight*)
- UPLC-MS/MS** – Cromatografia a líquido de ultra desempenho acoplada à espectrometria de massas sequencial (do inglês - *Ultra Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry*)
- VMP** – Valor Máximo Permitido

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Formula molecular e estrutura química das 28 substâncias de interesse	27
Tabela 2. Valor máximo permitido (VMP) em água para consumo humana para cada substância de interesse de acordo com a Portaria 2914/11 e concentrações de preparo das soluções de padrões estoques e de trabalho.....	30
Tabela 3. Condições cromatográficas do método utilizado	32
Tabela 4. Modo de ionização, voltagem do cone, transição de quantificação e confirmação e suas respectivas energias de colisão empregadas para cada analito de interesse.....	36
Tabela 5. Tempo de retenção, parâmetros de linearidade do método analítico, LD e LQ e VMP de acordo com a Portaria 2914/11 para as substâncias de interesse.	46
Tabela 6. Resultados de Recuperação e Precisão do método analítico proposto para a determinação das 28 substâncias de interesse avaliadas em quatro níveis de concentração.	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Composição interna de um espectrômetro de massas (Fonte: Imagem da internet).....	20
Figura 2. Modo de aquisição MRM de um espectrometro de massas. Fonte: Imagem da internet.....	21
Figura 3. Ionização por Eletrospray (ESI) Fonte: Imagem da internet.....	22
Figura 4. Analisador de massas – Quadrupolo (Fonte: Imagem da internet)	23
Figura 5. Célula de colisão (Fonte de íons: Imagem da internet).....	23
Figura 6. Detector fotomultiplicadora com detecção de íons positivos (Fonte: Imagem da Internet).....	24
Figura 7. Sistema UPLC-MS/MS - I-Class, Xevo TQS	32
Figura 8. Cromatograma de íons totais obtido a partir da análise de uma solução padrão dos 28 praguicidas estudados via UPLC-MS/MS, empregando o monitoramento de íons MRM e gradiente de eluição cromatográfica.	37
Figura 9. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íons precursor” para os analitos Alachlor; Paration Metil; Diuron; Aldicarbe Sulfona; Carbofurano; Atrazina e Aldicarbe, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.	39
Figura 10. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íons precursor” para os analitos Clorpirifós, Clorpirifós-oxon; Tebuconazol; Benomil; Terbufós; Metolaclo e Pendimetalina, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.....	39
Figura 11. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íons precursor” para os analitos Pentaclorofenol; 2,4,5 T; 2,4 D; 2,4,6 Triclorofenol, Glifosato, AMPA e Profenofós, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.	40
Figura 12. Cromatogramas de MRM obtidos para os analitos Acrilamida e Mancozebe a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $360 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente por UPL-MS/MS	40
Figura 13. Cromatograma de MRM para a Atrazina ($t_r = 6,86 \text{ min}$; 1-transição quantificação, 2- transição de qualificação) e Diuron ($t_r=6,91 \text{ min}$, 1- transição de quantificação, 2- transição de qualificação) a $4 \mu\text{g L}^{-1}$ e $180 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente por UPL-MS/MS.....	41
Figura 14. Cromatograma de MRM para A) íon precursor do Pentaclorofenol B) íon precursor do Pentaclorofenol monoisotopo do cloro (MM 35,1 g/mol) por UPLC-MS/MS a $18 \mu\text{g L}^{-1}$	43
Figura 15. Cromatograma de MRM para A) íon precursor do 2,4,6 Triclorofenol B) íon precursor do 2,4,6 Triclorofenol monoisotopo do cloro (MM 35,1 g/mol) por UPLC-MS/MS a $400 \mu\text{g L}^{-1}$	43
Figura 16. Cromatogramas de MRM para Aldicarb, seleção da transição “íon precursor → íon produto” de quantificação e confirmação.....	45
Figura 17. Cromatogramas de MRM para Carbofurano, seleção da transição “íon precursor → íon produto” de quantificação e confirmação.....	45
Figura 18 Cromatograma de íons totais obtidos a partir da infusão da solução padrão e da amostra de água potável isenta dos analitos de interesse para a Atrazina, Aldicarbe, Aldicarbe Sulfoxido, Simazina, Carbendazim, Molinate, Metamidofos e Mancozebe.	48

Figura 19. Cromatogramas de MRM para os 28 praguicidas investigados e obtidos a partir da análise da amostra de água para consumo humano coletada no Fontanário, Paulínia-SP.....	60
Figura 20. Cromatogramas de MRM para os 28 praguicidas investigados e obtidos a partir da análise da amostra de água para consumo humano coletada no Poço da Fazenda Santa Margarida, Paulínia-SP.....	63

1. INTRODUÇÃO

1.1. Controle de potabilidade de água para consumo humano no mundo

Ao longo da história da humanidade a qualidade da água vem sendo uma questão de interesse para a saúde pública.

Através de avanços na compreensão da relação entre água contaminada e a ocorrência de doenças como a cólera, pesquisadores da área descobriram organismos patogênicos e material fecal no material particulado presente em amostras de água distribuídas para consumo humano. Dessa maneira, a turbidez da passou a ser um parâmetro associado não somente a aspectos estéticos, mas principalmente à qualidade da água (MORENO, 2009).

No final do século XX os processos de tratamento de água nos Estados Unidos passaram a empregar a filtração lenta como estratégia de controle da qualidade (WESTPHALEN, *et al* 2016). As legislações se tornaram cada vez mais rigorosas no propósito de garantir a saúde dos consumidores, o que impulsionou o desenvolvimento tecnológico dos processos de tratamento de água voltada para o consumo humano. Dessa maneira, novos processos de purificação passaram a ser empregados e valores máximos permitidos (VMP) ou limites máximos de contaminação (MCL) foram estabelecidos de acordo com bioensaios toxicológicos e estudos relacionados a compostos químicos e às suas propriedades físico-químicas, as quais podem influenciar as propriedades organolépticas e/ou sensoriais da água. Tais propriedades estão diretamente associadas à saúde humana e à diminuição da vida útil de equipamentos hidráulicos dos processos de tramanto, resultando em prejuízo econômico (FREITAS E FREITAS, 2005).

No início dos anos 1970 foi criada nos Estados Unidos a norma nacional de potabilidade de água para consumo humano, denominada *Safe Drinking Water Act* (TIEMANN, 2017). Essa norma estabeleceu um padrão nacional de qualidade da água com relação à presença de substâncias orgânicas e inorgânicas e de microorganismos. Na Europa, a qualidade da água para consumo humano é garantida pela norma *Drinking Water Directive (DWD)98/83/EC*, a qual é submetida a processos de revisão a cada cinco anos (EUROPA, 1998).

A existência de normas reguladoras de qualidade de água para consumo humano não assegura a certificação e a manutenção de padrões de qualidade

sanitários e econômicos. Para uma maior amplitude e legitimidade do processo, os conjuntos de valores normativos e o seu cumprimento como lei precisam ser continuamente discutidos (FREITAS E FREITAS, 2005). Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (OMS) é a instituição que acompanha e recomenda os VMP a partir de estudos toxicológicos realizados em todo o mundo, publicados em diferentes revistas e eventos científicos especializados.

1.2. Regulamentação sobre controle de potabilidade de água no Brasil

O controle da qualidade da água para consumo humano no Brasil vigorou como política pública a partir da instituição da portaria nº 52 Bsb 77 do Ministério da Saúde de 1970, válida para todo o território nacional (BRASIL, 2006). Esta portaria foi a primeira norma direcionada às águas para consumo humano, e abrangeu diferentes constituintes químicos e microbiológicos potencialmente patogênicos à saúde humana. De acordo com este decreto, cabe às Secretarias de Saúde dos Estados e equivalente aos territórios e Distrito Federal o exercício de fiscalização e o controle do exato cumprimento das normas e do padrão de potabilidade (SILVA E SANTOS, 2017).

Em 12 de dezembro de 2011 o Ministério da Saúde publicou a Portaria 2914, a qual “*dispõe dos procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*” (BRASIL (b), 2011). De acordo com o artigo 2º da Portaria 2914/11, ela “*se aplica às águas destinadas ao consumo humano provenientes de sistemas de abastecimento e soluções alternativas para o abastecimento de água*”.

A Portaria 2914/11 foi resultado da compilação de um conjunto de normas aplicadas desde 1970, sobre as quais foram realizadas diversas atualizações, de maneira a intensificar a rigidez e incluir novos parâmetros de monitoramento, para garantir a qualidade das águas de abastecimento público. Alteração no conceito da abrangência de atuação por parte do setor público (vigilância) e dos prestadores de serviço e a reformulação do conceito de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu controle foram algumas das atualizações que deram origem à Portaria vingente.

Para tornar essa atualização possível, o Ministério da Saúde se organizou em um grupo oficial de trabalho, formado por representantes indicados pelos órgãos

da saúde e associações institucionais do setor de saneamento. Dentre as novas informações requeridas para compor a nova norma, citam-se a qualidade dos produtos químicos utilizados no processo de tratamento de água para consumo humano e a comprovação do baixo risco à saúde no consumo da água. Cita-se ainda a inclusão das ferramentas de avaliação e gestão de riscos implantadas desde o momento da captação da água para o tratamento até a distribuição para o consumo pela população.

Por fim, a legislação recomenda que planos de segurança da água devem ser trabalhados e implantados pelos gestores responsáveis pelo seu controle. Esses planos são avaliados como ferramentas de identificação e priorização de riscos e perigos nos sistemas de abastecimento de água; avaliando o processo desde o manancial até o consumo final pela população. Contudo, esses programas visam definir medidas de controle para minimizar ou eliminar e definir processos de verificação da eficácia da gestão dos sistemas e do controle da qualidade da água (BRASIL (B), 2011; RIBEIRO, 2012; FACINCANI, 2017).

1.3. A contaminação das águas por substâncias e elementos químicos

A preocupação com a presença de substâncias químicas nos ambientes aquáticos tornou-se evidente na década de 1970 (HIGNITE E AZARNOFF, 1977). Estudos realizados ao redor do mundo mostram a presença de resíduos químicos em matrizes ambientais. A principal rota de aporte deste tipo de contaminante em águas superficiais é o lançamento do esgoto *in natura*, visto que em muitas localidades há um grande déficit de infraestrutura em saneamento (SCHEURER et al, 2009; YERGEAU et al, 2012).

A contaminação aquática por elementos químicos demanda atenção, uma vez que os riscos à saúde humana e ao ambiente aquático ainda não são totalmente conhecidos. A preocupação quanto à preservação dos ecossistemas aquáticos e, conseqüentemente, quanto ao potencial risco de contaminação da água de abastecimento público tem incentivado estudos que objetivam identificar e quantificar esses resíduos, para que se possa minimizar o descarte e desenvolver processos eficientes para removê-los (FREITAS E FREITAS, 2005).

A identificação de substâncias químicas e seus processos de degradação no meio ambiente têm alertado estudiosos e pesquisadores no mundo, pois uma das maiores dificuldades é quantificar e apontar a presença de tais contaminantes em matrizes como solo e água (DONATO, et al, 2015).

