



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Tecnologia e Ciências
Faculdade de Engenharia

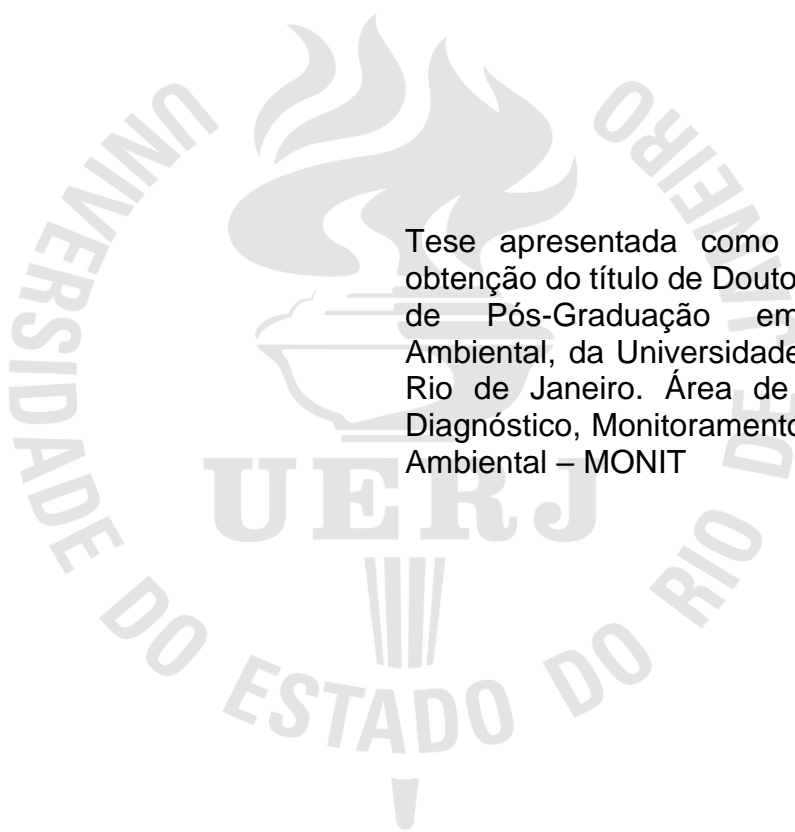
Felipe Cury Mazza

**Investigação da persistência do endosulfan e seus metabólitos
após desastre ambiental utilizando GCxGC/TOFMS**

Rio de Janeiro
2023

Felipe Cury Mazza

Investigação da persistência do endosulfan e seus metabólitos após desastre ambiental utilizando GCxGC/TOFMS



Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Diagnóstico, Monitoramento e Modelagem Ambiental – MONIT

Orientador: Prof.^a Dr.^a Carin von Mühlen

Coorientador: Prof. Dr. Nilo Antônio de Souza Sampaio

Rio de Janeiro

2023

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/B

T266 Mazza, Felipe Cury.
Investigação da persistência do endossulfan e seus metabólitos após desastre ambiental utilizando GCxGC/TOFMS / Felipe Cury Mazza. – 2023.
147 f.

Orientadora: Carin von Mühlen.
Coorientador: Nilo Antônio de Souza Sampaio.
Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia.

1. Engenharia ambiental - Teses. 2. Desastres ambientais - Teses. 3. Pesticidas - Teses. 4. Toxicologia ambiental - Teses. 5. Testes de toxicidade - Teses. I. von Mühlen, Carin. II. Sampaio, Nilo Antônio de Souza. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia. IV. Título.

CDU 632.154

Bibliotecária: Júlia Vieira – CRB7/6022

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Felipe Cury Mazza

Investigação da persistência do endossulfan e seus metabólitos após desastre ambiental utilizando GCxGC/TOFMS

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Diagnóstico, Monitoramento e Modelagem Ambiental – MONIT

Aprovado em:

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Carin von Mühlen (Orientadora)
Faculdade de Tecnologia de Resende – UERJ

Prof. Dr. Nilo Antônio de Souza Sampaio (Coorientador)
Faculdade de Tecnologia de Resende – UERJ

Prof.^a. Dr. Eduardo Monteiro Martins
Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ

Prof. Dr. Renato Zanella
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

Prof. Dr.^a Lisiane dos Santos Freitas
Universidade Federal do Sergipe – UFS

Prof.^a Dr.^a Erika Cortines
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ
Rio de Janeiro

2023

DEDICATÓRIA

A Deus, por permitir mais essa vitória. A minha noiva e pais que me ajudaram a continuar esta jornada, pela paciência e carinho nestes anos e por compartilhar os momentos de luta.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Prof.^a Doutora Carin von Mühlen, Prof. Doutor Nilo Antônio de Souza Sampaio por toda a ajuda e demonstração de força de vontade, pela excelente orientação, apontando os melhores caminhos, dando estímulos para o desenvolvimento deste trabalho e pela amizade demonstrada nesses anos.

A todos os professores, pelos ensinamentos, dentro e fora da sala de aula, durante a época do doutorado.