Uma ferramenta totalmente viável para auxiliar nesses estudos é a aplicação da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). Essa técnica tem demonstrado grande eficiência em virtude de sua seletividade e detectabilidade na identificação de compostos orgânicos (FATTA et al, 2007; KOSJEK et al, 2007; FARRE et al, 2008)

2. CONCEITOS GERAIS

2.1. Determinação analítica empregando UPLC-MS/MS

O estabelecimento da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS) é um dos avanços analíticos mais importantes na área ambiental. O emprego dessa técnica permite a investigação e a determinação de compostos orgânicos no ambiente aquático com elevado grau de detectabilidade, seletividade, confiabilidade analítica e rapidez na análise. Os equipamentos de UPLC-MS/MS são constituídos por um cromatógrafo a líquido capaz de suportar altas pressões, uma fonte de ionização e um analisador espectrômetro de massas (KOSJEK et al, 2007).

2.2. Cromatografia líquida

Em cromatografia líquida, a separação das espécies ocorre em função do equilíbrio de partição entre a fase estacionária e a fase móvel dos analitos na coluna cromatográfica. Nos últimos 40 anos, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem sido a técnica analítica mais desenvolvida, difundida e empregada em laboratórios de análise de indústrias químicas e farmacêuticas, em áreas médicas e em muitos outros campos da ciência (MALDANER e JARDINI, 2009).

Nas últimas décadas, o desenvolvimento da cromatografia líquida tem sido direcionado à necessidade de análises mais rápidas, porém sem o comprometimento do desempenho cromatográfico. Tecnologias no desenvolvimento de novas colunas cromatográficas com fases estacionárias de tamanho das partículas reduzido tem proporcionado análises cromatográficas mais curtas sem perder a eficiência na separação das substâncias presentes na matriz. Contudo, a redução nos tamanhos das partículas das colunas cromatográficas promove o aumento da pressão de sistema cromatográfico, surgindo a necessidade de equipamentos com capacidade de suportar altas pressões (MALDANER e JARDIM, 2009; MESSINA et al, 2014). Denominada de cromatografia líquida de ultra performance (UPLC), a técnica baseia-se nos mesmos princípios da cromatografia líquida convencional, porém utiliza colunas analíticas com fases estacionárias constituídas de partículas com diâmetros entre 1,7 e 2 μm e equipamentos capazes de suportar pressões elevadas, o que promove um aumento na resolução da

separação cromatográfica, permitindo tempos das análises mais curtos (HOLLER et al, 2009; MALDANER e JARDIM, 2009; MESSINA et al, 2014).

2.3. Espectrometria de Massas

A Espectrometria de Massas (MS) é uma técnica analítica voltada para identificação de compostos desconhecidos e, também, para a quantificação de compostos. A grande sensibilidade da técnica faz com que seja rotineiramente usada na determinação de substâncias em baixa concentração, como no caso do doping, controle de qualidade em alimentos e medicamentos, contaminação e monitoramento ambiental, entre muitas outras aplicações.

Os espectrômetros de massas são constituídos, basicamente, das seguintes partes: Fonte de Ionização, Analisador de Massas e Detector. Além disso, alguns equipamentos apresentam dois analisadores de massas sequenciais intercalados por uma câmara de colisão (Figura 1) (HOFFMAM e STROOBANT (A), 2007).

Figura 1. Composição interna de um espectrômetro de massas Fonte: Software Masslynx WATERS

O espectrômetro de massa tem a capacidade de produzir íons e os separar conforme sua razão massa/carga (m/z). A fonte de ionização é a parte do espectrômetro de massas que produz íons dessolvatados dos analitos. A partir da fonte de ionização, os íons são conduzidos ao analisador, onde serão analisados de acordo com a razão massa/carga (m/z). Dentre as fontes de ionização disponíveis a fonte de ionização por electrospray (ESI, do inglês electrospray ionization) é uma das mais utilizadas. Após a ionização da molécula do analito, o íon precursor é selecionado no primeiro quadrupolo (Q1) e é direcionado à célula de colisão (q), onde, ao se colidir com um gás inerte, normalmente o nitrogênio ou argônio, é

fragmentado em íons de menor massa/carga (íons produtos). Os íons produtos gerados são selecionados no terceiro quadrupolo (Q3) e, posteriormente, são direcionados para o detector (Figura 2) (SKOOG et al, 2002).

O modo de aquisição "gold standard" de um sistema triplo quadrupolo é o monitoramento de reações múltiplas (do inglês *Multiple Reactions Monitoring* - MRM). O espectrômetro de massas é configurado de forma que dois ou mais íons sejam separados e fragmentados (MS/MS). Por meio do método de aquisição de dados MRM, é possível analisar multianálitos dentro de uma mesma análise, uma vez que, permite a identificação e seleção de cada transição íon precursor – íon produto monitorada (DEMOLINER, 2008). O MRM aumenta a seletividade da espectrometria de massas para determinados analitos e melhora a sensibilidade, diminuindo a resposta dos interferentes (HARRIS, 2001).

Processo de Tandem MS

Figura 2. Modo de aquisição MRM de um espectrômetro de massas.

2.3.1. Ionização por Electrospray

A ionização por electrospray envolve a formação de um spray eletrostático à pressão atmosférica, dando origem à pequenas gotículas carregadas (Figura 3). Por meio da aplicação de um gás inerte aquecido e de um potencial aplicado em um capilar metálico, o solvente é evaporado, gerando íons, os quais são direcionados ao analisador do espectrômetro de massas. A aplicação de um potencial positivo no capilar metálico promove a dispersão de cargas positivas, formando gotículas carregadas positivamente; com a evaporação do solvente o tamanho da gota diminui, e a repulsão entre as cargas positivas promove a explosão coulômbica, resultando na liberação de íons (HOFFMANN e STROOBANT (A), 2007).

Figura 3. Ionização por Eletrospray (ESI) (HOFFMANN e STROOBANT (B), 2007).

A formação de íons por electrospray ocorre por reações em fase líquida de perda ou ganho de prótons à molécula neutra, gerando moléculas protonadas (*i.e.* $[M+H_n]^{n+}$) ou desprotonadas (*i.e.* $[M-H_n]^{n-}$) (CROTTI *et al.*, 2006). Compostos que co-eluem com o analito podem interferir no processo de ganho ou perda de prótons promovendo a supressão ou incremento do sinal analítico no momento da análise. Experimentos recentes envolvendo ionização por electrospray com extratos de amostras biológicas mostraram que a principal causa de supressão de íons é uma mudança nas propriedades da pulverização da gota no processo de ionização causada pela presença de solutos não voláteis ou menos voláteis (ANNESLEY, 2003).

2.3.2. Analisador triplo quadrupolo

Os analisadores do tipo quadrupolos (Figura 4) utilizam campos elétricos oscilantes gerados por quatro barras metálicas (eletrodos) para estabilizar ou desestabilizar seletivamente os íons durante sua passagem pelo centro do quadrupolo, de acordo com seus valores de massa carga. Dessa maneira, o analisador quadrupolo funciona como um filtro de razão m/z .

Os analisadores de massa de quadrupolo estão ligados em paralelo a um gerador de radiofrequência (RF) e um potencial contínuo DC (*direct current*). Esses potenciais aplicados nessas barras em paralelo causam uma transmissão seletiva de íons de acordo com a razão massa carga. Essa diferença de potencial pode ser ajustada para transmissão de somente um íon de interesse (modo seleção), ou para vários íons de interesse, de modo a se obter um espectro de massas (modo varredura ou Scan) (HOFFMANN e STROOBANT (A), 2007).

Figura 4. Analisador de massas quadrupolo (HOFFMANN e STROOBANT (C), 2007).

Após os íons de interesse serem formados e passarem pelo primeiro analisador de massas, os mesmos são atraídos para dentro da célula de colisão através da aplicação de uma diferença de potencial (Figura 5). Essa diferença de potencial promove a aceleração dos íons na célula de colisão, de maneira que ao se colidirem com o gás inerte ocorre a fragmentação dos íons precursores. Esse processo é conhecido como dissociação induzida por colisão (CID), sendo utilizado em sistemas de espectrometria de massas sequencial (MS/MS) e desempenha um importante papel na determinação estrutural de íons e análises de misturas complexas (DOUGLAS, 1998).

Figura 5. Célula de colisão (WATERS TECHNOLOGIES, 2017)

2.3.3. Detector – Fotomultiplicadora

Detectores são os dispositivos responsáveis por converter o feixe de íons em sinal elétrico, posteriormente processado pelo sistema de aquisição de dados do computador.

Inicialmente os íons atingem uma placa, resultando na emissão de elétrons que então atingem uma tela de fósforo. A tela de fósforo, ejeta fótons uma vez atingida por elétrons. Estes fótons são detectados por uma fotomultiplicadora e são

proporcionais à quantidade de íons que chegam ao detector, possibilitando a quantificação (Figura 6) (DALY, 1960).

Figura 6. Detector fotomultiplicadora com detecção de íons positivos

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Aplicar a técnica UPLC-MS/MS na determinação de substâncias orgânicas indicadores da potabilidade de água destinada para o consumo humano listadas na Portaria 2914/11, tais quais: Carbendazim, Simazina, Aldicarbe Sulfoxido, Aldicarbe, Atrazina, Carbofurano, Aldicarbe Sulfona, Diuron, Metil Paration, Alaclor, Pendimetalina, Metolaclor, Terbufos, Benomil, Tebuconazol, Clorpirifós Oxon, Clorpirifós, Profenofós, AMPA, Glifosato, 2,4,6-Triclorofenol, 2,4D, 2,4,5T e Pentaclorofenol.

3.2. Objetivos específicos

- Desenvolver um método analítico empregando a técnica UPLC-MS/MS para a identificação das substâncias de interesse.
- Avaliar a detectabilidade do método analítico com relação aos limites máximos permitidos pela Portaria 2914/11 para as substâncias de interesse.
- Validar o método analítico desenvolvido.
- Avaliar aplicabilidade do método analítico proposto em amostras de água potável.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Substâncias estudadas

As substâncias analisadas nesse projeto foram escolhidas para atender a portaria 2914/1.

A Tabela 1 mostra a fórmula molecular e a estrutura molecular das substâncias selecionadas para o estudo.

Tabela 1. Fórmula molecular e estrutura química das 28 substâncias de interesse

Espécies	Fórmula Química	Estrutura química
Acrilamida	C_3H_5NO
Pentaclorofenol	C_6HCl_5O
2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4 D)	$C_8H_6Cl_2O_3$
2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid - (2,4,5 T)	$C_8H_5Cl_3O_3$
Alaclor	$C_{14}H_{20}ClNO_2$
Aldicarbe	$C_7H_{14}N_2O_2S$
Aldicarbe sulfona	$C_7H_{14}N_2O_4S$
Aldicarbe sulfóxido	$C_7H_{14}N_2O_3S$
Atrazina	$C_8H_{14}ClN_5$
Carbendazim	$C_9H_9N_3O_2$
Benomil	$C_{14}H_{18}N_4O_3$
Carbofurano	$C_{12}H_{15}NO_3$

Clorpirifós	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$
Clorpirifós-oxon	$C_9H_{11}Cl_3NO_4P$
Diuron	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$
Mancozebe	$C_8H_{12}MnN_4S_8Zn$
Glifosato	$C_3H_8NO_5P$
AMPA	$C_7H_{10}N_2O_4$
Metamidofós	$C_2H_8NO_2PS$
Metolacoloro	$C_{15}H_{22}ClNO_2$
Molinato	$C_9H_{17}NOS$
Parationa Metílica	$C_8H_{10}NO_5PS$
Pendimetalina	$C_8H_{10}NO_5PS$

Profenofós	$C_{11}H_{15}BrClO_3PS$
Simazina	$C_7H_{12}ClN_5$
Tebuconazol	$C_{16}H_{22}ClN_3O$
Terbufós	$C_9H_{21}O_2PS_3$
2,4,6 Triclorofenol	$C_6H_2Cl_3OH$

4.2. Reagentes e padrões analíticos

Os solventes utilizados no preparo das soluções e da fase móvel para a análise cromatográfica foram metanol (Merck) grau HPLC e água ultrapura (MilliQ Plus, Millipore). Ácido fórmico de grau LC-MS (Fluka) foi utilizado como aditivo da fase móvel.

Padrões analíticos de Acrilamida (Sigma Aldrich), Mancozebe (Sigma Aldrich), Metamidofós (Sigma Aldrich), Molinate (Ultra Scientific), Carbendazim (Sigma Aldrich), Simazina (AccuStandard), Aldicarbe Sulfoxido (Sigma Aldrich), Aldicarbe (Sigma Aldrich), Atrazina (Sigma Aldrich), Carbofurano (Sigma Aldrich), Aldicarbe Sulfona (Sigma Aldrich), Diuron (Ultra scientific), Metil Paration (AccuStandard), Alaclor (AccuStandard), Pendimetalina (Sigma Aldrich), Metolaclor (Sigma Aldrich), Terbufos (Sigma Aldrich), Benomil (Sigma Aldrich), Tebuconazol (Sigma Aldrich), Clorpirifós Oxon (LGC), Clorpirifós (Ultra Scientific), Profenofós (Sigma Aldrich), AMPA (Sigma Aldrich), Glifosato (AccuStandard), 2,4,6-Triclorofenol (Ultra Scientific), 2,4D (Sigma Aldrich), 2,4,5T (Sigma Aldrich) e Pentaclorofenol (AccuStandard) foram fornecidos por laboratórios parceiros. Os padrões analíticos foram obtidos em solução, na concentração em (mg L^{-1}) denominados de solução estoque (

Tabela 2). Soluções de trabalho dos padrões analíticos foram preparadas por meio da dissolução das soluções estoque em solução $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ 50:50 (v/v), na concentração de 100 vezes o valor máximo permitido de cada espécie estudada, de acordo com a portaria 2914/11 (

Tabela 2).

Tabela 2. Valor máximo permitido (VMP) em água para consumo humano para cada substância de interesse de acordo com a Portaria 2914/11 e concentrações de preparo das soluções de padrões estoques e de trabalho.

Substância	VMP $\mu\text{g L}^{-1}$	Solução estoque mg L^{-1}	Solução de trabalho $\mu\text{g L}^{-1}$
Acrilamida	0,5	238	50
Pentaclorofenol	9	1000	900
2,4 D	30	1000	3000
2,4,5 T	30	1000	3000
Alaclor	20	1004	2000
Aldicarbe	10	983	1000
Aldicarbesulfona	10	956	1000
Aldicarbesulfóxido	10	990	1000
Atrazina	2	1000	200
Carbendazim	120	896	12000
Benomil	120	1000	12000
Carbofurano	7	824	700
Clorpirifós	30	1000	3000
Clorpirifós-oxon	30	1000	3000
Diuron	90	1000	9000
Glifosato	500	1000	50000
AMPA	500	1000	50000
Mancozebe	180	40	18000
Metamidofós	12	939	1200
Molinato	6	1000	600
Parationa Metílica	9	1000	900
Profenofós	60	1258	6000
Simazina	2	1000	200
Tebuconazol	180	994	18000
Metolacoloro	10	597	1000
Pendimentalina	20	790	2000
Terbufós	1.2	781	120
2,4,6 Triclorofenol	200	1000	20000

*Valores obtidos da Portaria 2914/11

4.3. Coleta e amostragem de águas para consumo humano

4.3.1. Locais de amostragem

Duas amostras de água potável foram coletadas para a avaliação e aplicação do método analítico. Uma amostra foi coletada em uma fonte de água existente na cidade de Paulínia-SP. O Fontanário está localizado no bairro homônimo, zona norte de Paulínia, às margens da Rodovia SPA 129/332. No local, que dispõe de quatro bicas, os munícipes podem retirar água mineral sem nenhum custo.

Uma segunda amostra foi coletada em poço artesiano localizado na Chácara Santa Margarida, também na cidade de Paulínia-SP. A Chácara possui uma área de 9.300 m² no perímetro urbano da cidade.

4.3.2. Coleta das amostras

Dois litros de cada amostra foram coletados em frascos âmbar de vidro para o transporte das amostras até o laboratório, os quais foram mantidos sob refrigeração ao longo do transporte. Uma vez no laboratório, as amostras foram mantidas a 4°C até o procedimento de preparo de amostra, o qual foi realizado dois dias após a coleta.

4.4. Preparo de amostra

Previamente às análises, as amostras de água potável coletadas foram filtradas, empregando seringa plástica com capacidade para 5 mL (Latex Free) e filtro de seringa GHP (mn carvalhaes) de 13 mm e 0,22 µm de poro, e transferidas diretamente para vial de injeção âmbar com capacidade para 2 mL. Posteriormente, as amostras foram analisadas via UPLC-MS/MS.

4.5. Método analítico: UPLC-MS/MS

Empregou-se um cromatógrafo a líquido de ultra eficiência (modelo MS I-Class ACQUITY UPLC, *Waters Technology*®), constituído de bomba binária, acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo sequencial (modelo Xevo TQS, *Waters Technology*®) e ionização por ESI.

Figura 7. Sistema UPLC-MS/MS - I-Class, Xevo TQS

Para a cromatografia líquida em fase reversa, utilizou-se coluna analítica Acquity HSS T3 com 100 mm x 2,1 mm de diâmetro interno e 1,8 μ m de tamanho de partícula (*Waters Technology*, Brasil). A fase móvel foi composta por solução aquosa de formiato de amônio 5 mM e ácido fórmico 21,7 mM, pH - 2.9 (Fase móvel A), e solução 5% H₂O e 95% metanol (v/v) com formiato de amônio 5 mM e ácido fórmico 21,7 mM (Fase Móvel B).

A Tabela 3 apresenta as condições cromatográficas do método utilizado.

Tabela 3. Condições cromatográficas

Condições cromatográficas UPLC:

- Fase Móvel A: Água + 5mM Formiato de Amônio + 21.7 mM Ácido Fórmico – pH 2.9
- Fase Móvel B: Metanol + 5 mM Formiato de Amônio + 21.7 mM Ácido Fórmico
- Coluna cromatográfica: Acquity HSS T3 100 x 2.1 mm e 1.8 μ m.
- Temperatura da coluna: 45° C
- Volume de injeção: 10 μ L
- Tempo de corrida: 12 min
- Gradiente:

Tempo (min)	Fluxo (mL/min)	%A	%B
Início	0.40	99.9	0.1
0.80	0.40	99.9	0.1
8.75	0.40	1.0	99.0
9.50	0.40	1.0	99.0
9.51	0.40	99.9	0.1
12.0	0.40	99.9	0.1

Os analitos foram ionizados no modo positivo e negativo, dependendo do analito. A fonte de ionização foi mantida conforme os seguintes parâmetros: voltagem do capilar nebulizador foi ajustada a 1,0 KV, com temperatura da fonte de íons a 150 °C. A temperatura de dessolvatação foi ajustada a 550 °C, com fluxo de gás de dessolvatação (N₂) de 900 L/h. O gás de colisão empregado foi o argônio a vazão de 0,17 mL/min, com pressão constante de 388 Pa.

4.6. Teste de Supressão Iônica para avaliação do Efeito de Matriz

O efeito matriz de supressão iônica foi avaliado por meio da infusão direta de uma solução padrão da mistura dos padrões analíticos combinada com a infusão direta de solução da fase móvel ou de uma amostra de água isenta dos analitos, empregando uma conexão em forma de "T".

Os resultados obtidos por meio da infusão da solução padrão combinado com a infusão da fase móvel foi comparado com o resultado obtido por meio da infusão da solução padrão combinada com a amostra isenta dos analitos.

4.7. Validação do método

O método foi avaliado por meio dos parâmetros de validação de métodos analíticos, tais quais: especificidade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) (INMETRO, 2010; LOPES, 2010; LOPES et al, 2011; LOPES et al, 2011; SANTE, 2016).

Todos os ensaios foram realizados empregando a amostra de água potável, coletada no fontanário da cidade de Paulínia-SP, a qual foi previamente analisada, apresentando resultado negativo para todas as substâncias de interesse. Os parâmetros analíticos foram avaliados em amostras controles, preparadas a partir da adição dos analitos nas concentrações de 1,0, 1,5, 2,5, 3,5 vezes o valor máximo permitido de cada analito na amostra de água coletada no fontuário da cidade de Paulínia-SP.

4.7.1. Especificidade

Avaliou-se a especificidade do método através de análises de amostras de água sem adição dos padrões.

4.7.2. Linearidade

A linearidade foi avaliada por meio da construção de curvas analíticas utilizando o método de padronização externa com no mínimo cinco pontos. Para tal, foram preparadas soluções da mistura dos padrões contendo todos os analitos de interesse nos níveis de concentração de 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 vezes o valor máximo permitido de cada composto informado pela portaria 2914/11. Foram escolhidas essas concentrações com base nas avaliações de intensidade e eficiência de ionização das espécies estudadas. As soluções foram preparadas por meio da diluição da solução de trabalho em água ultrapura.

4.7.3. Exatidão

Para a avaliação da exatidão do método analítico, alíquotas ($n \geq 6$) de uma amostra de água isenta dos analitos foram fortificadas com os padrões analíticos dos analitos. As amostras fortificadas foram filtradas com a membrana GHP de 0,22 μm e, em seguida, analisadas por UPLC-MS/MS. As áreas dos picos cromatográficos obtidas na determinação de cada analito nas amostras fortificadas foram utilizadas para estimar a concentração dos analitos na amostra empregando a curva de calibração externa. A exatidão foi expressa em termos de recuperação, estimada pela equação a seguir.

$$R(\%) = \frac{\text{Concentração do analito encontrada na amostra}}{\text{Concentração do analito adicionado}} \times 100$$

Neste trabalho, seguiu-se a recomendação de validação de métodos cromatográficos, na qual as recuperações devem estar entre 70 e 120% (SANTE, 2016).

4.7.4. Precisão

A precisão do método analítico foi avaliada em termos do coeficiente de variação (CV) da determinação dos analitos em preparações repetidas das amostras fortificadas em vários níveis de concentração.

A repetitividade do método analítico (precisão intra-dia) foi avaliada através da determinação dos analitos em preparações das amostras fortificadas repetidas em um mesmo dia. Para avaliar a precisão intermediária (precisão inter-dia), foram

realizadas a determinação dos analitos em preparações das amostras fortificadas repetidas em dois dias alternados.

4.7.5. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Calculou-se os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método analítico para cada composto considerando os dados obtidos a partir da curva analítica preparada em uma amostra de água potável, empregando a equação 1 e a equação 2 (THOMPSON, 2000; SOUZA e JUNQUEIRA, 2005; SOUZA et al, 2007).

Equação 1 $LD = \frac{3 \times s_B}{A}$

Equação 2: $LQ = \frac{10 \times s_B}{A}$

Sendo:

LD: limite de detecção;

LQ: limite de quantificação;

s_B: desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica;

A: coeficiente angular

4.8. Aplicação do método

O método validado foi aplicado nas amostras de água potável coletadas conforme descrito no item 4.3, com base nos parâmetros da portaria 2914/11 para avaliação a potabilidade.

Foram realizadas análises em duplicatas para cada amostra. Realizou-se também análises em triplicatas dessas amostras com fortificações nas concentrações no nível do valor máximo permitido para cada espécie e duas vezes e meia o valor máximo permitido.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Desenvolvimento do método analítico baseado em UPLC-MS/MS

5.1.1. Condições do espectrômetro de massas (MS/MS)

A otimização do potencial do cone do espectrômetro de massas, a seleção dos íons precursores e íons produtos, bem como as respectivas energias de colisão para cada transição “íon precursor → íon produto” foram realizadas por meio da infusão direta no espectrômetro de massas de uma solução padrão a 1 mg L⁻¹ preparada individualmente para cada analito, e com o auxílio do software de aquisição de dados Masslynx.

A Tabela 4 mostra as transições dos íons precursores e dos fragmentos, o modo de ionização e a energia de colisão para cada transição “íon precursor → íon produto”.

Tabela 4. Modo de ionização, voltagem do cone, transição de quantificação e confirmação e suas respectivas energias de colisão empregadas para cada analito de interesse

Substância	Ionização	Cone (V)	Íon Quantificação MRM 1	Energia de colisão (eV)	Íon Confirmação MRM 2	Energia de colisão (eV)
Acrilamida	ESI +	30	72 > 55.1	8	-	-
Pentaclorofenol	ESI +	10	262.6 > 262.6	25	264.6 > 264.6	15
2,4 D	ESI -	30	219 > 160.9	15.00	219 > 124.9	27.00
2,4,5 T	ESI -	30	253.1 > 194.9	13.00	255.2 > 196.9	13.00
Alaclor	ESI +	30	271.1 > 238.9	11.00	271.1 > 163	19.00
Aldicarbe	ESI +	30	213.1 > 89	16.00	213.1 > 116	11.00
Aldicarbessulfona	ESI +	30	223 > 86	23.00	223 > 148	14.00
Aldicarbessulfóxido	ESI +	30	207 > 132	6.00	207 > 89	14.00
Atrazina	ESI +	30	216 > 173.9	27.00	216 > 95.9	32.00
Carbendazim	ESI +	30	192.1 > 160	18.00	192.1 > 132	28.00
benomil	ESI +	30	291.1 > 160	28.00	291.1 > 192	16.00
Carbofurano	ESI +	30	222.1 > 165	24.00	222.1 > 123	44.00
Clorpirifós	ESI +	30	350 > 125	15.00	350 > 153	12.00
Clorpirifós-oxon	ESI +	20	333.8 > 197.8	20.00	333.8 > 277.8	16.00
Diuron	ESI +	30	233 > 72	18.00	233 > 46	14.00
Glifosato	ESI -	30	167.9 > 149.8	10.00	167.9 > 62.8	18.00
AMPA	ESI -	30	109.9 > 80.7	16.00	109.9 > 62.8	20.00
Mancozebe	ESI +	30	103 > 44	15.00	-	-
Metamidofós	ESI +	30	142 > 93.9	27.00	142 > 124.9	23.00
Molinato	ESI +	30	187.8 > 125.9	20.00	187.8 > 54.9	33.00
Parationa Metílica	ESI +	30	263.9 > 78.8	30.00	263.9 > 108.8	16.00
Profenofós	ESI +	20	373 > 128	14.00	373 > 330.9	13.00
Simazina	ESI +	30	202 > 123.9	17.00	202 > 95.9	21.00
Tebuconazol	ESI +	30	308 > 69.9	22.00	308 > 124.9	40.00
Metolaclo	ESI +	20	284 > 252	15.00	284 > 176	25.00
Pendimetalina	ESI +	20	282 > 212.1	9.00	282 > 194.1	18.00
Terbufós	ESI +	15	289.1 > 103	9.00	289.1 > 233	5.00
2,4,6 Triclorofenol	ESI -	60	194.8 > 194.8	19.00	196.8 > 196.8	19.00

Os modificadores de fase móvel formiato de amônio e ácido fórmico estimulam a formação de íons moleculares de carga negativa e positiva, respectivamente, nos métodos de ionização por electrospray. Desta maneira, optou-se por utilizar uma solução de formiato de amônio e ácido fórmico como modificador de fase móvel para favorecer o processo de ionização das moléculas de interesse.

Outros modificadores como o acetato de amônio e ácido acético foram avaliados no desenvolvimento do método, porém, o formiato de amônio e ácido fórmico apresentaram melhor eficiência de sinal e separação para as espécies avaliadas.

O método cromatográfico desenvolvido foi capaz de monitorar os 28 analitos simultaneamente, empregando um gradiente de eluição cromatográfica e o método de monitoramento de íons MRM em modo positivo e negativo; os parâmetros de ionização para cada polaridade são alterados durante a corrida cromatográfica.

A Figura 8 mostra um cromatograma de íons totais típico para todos os praguicidas estudados na concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ do VMP de cada.

Figura 8. Cromatograma de íons totais obtido a partir da análise de uma solução padrão dos 28 praguicidas estudados via UPLC-MS/MS, empregando o monitoramento de íons MRM e gradiente de eluição cromatográfica.

A Figura 8 mostra que a determinação dos analitos por meio do método analítico baseado em UPLC-MS/MS é realizado em menos de 10 minutos, com co-eluição de picos cromatográficos: AMPA e Glifosato, co-eluem em 0,58 e 0,60 min, respectivamente; Acrilamida e Mancozebe co-eluem em 1,23 min; 2,4,5 T e 2,4,6

Triclorofenol co-eluem em 7,20 min; e Alacloro, Clorpirifós-oxon, Metolacloto eluem em 7,90, 7,94 e 7,96 min, respectivamente.

A determinação analítica sem a completa separação dos analitos é possível devido à seletividade do analisador triplo quadrupolo, que identifica cada composto por meio de suas transições íon precursor → íon produto, além do tempo de retenção, o que caracteriza a seletividade da técnica UPLC-MS/MS. A transição de cada analito “íon precursor – íon produto” de maior intensidade (sinal analítico) foi selecionada para a quantificação; a transição menos intensa foi empregada como confirmação do analito.

A detecção de pesticidas e/ou demais analitos em misturas e/ou em amostras complexas, pode ser um problema em cromatografia líquida quando são empregados detectores por ultravioleta (HPLC-UV) ou arranjo de diodos (HPLC-DAD). Esses detectores não são específicos suficientes para permitir a detecção de diferentes compostos sem a completa separação cromatográfica, principalmente quando as diferenças espectrais entre moléculas são pequenas. A espectrometria de massas operando no modo MRM, por sua vez, é altamente seletiva.

A Figura 9, a Figura 10 e Figura 11 mostram os cromatogramas de MRM extraídos para a transição “íon precursor → íon produto” de maior intensidade para cada analito, os quais foram utilizados nas análises a seguir.

Figura 9. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íon precursor” para os analitos Alachlor; Paration Metil; Diuron; Aldicarb Sulfona; Carbofurano; Atrazina e Aldicarb, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.

Figura 10. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íon precursor” para os analitos Clorpirifós, Clorpirifós-oxon; Tebuconazol; Benomil; Terbufós; Metolachlor e Pendimethalin, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.

Figura 11. Cromatograma de MRM para a transição de quantificação “íon produto – íon precursor” para os analitos Pentaclorofenol; 2,4,5 T; 2,4 D; 2,4,6 Triclorofenol, Glifosato, AMPA e Profenofós, empregando o método analítico baseado em UPLC-MS/MS.

A seletividade da técnica é demonstrada neste estudo por meio da Figura 12 e Figura 13.

Figura 12. Cromatogramas de MRM obtidos para os analitos Acrilamida e Mancozebe a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e $360 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente por UPLC-MS/MS .

Figura 13. Cromatograma de MRM para a Atrazina ($t_r = 6,86$ min; 1-transição quantificação, 2-transição de qualificação) e Diuron ($t_r=6,91$ min, 1- transição de quantificação, 2- transição de qualificação) a $4 \mu\text{g L}^{-1}$ e $180 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente por UPL-MS/MS

A Figura 12 mostra que os analitos Acrilamida ($t_r=1,23$ min; transição MRM $m/z 71,9 \rightarrow m/z 54,9$) e Mancozebe ($t_r=1,23$ min; transição MRM $m/z 103 \rightarrow m/z 44$) podem ser identificados por meio do cromatograma de MRM, mesmo eluídos em tempos de retenção muito próximos. A Figura 13, mostra os cromatogramas de MRM para a Atrazina ($t_r=6,86$ min) e para o Diuron ($t_r=6,91$ min), os quais apresentam tempos de retenção similares.

Para garantir a identificação dos analitos nas amostras, foram monitoradas duas transições “íon precursor $\rightarrow$ íon fragmento” para cada substância de interesse, exceto para a Acrilamida, Mancozebe, Pentaclorofenol e 2,4,6 Triclorofenol, além do tempo de retenção da separação cromatográfica (Tabela 4). Para a Acrilamida foi possível identificar um segundo íon produto, contudo a transição não apresentou sinal analítico com intensidade suficiente para ser detectado no nível de $\mu\text{g L}^{-1}$; para o Mancozebe, somente um íon produto foi observado após a fragmentação do íon precursor monitorado. As substâncias Pentaclorofenol e 2,4,6 Triclorofenol, uma vez ionizadas, apresentaram alta estabilidade molecular de maneira que a energia de colisão aplicada em UPLC-MS/MS não foi capaz de romper as ligações intermoleculares e gerar íons produtos estáveis. Devido a isso, a identificação

dessas substâncias por UPLC-MS/MS foi realizada pelo monitoramento do íon precursor, empregando o método de monitoramento de íons MRM.

Uma alternativa para o monitoramento de íons, na identificação apenas do íon precursor em espectrômetros de massas é o monitoramento SIM (*single ion monitoring*). Nesse caso, a seleção do íon precursor é realizada utilizando um simples quadrupolo. Esse modo de aquisição é utilizado em equipamentos constituídos com somente um quadrupolo sem presença de célula de colisão (camara de fragmentação), denominados "*single quadrupolo*" e também em "*tandem quadrupolos*". Essa técnica é muito utilizada em espécies com alta capacidade de ionização, porém, com grande dificuldade de realizar a fragmentação. Entretanto, como o estudo foi conduzido em equipamento "*tandem quadrupolo*", para o Pentaclorofenol e para o 2,4,6 - Triclorofenol, optou-se pela análise na modalidade de monitoramento de íons MRM (Figura 14A e Figura 15A) – o íon precursor foi selecionado no primeiro quadrupolo e direcionado ao segundo quadrupolo (camara de fragmentação) com uma baixa aplicação de potencial na célula de colisão, pois utilizando os dois quadrupolos como filtro de íons, observou um menor ruído e, conseqüentemente, maior detectabilidade analítica (maior relação sinal/ruído). Como transição de confirmação, o íon precursor monoisotópico do átomo de Cloro 37 presente nas estruturas moleculares foi monitorado também via método MRM (Figura 14B e Figura 15B).

Figura 14. Cromatograma de MRM para A) íon precursor do Pentaclorofenol monoisotópico do Cloro 37 B) íon precursor do Pentaclorofenol monoisotopo do Cloro 35 por UPLC-MS/MS a $18 \mu g L^{-1}$

Figura 15. Cromatograma de MRM para A) íon precursor do 2,4,6 Triclorofenol monoisotópico do Cloro 37 B) íon precursor do 2,4,6 Triclorofenol monoisotopo do Cloro 35 por UPLC-MS/MS a $400 \mu g L^{-1}$

Na análise cromatográfica por MRM, a transição “íon precursor → íon produto” que apresentou um sinal analítico com maior valor de razão sinal/ruído (S/N) foi selecionada como transição de quantificação, enquanto que a transição “íon precursor → íon produto” que apresentou menor relação sinal/ruído foi empregada como transição de confirmação. A Figura 16 mostra os cromatogramas de MRM para o Aldicarb, analito para o qual observou-se que a transição mais intensa apresentou uma maior relação sinal/ruído. A Figura 17 mostra os cromatogramas de MRM para o Carbofurano; nesse caso, a transição mais intensa apresentou uma menor razão sinal/ruído.

Figura 16. Cromatogramas de MRM para Aldicarb, seleção da transição “íon precursor → íon produto” de quantificação e confirmação.

Figura 17. Cromatogramas de MRM para Carbofurano, seleção da transição “íon precursor → íon produto” de quantificação e confirmação

5.2. Avaliação do método analítico - Validação

5.2.1. Linearidade

O método analítico proposto apresentou um comportamento linear entre 0,1 e 5 vezes a concentração máxima permitida em amostras de água para consumo humano, de acordo com a Portaria 2914/11, com coeficiente de correlação linear

maior do que 0,99, considerando todas as substâncias de interesse. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Tempo de retenção, parâmetros de linearidade do método analítico, LD e LQ e VMP de acordo com a Portaria 2914/11 para as substâncias de interesse.

Substância	tr, min	Equação da reta	SD, A	SD, B	r ²	Faixa de trabalho	LD, (µg/L)	LQ (µg/L)	VMP (µg/L)
Acrilamida	1,21	y = 272x + 27	5,22	7,79	0,9937	0,25 - 2,5	0,10	0,25	0,50
Pentaclorofenol	8,69	y = 2944x - 161	21,18	277,61	0,9983	0,90 - 45,0	0,30	0,90	9,00
2,4 D	6,64	y = 1046x + 416	13,51	633,88	0,9982	3,00 - 150,0	1,60	3,00	30,00
2,4,5 T	7,20	y = 1179x + 709	8,81	419,31	0,9979	3,00 - 150,0	1,10	3,00	30,00
Alaclor	7,90	y = 21164x + 14422	106,05	3462,12	0,996	2,00 - 80,0	0,50	2,00	20,00
Aldicarbe	5,67	y = 2786x + 155	18,77	269,65	0,9985	1,00 - 50,0	0,30	1,00	10,00
Aldicarbesulfona	3,67	y = 15099x + 5188	190,38	2941,45	0,9976	1,00 - 40,0	0,60	1,00	10,00
Aldicarbesulfóxido	3,50	y = 476x + 144	6,61	100,56	0,9979	1,00 - 50,0	0,60	1,00	10,00
Atrazina	6,87	y = 82141x + 6988	359,77	1174,54	0,9956	0,20 - 8,0	0,04	0,20	2,00
Carbendazim	4,24	y = 453x + 1582	1,57	307,29	0,9950	12,00 - 480,0	2,04	12,00	120,00
benomil	8,20	y = 31x + 56	0,18	27,63	0,9974	12,00 - 600,0	2,65	12,00	120,00
Carbofurano	6,26	y = 32433x + 2219	194,01	2188,22	0,9978	0,70 - 21,0	0,20	0,70	7,00
Clorpirifós	8,87	y = 51217x - 41705	478,70	21895,79	0,9965	3,00 - 150,0	1,28	3,00	30,00
Clorpirifós-oxon	7,96	y = 759x + 68	3,83	185,08	0,9967	3,00 - 150,0	0,73	3,00	30,00
Diuron	6,91	y = 2570x + 14111	12,12	1781,28	0,9919	9,00 - 360,0	2,08	9,00	90,00
Glifosato	0,62	y = 169x - 40486	1,88	3007,07	0,9958	250,00 - 2500,0	53,30	250,00	500,00
AMPA	0,60	y = 19x - 684	0,15	110,89	0,9945	50,00 - 2500,0	17,15	50,00	500,00
Mancozebe	1,21	y = 377x - 849	2,76	714,17	0,9982	18,00 - 900,0	5,69	18,00	180,00
Metamidofós	2,52	y = 18384x + 6044	88,79	1716,17	0,9966	1,20 - 48,0	0,28	1,20	12,00
Molinato	7,68	y = 42348x + 3269	530,05	4913,62	0,9977	0,60 - 24,0	0,35	0,60	6,00
Parationa Metilica	7,25	y = 4036x + 171	22,32	296,77	0,9980	0,90 - 45,0	0,22	0,90	9,00
Profenofós	8,63	y = 651x - 579	2,43	209,95	0,9968	6,00 - 240,0	0,97	6,00	60,00
Simazina	6,25	y = 43402x + 2096	549,41	1697,70	0,9980	0,20 - 10,0	0,12	0,20	2,00
Tebuconazol	8,09	y = 1645x + 14953	6,61	1942,97	0,9908	45,00 - 720,0	3,54	45,00	180,00
Metolacoloro	7,97	y = 30970x + 7938	139,74	2281,05	0,9953	1,00 - 40,0	0,22	1,00	10,00
Pendimentalina	8,91	y = 70335x - 36953	609,83	18844,04	0,9960	2,00 - 80,0	0,8	2,00	20,00
Terbufós	8,71	y = 185x + 20	3,53	11,46	0,9914	0,60 - 6,0	0,19	0,60	1,20
2,4,6 Triclorofenol	7,20	y = 227x + 2064	1,51	487,69	0,9949	50,00 - 1000,0	6,45	50,00	200,00

*SD, A: Desvio padrão do coeficiente angular da curva analítica

**SD, B: Desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica

Observa-se na Tabela 5 que para todos os analitos de interesse o LD e LQ do método analítico proposto foi menor do que o VMP estabelecido pela Portaria 2914/11. Sendo assim, não se faz necessário o emprego de técnicas de preparo de amostra de extração e concentração dos analitos para determinação dos 28 praguicidas listados na Portaria como indicadores de qualidade de águas pelo método analítico proposto. Previamente à análise, as amostras foram filtradas através de filtros de seringa para remoção do material particulado.

5.2.2. Avaliação do Efeito de Matriz através do teste de Supressão Iônica

Em análises ambientais por UPLC-MS/MS o efeito matriz ocorre devido à co-eluição de compostos presentes na matriz, que altera significativamente a ionização dos analito de interesse, em virtude de um processo competitivo: serão ionizados

preferencialmente aqueles compostos que apresentem maior facilidade de ionização nas condições estabelecidas e aqueles que estiverem em maiores concentrações no meio. O efeito matriz pode inviabilizar a determinação analítica, uma vez que afeta a reprodutibilidade, exatidão e a linearidade da resposta analítica. Frente às inúmeras possibilidades de supressão iônica, testes prévios são necessários.

A Figura 18 apresenta os cromatogramas obtidos a partir do ensaio realizado para a avaliação do efeito de matriz em amostras de água para 8 das substâncias de interesse. Resultados similares foram observados para as demais substâncias.

Figura 18 Cromatograma de íons totais obtidos a partir da infusão da solução padrão e da amostra de água potável isenta dos analitos de interesse para a Atrazina, Aldicarbe, Aldicarbe Sulfoxido, Simazina, Carbendazim, Molinate, Metamidofos e Mancozebe.

A Figura 18 mostra que não foram observados efeitos de matriz de supressão de sinal (alteração da linha de base com a infusão da matriz) nos respectivos tempos de retenção para os analitos de interesse.

5.2.3. Recuperação

A Tabela 6 mostra que a recuperação variou entre 83 e 118% considerando todas as substâncias de interesse e os quatro níveis de concentração avaliados, com CV menor do que 15% (SANTE, 2016).

Tabela 6. Resultados de Repetitividade instrumental e Precisão do método analítico proposto para a determinação das 28 substâncias de interesse avaliadas em quatro níveis de concentração.

		<i>Repetitividade Instrumental</i>				<i>Precisão Intermediária</i>			
Substância	Concentração (µg/L)	Número Replicatas	Resultado médio (conc.) µg/L	RSD (%)	% Recuperação	Numero Replicatas	Resultado médio (conc.) µg/L	RSD (%)	% Recuperação
Acrilamida	0,50	7	0,50	9,29	100,9	8	0,49	10,23	98,3
	0,75	8	0,78	13,60	103,8	8	0,79	9,36	104,7
	1,25	8	1,21	10,39	96,5	9	1,24	8,97	99,5
	1,75	9	1,77	5,52	101,1	9	1,73	5,55	98,9
Pentaclorofenol	9,00	9	9,65	3,89	107,3	9	9,89	1,98	109,9
	13,50	9	14,08	1,41	104,3	9	14,50	2,98	107,4
	22,50	9	23,04	1,59	102,4	9	23,84	1,69	106,0
	31,50	9	31,55	1,90	100,2	9	32,65	1,56	103,6
2,4 D	30,00	9	32,92	1,60	109,7	9	33,07	1,77	110,2
	45,00	9	47,50	2,04	105,6	9	47,86	1,35	106,4
	75,00	9	77,91	1,33	103,9	9	79,40	1,10	105,9
	105,00	9	106,67	1,14	101,6	9	107,92	0,83	102,8
2,4,5 T	30,00	9	33,62	1,75	112,1	9	33,82	2,76	112,7
	45,00	9	48,23	1,11	107,2	9	48,89	2,21	108,6
	75,00	9	77,73	1,63	103,6	9	79,59	1,38	106,1
	105,00	9	105,75	0,88	100,7	9	107,28	1,19	102,2
Alaclor	20,00	9	22,76	0,83	113,8	9	22,68	1,03	113,4
	30,00	9	31,88	1,55	106,3	9	32,92	1,30	109,7
	50,00	9	50,59	1,40	101,2	9	52,39	1,04	104,8
	70,00	9	67,70	0,64	96,7	9	70,35	0,30	100,5
Aldicarbe	10,00	9	10,49	1,17	104,9	9	10,50	1,54	105,0
	15,00	9	15,02	1,57	100,2	9	15,46	1,60	103,1
	25,00	9	24,98	1,50	99,9	9	25,73	1,22	102,9
	35,00	9	34,72	0,80	99,2	9	35,95	0,49	102,7
Aldicarbesulfona	10,00	9	10,88	1,06	108,8	9	10,97	2,02	109,7
	15,00	9	15,33	2,09	102,2	9	16,02	1,31	106,8
	25,00	9	24,76	1,43	99,0	9	25,98	1,10	103,9
	35,00	9	33,70	0,96	96,3	9	35,66	0,86	101,9
Aldicarbesulfóxido	10,00	9	10,82	1,76	108,2	9	10,76	2,63	107,6
	15,00	9	15,66	3,62	104,4	9	15,73	2,81	104,8
	25,00	9	24,27	4,21	97,1	9	25,74	2,06	103,0
	35,00	9	32,84	2,41	93,8	9	36,01	1,87	102,9
Atrazina	2,00	9	2,27	1,27	113,6	9	2,26	1,60	113,1
	3,00	9	3,18	1,48	106,2	9	3,29	1,22	109,6
	5,00	9	5,02	1,42	100,4	9	5,22	1,39	104,3
	7,00	9	6,72	0,43	96,0	9	6,99	0,83	99,8
Carbendazim	48,00	9	50,41	1,27	105,0	9	50,87	0,74	106,0
	120,00	9	137,80	1,01	114,8	9	137,00	0,96	114,2

	180,00	9	194,30	1,48	108,0	9	198,48	1,69	110,3
	300,00	9	305,51	1,23	101,8	9	311,26	1,23	103,8
benomil	48,00	9	40,10	4,32	83,5	9	46,81	7,08	97,5
	120,00	9	125,45	4,62	104,5	9	127,71	2,66	106,4
	180,00	9	161,55	4,87	89,8	9	180,34	3,80	100,2
	300,00	9	259,84	2,62	86,6	9	294,94	4,41	98,3
Carbofurano	7,00	9	7,62	0,96	108,9	9	7,70	1,20	110
	10,50	9	10,79	1,61	102,8	9	11,29	1,24	107,6
	17,50	9	17,47	1,36	99,8	9	18,27	1,08	104,4
	24,50	9	23,91	0,63	97,6	9	24,95	0,58	101,8
Clorpirifós	30,00	9	34,59	2,02	115,3	9	34,24	3,06	114,1
	45,00	9	48,31	2,57	107,4	9	49,24	1,40	109,4
	75,00	9	78,66	1,65	104,9	9	79,97	1,06	106,6
	105,00	9	106,41	1,31	101,4	9	107,95	1,19	102,8
Clorpirifós-oxon	30,00	9	34,37	2,08	114,6	9	34,27	1,37	114,2
	45,00	9	48,28	2,22	107,3	9	49,90	1,81	110,9
	75,00	9	76,82	1,11	102,4	9	80,20	1,84	106,9
	105,00	9	103,26	1,09	98,3	9	107,96	0,63	102,8
Diuron	90,00	9	105,88	0,93	117,7	9	103,92	1,4	115,5
	135,00	9	146,84	1,86	108,8	9	150,76	1,23	111,7
	225,00	9	228,68	1,31	101,6	9	236,79	1,10	105,2
	315,00	9	299,33	1,73	95,0	9	311,46	0,58	98,9
Glifosato	500,00	9	457,50	1,5	91,5	9	457,66	2,03	91,5
	750,00	9	668,66	3,07	89,2	9	686,07	2,07	91,5
	1250,00	9	1136,19	3,26	90,9	9	1191,40	2,98	95,3
	1750,00	9	1725,15	0,96	98,6	9	1828,00	1,18	104,5
AMPA	500,00	9	494,30	3,04	98,9	9	495,36	4,16	99,1
	750,00	9	778,89	2,18	103,9	9	815,03	2,90	108,7
	1250,00	9	1358,89	2,37	108,7	9	1410,99	2,36	112,9
	1750,00	9	1765,27	1,60	100,9	9	1897,16	1,43	108,4
Mancozebe	180,00	9	192,72	1,84	107,1	9	190,99	2,78	106,1
	270,00	9	271,70	2,06	100,6	9	284,14	2,36	105,2
	450,00	9	450,23	1,58	100,1	9	472,00	0,95	104,9
	630,00	9	613,42	2,19	97,4	9	650,72	0,83	103,3
Metamidofós	4,80	9	4,90	1,12	102,0	9	5,07	0,39	105,7
	12,00	9	13,42	1,02	111,8	9	13,39	1,27	111,6
	18,00	9	18,65	1,57	103,6	9	19,46	1,28	108,1
	30,00	9	29,73	1,27	99,1	9	31,02	0,96	103,4
Molinato	6,00	9	6,42	1,08	107,0	9	6,47	1,15	107,9
	9,00	9	9,13	1,69	101,4	9	9,54	1,24	106,0
	15,00	9	14,95	1,14	99,7	9	15,63	1,10	104,2
	21,00	9	20,44	1,49	97,3	9	21,59	0,31	102,8
Parationa Metilica	9,00	9	9,73	2,04	108,2	9	9,61	2,16	106,8
	13,50	9	13,90	2,74	103,0	9	14,18	1,89	105,0

	22,50	9	22,94	1,76	102,0	9	23,11	2,11	102,7
	31,50	9	31,21	1,75	99,1	9	32,33	1,43	102,6
Profenofós	60,00	9	69,57	2,2	116,0	9	69,84	1,83	116,4
	90,00	9	97,57	2,68	108,4	9	103,07	1,78	114,5
	150,00	9	155,27	2,44	103,5	9	163,54	1,62	109,0
	210,00	9	206,82	1,23	98,5	9	218,96	1,45	104,3
Simazina	2,00	9	2,18	0,95	109,2	9	2,16	1,33	108,0
	3,00	9	3,09	1,41	102,9	9	3,20	1,06	106,5
	5,00	9	5,04	1,44	100,8	9	5,20	1,32	104,1
	7,00	9	6,91	1,08	98,7	9	7,16	0,51	102,3
Tebuconazol	180,00	9	210,48	0,58	116,9	9	208,30	1,73	115,7
	270,00	9	295,17	2,04	109,3	9	304,72	1,26	112,9
	450,00	9	461,79	1,22	102,6	9	477,21	1,03	106,0
	630,00	9	603,24	1,90	95,8	9	628,12	0,50	99,7
Metolacolor	10,00	9	11,50	1,18	115,0	9	11,45	1,01	114,5
	15,00	9	16,07	1,57	107,2	9	16,51	1,18	110,1
	25,00	9	25,36	1,43	101,5	9	26,12	1,27	104,5
	35,00	9	33,69	0,58	96,3	9	34,91	0,29	99,8
Pendimetalina	20,00	9	23,19	2,28	116,0	9	23,33	1,88	116,6
	30,00	9	23,13	2,24	107,1	9	33,47	1,71	111,6
	50,00	9	51,30	1,65	102,6	9	53,66	1,46	107,3
	70,00	9	69,55	1,26	99,4	9	72,13	1,54	103,0
Terbufós	1,20	7	1,27	9,62	105,7	7	1,30	6,28	108,3
	1,80	7	1,87	10,17	103,9	7	1,94	11,38	107,5
	3,00	8	2,81	8,63	93,6	8	3,23	10,51	107,7
	4,20	7	3,55	4,71	84,6	8	4,20	13,64	100,1
2,4,6 Triclorofenol	200,00	9	226,74	1,49	113,4	9	230,07	1,26	115,0
	300,00	9	332,52	1,34	110,8	9	336,57	2,15	112,2
	500,00	9	529,40	2,46	105,9	9	538,55	1,29	107,7
	700,00	9	706,88	1,27	101,0	9	715,54	0,90	102,2

5.3. Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação de Acrilamida, Mancozebe, Metamidofós, Molinate, Carbendazim, Simazina, Aldicarbe Sulfoxido, Aldicarbe, Atrazina, Carbofurano, Aldicarbe Sulfona, Diuron, Metil Paration, Alaclor, Pendimetalina, Metolacolor, Terbufós, Benomil, Tebuconazol, Clorpirifós Oxon, Clorpirifós, Profenofós, AMPA, Glifosato, 2,4,6-Triclorofenol, 2,4D, 2,4,5T e Pentaclorofenol em 2 amostras de água provenientes de uma fonte de distribuição e um poço artesiano, destinadas ao consumo humano.

Os analitos de interesse não foram detectados nas amostras de água para consumo humano analisadas. Sendo assim, no propósito de avaliar a aplicabilidade

do método analítico, ambas as amostras de água para consumo humano foram enriquecidas com os padrões analíticos dos 28 praguicidas investigados no nível da concentração do VMP pela Portaria 2914/11 e no nível de 2.5 vezes o VMP. Os resultados das concentrações dos pesticidas em estudo encontrados nas amostras junto com seus controles estão demonstrados na Tabela 7.

A Figura 19 e a Figura 20 mostram os cromatogramas de MRM obtidos para cada substância de interesse, por meio do método analítico proposto, baseado em UPLC-MS/MS; observa-se a ausência de picos cromatográficos acima do LQ do método em duas amostras analisadas.

	Amostras Fontanário				Amostra Poço Fazenda Santa Margarida			
Espécie	Identificação da amostra	n	$\mu\text{g L}^{-1}$	% Recuperação	Identificação da amostra	n	$\mu\text{g L}^{-1}$	% Recuperação
Acrilamida	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (0,50 $\mu\text{g/L}$)	3	0,49	97,6	Água Poço + Fortificação no VMP (0,50 $\mu\text{g/L}$)	3	0,52	103,6
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (1,25 $\mu\text{g/L}$)	3	1,19	95,5	Água Poço + Fortificação no CQM (1,25 $\mu\text{g/L}$)	3	1,22	97,7
Pentacloro fenol	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (9,00 $\mu\text{g/L}$)	3	9,3	103,3	Água Poço + Fortificação no VMP (9,00 $\mu\text{g/L}$)	3	9,88	109,8
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (22,50 $\mu\text{g/L}$)	3	22,7	100,9	Água Poço + Fortificação no CQM (22,50 $\mu\text{g/L}$)	3	23,65	105,1
2,4 D	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (30,00 $\mu\text{g/L}$)	3	32,76	109,2	Água Poço + Fortificação no VMP (30,00 $\mu\text{g/L}$)	3	33,06	110,2
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (75,00 $\mu\text{g/L}$)	3	79,14	105,5	Água Poço + Fortificação no CQM (75,00 $\mu\text{g/L}$)	3	78,23	104,3
2,4,5 T	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (30,00 $\mu\text{g/L}$)	3	32,71	109,0	Água Poço + Fortificação no VMP (30,00 $\mu\text{g/L}$)	3	34,56	115,2
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (75,00 $\mu\text{g/L}$)	3	79,71	106,3	Água Poço + Fortificação no CQM (75,00 $\mu\text{g/L}$)	3	80,08	106,8
Alaclor	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (20,00 $\mu\text{g/L}$)	3	21,75	108,7	Água Poço + Fortificação no VMP (20,00 $\mu\text{g/L}$)	3	22,93	114,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (50,00 $\mu\text{g/L}$)	3	49,4	98,8	Água Poço + Fortificação no CQM (50,00 $\mu\text{g/L}$)	3	51,91	103,8
Aldicarbe	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no	3	9,74	97,4	Água Poço + Fortificação no	3	10,54	105,4

	VMP (10,00 µg/L) Água Fontanário + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	23,57	94,3	VMP (10,00 µg/L) Água Poço + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	25,60	102,4
Aldicarbe sulfona	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	10,22	102,2	Água Poço + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	11,11	111,1
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	24,08	96,3	Água Poço + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	25,88	103,5
Aldicarbe sulfóxido	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	11,13	111,3	Água Poço + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	11,22	112,2
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	25,63	102,5	Água Poço + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	25,71	102,8
Atrazina	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (2,00 µg/L)	3	2,29	114,6	Água Poço + Fortificação no VMP (2,00 µg/L)	3	2,28	113,9
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (5,00 µg/L)	3	5,17	103,3	Água Poço + Fortificação no CQM (5,00 µg/L)	3	5,21	104,2
Carbendazim	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (120,00 µg/L)	3	129,07	107,6	Água Poço + Fortificação no VMP (120,00 µg/L)	3	137,96	115,0
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (300,00 µg/L)	3	290,79	96,9	Água Poço + Fortificação no CQM (300,00 µg/L)	3	309,45	103,1
benomil	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (120,00 µg/L)	3	103,38	86,2	Água Poço + Fortificação no VMP (120,00 µg/L)	3	104,50	87,1
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (300,00 µg/L)	3	251,2	83,7	Água Poço + Fortificação no CQM (300,00 µg/L)	3	256,83	85,6
Carbofuran	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (7,00 µg/L)	3	7,12	101,7	Água Poço + Fortificação no VMP (7,00 µg/L)	3	7,75	110,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (17,50 µg/L)	3	16,95	96,9	Água Poço + Fortificação no CQM (17,50 µg/L)	3	18,17	103,8
Clorpirifós	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-

	Água Fontanário + Fortificação no VMP (30,00 µg/L)	3	32,85	109,5	Água Poço + Fortificação no VMP (30,00 µg/L)	3	33,98	113,3
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (75,00 µg/L)	3	78,89	105,2	Água Poço + Fortificação no CQM (75,00 µg/L)	3	79,17	105,6
Clorpirifós-oxon	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (30,00 µg/L)	3	32,83	109,4	Água Poço + Fortificação no VMP (30,00 µg/L)	3	34,85	116,2
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (75,00 µg/L)	3	79,54	106,1	Água Poço + Fortificação no CQM (75,00 µg/L)	3	79,19	105,6
Diuron	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (90,00 µg/L)	3	104,59	116,2	Água Poço + Fortificação no VMP (90,00 µg/L)	3	104,13	115,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (225,00 µg/L)	3	237,26	105,5	Água Poço + Fortificação no CQM (225,00 µg/L)	3	235,46	104,7
Glifosato	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (500,00 µg/L)	3	464,67	92,9	Água Poço + Fortificação no VMP (500,00 µg/L)	3	444,16	88,8
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (1250,00 µg/L)	3	1196,02	95,7	Água Poço + Fortificação no CQM (1250,00 µg/L)	3	1194,13	95,5
AMPA	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (500,00 µg/L)	3	499,17	99,8	Água Poço + Fortificação no VMP (500,00 µg/L)	3	503,73	100,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (1250,00 µg/L)	3	1336,79	106,9	Água Poço + Fortificação no CQM (1250,00 µg/L)	3	1405,34	112,4
Mancozeb	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (180,00 µg/L)	3	187,75	104,3	Água Poço + Fortificação no VMP (180,00 µg/L)	3	193,12	107,3
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (450,00 µg/L)	3	458,55	101,9	Água Poço + Fortificação no CQM (450,00 µg/L)	3	463,84	103,1
Metamidofós	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (12,00 µg/L)	3	12,41	103,4	Água Poço + Fortificação no VMP (12,00 µg/L)	3	13,49	112,4
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (30,00 µg/L)	3	29,47	98,2	Água Poço + Fortificação no CQM (30,00 µg/L)	3	30,91	103,0

Molinato	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (6,00 µg/L)	3	6,02	100,3	Água Poço + Fortificação no VMP (6,00 µg/L)	3	6,49	108,2
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (15,00 µg/L)	3	14,27	95,2	Água Poço + Fortificação no CQM (15,00 µg/L)	3	15,53	103,5
Parationa Metílica	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (9,00 µg/L)	3	9	99,9	Água Poço + Fortificação no VMP (9,00 µg/L)	3	9,67	107,5
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (22,50 µg/L)	3	21,65	96,2	Água Poço + Fortificação no CQM (22,50 µg/L)	3	23,18	103,0
Profenofós	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (60,00 µg/L)	3	65,66	109,4	Água Poço + Fortificação no VMP (60,00 µg/L)	3	70,72	117,9
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (150,00 µg/L)	3	163,95	109,3	Água Poço + Fortificação no CQM (150,00 µg/L)	3	163,58	109,1
Simazina	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (2,00 µg/L)	3	2,18	109,1	Água Poço + Fortificação no VMP (2,00 µg/L)	3	2,17	108,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (5,00 µg/L)	3	5,21	104,2	Água Poço + Fortificação no CQM (5,00 µg/L)	3	5,18	104,2
Tebuconazol	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	103,7
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (180,00 µg/L)	3	198,77	110,4	Água Poço + Fortificação no VMP (180,00 µg/L)	3	213,63	118,7
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (450,00 µg/L)	3	474,11	105,4	Água Poço + Fortificação no CQM (450,00 µg/L)	3	472,84	105,1
Metolacloro	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	10,8	108,0	Água Poço + Fortificação no VMP (10,00 µg/L)	3	11,51	115,1
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	24,65	98,6	Água Poço + Fortificação no CQM (25,00 µg/L)	3	25,99	104,0
Pendimetalina	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (20,00 µg/L)	3	22,99	114,9	Água Poço + Fortificação no VMP (20,00 µg/L)	3	23,13	115,6
	Água Fontanário + Fortificação no	3	52,84	105,7	Água Poço + Fortificação no	3	53,12	106,2

	CQM (50,00 µg/L)				CQM (50,00 µg/L)			
Terbufós	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (1,20 µg/L)	3	1,29	107,8	Água Poço + Fortificação no VMP (1,20 µg/L)	3	1,20	99,9
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (3,00 µg/L)	3	3,14	104,6	Água Poço + Fortificação no CQM (3,00 µg/L)	3	3,44	114,8
2,4,6 Triclorofen ol	Água Fontanário	2	< LOQ	-	Água Poço	2	< LOQ	-
	Água Fontanário + Fortificação no VMP (200 µg/L)	3	219,86	109,9	Água Poço + Fortificação no VMP (200 µg/L)	3	232,69	116,3
	Água Fontanário + Fortificação no CQM (500 µg/L)	3	541,55	108,3	Água Poço + Fortificação no CQM (500 µg/L)	3	537,70	107,5

Figura 19. Cromatogramas de MRM para os 28 praguicidas investigados e obtidos a partir da análise da amostra de água para consumo humano coletada no Fontanário, Paulínia-SP, sobrepostos com os cromatogramas do CQM.

Figura 20. Cromatogramas de MRM para os 28 praguicidas investigados e obtidos a partir da análise da amostra de água para consumo humano coletada no Poço da Fazenda Santa Margarida, Paulínia-SP, sobrepostos com os cromatogramas do CQM.

6. CONCLUSÃO

O método analítico desenvolvido neste trabalho apresenta como vantagens, em relação aos métodos tradicionais, ter um procedimento simples e rápido, eliminando etapas de preparo de amostras baseadas na extração e concentração de analitos. Isso se deve à alta sensibilidade da técnica UPLC-MS/MS e permite a quantificação de várias substâncias simultaneamente, em tempo reduzido de análise. Como consequência, em relação aos métodos convencionais, o método proposto apresenta menor probabilidade de ocorrência erros experimentais durante o tratamento da amostra e menor custo operacional, devido ao reduzido consumo de solventes orgânicos no preparo da amostra e análise cromatográfica. Ademais, o menor consumo de reagentes e a menor geração de resíduos atende aos princípios da química verde.

O método proposto aplicado em amostras de água se mostrou eficiente para a análise de águas, apresentando resultados de recuperação satisfatórios, entre 83 e 118%, para todas as espécies, com valores de RSD < 15%. Dessa maneira, a exatidão e a precisão do método proposto estão de acordo com os valores sugeridos na literatura para a análise de resíduos de pesticidas em matrizes aquosas por métodos cromatográficos.

A aplicação do método para a determinação das espécies Acrilamida, Mancozebe, Metamidofós, Molinate, Carbendazim, Simazina, Aldicarbe Sulfoxido, Aldicarbe, Atrazina, Carbofurano, Aldicarbe Sulfona, Diuron, Metil Paration, Alaclor, Pendimetalina, Metolaclor, Terbufos, Benomil, Tebuconazol, Clorpirifós Oxon, Clorpirifós, Profenofós, AMPA, Glifosato, 2,4,6-Triclorofenol, 2,4D, 2,4,5T e Pentaclorofenol em amostras de água destinadas ao consumo humano, apresentou resultados satisfatórios.

Os baixos LQ alcançados atenderam ao objetivo de monitorar todos os compostos estudados nos VMP exigidos na portaria 2914/11 sem a necessidade de pré-concentração ou outro tipo de tratamento. Portanto, o método tem potencial aplicação em agências de controle de qualidade de águas de abastecimento para que essas garantam fornecimento de água com controle rigoroso de qualidade e

concentrações residuais de agrotóxicos que auxilie e atendam à legislação vigente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ANNESLEY, T. M. Ion Suppression in Mass Spectrometry. **Clin Chem**, v. 49, n. 7. p.1041-1044, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e Controle da qualidade da água para consumo humano/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 212 p.
- BRASIL (b). Ministério da saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Portaria 2914, Diário Oficial da União, 2011.
- CROTTI, A. E. M, VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C. E LOPES, N. P. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**, v. 29, p. 287 – 292, 2006.
- DALY, N. R. Scintillation Type Mass Spectrometer Ion Detector. **The review of scientific instruments**, v. 1, n. 3, 1960.
- DEMOLINER, A. Otimização e validação de metodologia analítica empregando spe e lc-esims/ms para determinação de multiclassas de agrotóxicos e metabólitos em água de superfície e de abastecimento público. Química, Universidade Federal do Rio Grande (FURG, RS). Mestre: p. 111, 2008.
- DONATO, F. F., M. L. B. C. MARTINS, J. S. MUNARETTO, OSMAR D. PRESTES, M. B. ADAIME E R. ZANELLA. 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, p. 2077-2087, 2015.
- DOUGLAS, D. J. Applications of Collision Dynamics in Quadrupole Mass Spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 9, n. 2, p. 101-113, 1998.
- EUROPA. Jornal Oficial da União Europeia DIRECTIVA 98/83/CE DO CONSELHO de 3 de Novembro de 1998 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A31998L0083>. Acessado em 10 de setembro de 2017.
- FACINCANI, V. R. Portaria de Potabilidade de Água – Evolução e desafios contínuos. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental - ABES. <http://www.abes-sp.org.br/arquivos/vastiribeiro.pdf>, ABES, 2017. Acessado em 10 de setembro de 2017.

- FARRE, M. L., S. P. PEREZ E L. KANTIANI. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991-1007, 2008.
- FATTA, D., A. NIKOLAOU, A. A. ACHILLEOS e S. MERIC. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 6, p. 515-533, 2007.
- FREITAS, M. B. E C. M. D. FREITAS. A vigilância da qualidade da água para consumo humano: desafios e perspectivas para o Sistema Único de Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 993-1004, 2005.
- HARRIS, D. C. Análise química quantitativa. **Editora LTC**. 5a Edição, 862p, 2001.
- HIGNITE., C. e D. L. AZARNOFF. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. **Effluent. Life Sciences**, v. 20, p. 337-342, 1977.
- HOFFMANN, E. D. E V. STROOBANT (A). Mass Spectrometry Principles and Applications, 3 ed. Wiley, 502p, Inglaterra, 2007.
- HOFFMANN, E. D. E V. STROOBANT (B). Mass Spectrometry Principles and Applications, 3 ed. Wiley, 52p, Inglaterra, 2007.
- HOFFMANN, E. D. E V. STROOBANT (C). Mass Spectrometry Principles and Applications, 3 ed. Wiley, 90p, Inglaterra, 2007.
- HOLLER, F. J., R. S. CROUCH; A. D. SKOOG. Princípios de Análise Instrumental. 6 ed. Bookman, Porto Alegre, 2009.
- INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos. Documento de caráter orientativo. DOQ-CGCRE-008 Revisão 03 – FEV/2010. http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf. Acessado em 10 de setembro de 2017.
- KOSJEK, T., H. E., M.PETROVIĆ. E D.BARCELÓ. Mass spectrometry for identifying pharmaceutical biotransformation products in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 11, p. 1076-1085, 2007.
- LOPES, M. N. T., P. T. NETTO, C. LOURENCETTI, M. R. R. D. MARCHI e M. L. RIBEIRO. **Pesticidas: Revista ecotoxicologia e meio ambiente**, v. 21, p. 102-116, 2011.

- MALDANER, L. E I. C. S. F. JARDIM. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, v. 32, p. 214-222, 2009.
- MESSINA, C. J., GRUMBACH, E. S., DIEHL, D. M. A systematic approach towards UHPLC methods development. Waters Corporation, application note, 2014. Disponível em <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720002338en.pdf>. Acessado em 10 de Setembro de 2017.
- MORENO, J. Avaliação e gestão de riscos no controle da qualidade da água em redes de distribuição: estudo de caso. 2009. 579 f. Tese (Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- RIBEIRO, M. C. M. Nova portaria de potabilidade de água: potabilidade de água: busca de consenso para viabilizar a melhoria da qualidade de água potável distribuída no Brasil. **Revista DAE**, n. 189, maio-Agosto, p. 8-14, 2012. Disponível em: <http://revistadae.com.br/downloads/edicoes/Revista-DAE-189.pdf> . Acessado em 10 de Setembro de 2017.
- SANTE. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. 11945/2015, 2016. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945.pdf. Acessado em 10 de setembro de 2017.
- SANTOS, P. V. S.; SILVA, J. J. M. S. Normatização brasileira para a água de consumo humano. Goiás 2017. Pontifícia universidade católica de goiás programa de pós-graduação em biociências forenses. Disponível em <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/PATRÍCIA%20VIEIRA%20DA%20SILVA%20SANTOS%20E%20JANAÍNA%20JULIANA%20MARIA%20CARNEIRO%20SILVA.PDF>. Acessado em 10 de setembro de 2017.
- SCHEURER, M., F. SACHER E H. J. BRAUCH. Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. **J Environ Monit**, v. 11, n. 9, p. 1608-1613, 2009.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 836 p, 2002.
- SOUZA, S., C. PINTO E R. JUNQUEIRA. In-house method validation: application in arsenic analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 241-247, 2007.
- SOUZA, S. V. C. E R. G. JUNQUEIRA. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analítica Chimica Acta**, v. 552, p. 25-35, 2005.

- THOMPSON, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. **Analyst**, v.125, p. 385-386, 2000.
- TIEMANN, M. Safe Drinking Water Act (SDWA): A Summary of the Act and Its Major Requirements. Congressional Research Service, 2017. Disponível em <https://fas.org/sgp/crs/misc/RL31243.pdf>. Acessado em 10 de setembro de 2017.
- VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, p. 227–236, 2001.
- WATERS TECHNOLOGIES. http://www.waters.com/waters/en_US/Travelling-wave-%28T-Wave%E2%84%A2%29-/nav.htm?cid=134663694&locale=en_US. Acessado em 09 de dezembro de 2017.
- WESTPHALEN, A. P. C.; CORÇÃO, G.; BENETTI, A. D. Utilização de carvão ativado biológico para o tratamento de água para consumo humano. **Eng Sanit Ambient**. v.21 n.3. 2016.
- YERGEAU, E., S. SANSCHAGRIN, M. J. WAISER, J. R. LAWRENCE E C. W. GREER. Sub-inhibitory concentrations of different pharmaceutical products affect the meta-transcriptome of river biofilm communities cultivated in rotating annular reactors. **Environ Microbiol Rep**, v. 4, n. 3, p. 350-359, 2012.

SÚMULA CURRICULAR

1. DADOS PESSOAIS

Nome: Danilo Augusto Alves Pereira.

Local e data de nascimento: Campinas, 14 de outubro de 1986.

2. EDUCAÇÃO

Escola Técnica de Paulínia - ETEP, Paulínia, 2004
Diplomado em Técnico em Química.

Universidade de Jaguariuna - UniFAJ, Jaguariuna, 2011.
Bacharel em Engenharia Ambiental.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Malvern House, Londres-UK, Intercâmbio - 12/2009 a 07/2010
Advanced English

AFBI, Agri-Food and Biosciences Institute – Belfast, Irlanda do Norte, 07/2010
Estágio em análises de drogas veterinárias

- TQD/SQD Mass Spectrometry – Manchester – Waters – UK (10/2012);
- Compliance Specialist – Milford – Waters – USA (08/2012)
- Alliance Trainment – Milford, MA – Waters - USA (08/2012)
- Acquity UPLC, H-Class, I-Class Trainment – Milford, MA – Waters - USA (07/2012)
- LC-FSE Development – Milford – Waters – USA (05/2012)
- Curso teórico e pratico de BPL – Boas Práticas de Laboratório – TASQA (03/2009);
- Seminário – C&S Road Show – Agilent – SP (02/2009);
- Seminário – Rompendo a barreira do fentograma com o LC-MS/MS – Agilent - SP (12/2008);

- Oficina Sobre Validação de Métodos de Ensaio segundo a Decisão 2002/657/CE LANAGRO-MG (10/2008);
- Introdução á Espectrometria de Massas – Waters – SP (09/2008);
- Desenvolvimento de Metodologias e Manutenção Preventiva no UPLC-MS/MS – Waters - SP (09/2008);
- Garantia da Qualidade Laboratorial – ITAL - Campinas (08/2008);
- Manutenção em Cromatografos gasosos – Ágilent - SP (06/2008);
- Seminário – Técnicas analíticas para amostras sólidas e líquidas usando GC e GC-MS, UNICAMP - Campinas (04/2008);
- 2º Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas BrMASS – Royal Palm Plaza Campinas (12/2007);
- Gerenciamento de resíduos de laboratório – ITAL – Campinas (11/2007);
- Treinamento da norma BPL - NIT DICLA 028 – TASQA (10/2007);
- Implantação das Boas Práticas de Laboratório INMETRO-NIT-DICLA-028 TASQA (06/2007 e 10/2007);
- Treinamento da norma BPL - NIT DICLA 028 – TASQA (06/2007);
- Seminário All Molecule Tour, Environmental and Food Safety LC-MS-MS – Analítica – SP (03/2007);
- Cromatografia em fase líquida e a gás - TASQA (06/2005);
- Curso de primeiros socorros e segurança industrial - TASQA (05/2005);
- Treinamento da norma NBR ISO IEC 17025 - TASQA (03/2005);
- Curso de operação de balanças analíticas - KNWAAGEN – SP (03/2005);
- IV SIPAT Semana interna de prevenção de acidentes de trabalho - ETEP – Paulínia (10/2002).

3. OCUPAÇÃO

Estagiário/Técnico em Química, TASQA Serviços analíticos, Dez/2004 - Ago/2010.

TASQA - Paulínia-SP.

- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via LC-MS-MS;
- Estudos farmacocinéticos de drogas veterinárias em matrizes biológicas (plasma, urina, fígado, rim, gordura e músculo);
- Análises ambientais segundo Portaria 518 e Conama 357 em amostras de água e solo;
- Análise de resíduos de pesticidas em matrizes ambientais, alimentos in natura e processados, água, gases, cosméticos e farmacêuticos;
- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via HPLC-FLD/UV;
- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via GC-MS;
- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via Detectores Seletivos (GC-ECD/FPD/TCD);
- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via P&T/HS-GC-MS;
- Manutenções corretivas em equipamentos Waters e Agilent.

Analista de Desenvolvimento, Synchrophar Analítica, Ago/2010 - Abr/2011.

Synchrophar - Paulínia-SP

- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via UPLC-MS-MS e HPLC-MS-MS;
- Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para quantificação de fármacos em fluidos biológicos, formulações, matérias-primas;
- Estudos de avaliação farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência farmacêutica;
- Planejamento e condução de estudos analíticos;
- Supervisão de técnicos para realização de tarefas em geral;

- Aplicação de GLP (Boas Práticas de Laboratório), ISO 17025, BPB (Boas Práticas de Bioequivalência);

- Manutenções corretivas em equipamentos Waters.

Analista de Espectrometria, CAEP, Maio/2011 - Jan/2012.

CAEP- Centro Avançado de Estudos e Pesquisas - Campinas-SP

- Desenvolvimento e validação de métodos analíticos via UPLC-MS-MS e HPLC-MS-MS;

- Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para quantificação de fármacos em fluidos biológicos, formulações, matérias-primas;

- Estudos de avaliação farmacocinética, biodisponibilidade e bioequivalência farmacêutica;

- Planejamento e condução de estudos analíticos;

- Supervisão de técnicos para realização de tarefas em geral;

- Aplicação de GLP (Boas Práticas de Laboratório), BPB (Boas Práticas de Bioequivalência).

- Manutenções corretivas em equipamentos Waters.

Engenheiro de Serviço, Waters, Fev/2012 - Maio/2013.

Waters Technologies do Brasil, Barueri-SP

- Realização de manutenção preventiva e corretiva, instalação e treinamento em equipamentos cromatográficos como:

- Cromatógrafo Líquido (HPLC, UPLC);
- Espectrômetro de massas;

- Suporte pré e pós vendas a clientes com problemas metodológicos ou instrumentais.

Especialista de aplicações em Espectrometria de Massas, Waters, Maio/2013 - Atual.

Waters Technologies do Brasil, Barueri-SP

- Realização de treinamentos, Demonstrações e implementações de metodologias em espectrômetros de massas;

- Suporte pré e pós vendas a clientes com problemas metodológicos.

4. ATIVIDADES PROFISSIONAIS

Nota técnica: MÉTODO RÁPIDO E SENSÍVEL PARA DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTERÓIDES EM AMOSTRAS DE SORO HUMANO POR UPLC-MS/MS

Waters Brasil

Autores: Pereira Danilo; Reis Cintia

Nota técnica: FAST DETERMINATION OF GLYPHOSATE AND AMPA IN ORANGE, TOMATO AND SOYBEAN USING UPLC-MS/MS

Waters Brasil

Autores: Pereira Danilo; Reis Marcella; Talarico Mirela

Artigo: A Rapid Single-Extraction Method for the Simultaneous Determination of Aflatoxins B1, B2, G1, G2, Fumonisin B1, and Zearalenone in Corn Meal by Ultra Performance Liquid *Chromatography Tandem Mass Spectrometry*

Food Anal. Methods DOI 10.1007/s12161-016-0712-2, Received: 30 May 2016 /Accepted: 7 November 2016

Autores: Fabiano Narciso Paschoal; Daniela de Azevedo Silva; Rafael von Sperling de Souza; Marize Silva de Oliveira; Danilo Augusto Alves Pereira; Scheilla Vitorino Carvalho de Souza