A minha Família e noiva Thaís Melo de Oliveira pela compreensão e ajuda durante os momentos mais difíceis.

A Bárbara Marini Fernandez Avila pela paciência e suporte.

Aos meus colegas de doutorado, pelo companheirismo e pelo inegável apoio quando necessário.

A UERJ, porque sem ela não poderia ter realizado este sonho de conquista.

A todos aqueles, que embora não citados nominalmente, contribuíram direta e indiretamente para a execução deste trabalho.

À CAPES e o Comitê da Bacia Hidrográfica do Médio Paraíba do Sul pelo apoio financeiro.

As pessoas que não fazem perguntas
permanecem ignorantes para o resto de suas vidas.

Neil DeGrasse Tyson

RESUMO

MAZZA, F. C. *Investigação da persistência do endosulfan e seus metabólitos após desastre ambiental utilizando GCxGC/TOFMS*. 2023. 147 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Em 2008 ocorreu um desastre ambiental com o vazamento de cerca de 8 mil litros do pesticida endosulfan, o que causou um impacto de larga extensão no Rio Paraíba do Sul, um dos rios mais importantes da região sudeste do Brasil. Entretanto, não foram encontrados estudos que avaliem a persistência do endosulfan e seus metabólitos nesse ambiente. Pesticidas organoclorados, incluindo o endosulfan constituem o grupo dos pesticidas mais tóxicos e tem uma relação direta ao envenenamento agudo, podendo permanecer no meio ambiente por muitos anos. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GCxGC/TOFMS) é uma ferramenta poderosa para analisar resíduos de pesticidas e seus metabólitos. O objetivo da pesquisa foi desenvolver uma metodologia para quantificação de endosulfan e seus metabólitos, dentre outros pesticidas organoclorados, com simultânea análise de compostos não alvo em água e sedimento e avaliar a persistência destes compostos na região impactadas pelo acidente ambiental de 2008. Os métodos de extração das amostras validados nesse estudo empregaram a Extração em Fase Sólida (SPE) para as amostras de água e QuEChERS para a extração de amostras de sedimento. O método foi desenvolvido com foco em cromatografia rápida para determinação dos analitos tetracloro-m-xileno, α -BHC, β -BHC, δ -BHC, γ -BHC, heptacloro, aldrin, epóxido de heptacloro, trans-clordano, α -endosulfan, clordano, dieldrin, 4,4 DDE, endrin, β -endosulfan, 4,4 DDD, endrin aldeído, 4,4 DDT, sulfato de endosulfan, endrin cetona, metoxicloro e decaclorobifenil, e o processo de validação seguiu os critérios da ANVISA. O tempo total de análise cromatográfica foi de 12 minutos. Os resultados de recuperação foram entre 70,0 a 117,4% para amostras de água e 71,3 a 118,5% para extração de sedimento, validando 15 e 19 analitos de 25 compostos, respectivamente em cada método. O método foi validado em todas as etapas com análise estatística no RStudio. Os limites de detecção foram entre 0,38 a 173,74 ng mL⁻¹ e de quantificação entre 1,18 e 526,49 ng mL⁻¹. Foram estudadas amostras de água e amostras de sedimento (n=16), coletadas em um período chuvoso e em período sem chuva. Os resultados quantitativos obtidos determinaram a presença do endosulfan lactona no Rio Pirapetinga, abaixo da ferrovia e nas margens da rodovia Presidente Dutra, nas concentrações de 142 e 255 ng mL⁻¹ enquanto que para β -BHC na foz do rio Pirapetinga a concentração foi de 40,7 ng mL⁻¹. A detecção do isômero do produto da degradação do endosulfan encontrado e ausência dos isômeros α e β do endosulfan indicam uma contaminação antiga. A análise de 184 compostos não alvo identificou tentativamente fármacos, produtos químicos diversos e outros pesticidas presentes em toda a área de estudo. Conclui-se que o método desenvolvido é eficaz para análise de compostos organoclorados e outros compostos tentativamente encontrados, alertando sobre a atual qualidade dos recursos hídricos.

Palavras-chave: ATPT. Pesticidas organoclorados. QuEChERS. Rio Pirapetinga. Rio Paraíba do Sul. SPE.

ABSTRACT

MAZZA, F. C. *Investigation of the persistence of endosulfan and its metabolites after environmental disaster using GCxGC/TOFMS*. 2023. 147 f. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

In 2008, an environmental disaster occurred with the leakage of around 8,000 liters of the pesticide endosulfan, which caused a wide-ranging impact on the Paraíba do Sul River, one of the most important rivers in the southeastern region of Brazil. However, no studies were found to assess the persistence of endosulfan and its metabolites in this environment. Organochlorine pesticides, including endosulfan, are the most toxic group of pesticides that are directly related to acute poisoning and can remain in the environment for many years. Comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (GCxGC/TOFMS) is a powerful tool for analyzing pesticide residues and their metabolites. The objective of the research was to develop a methodology for the quantification of endosulfan and its metabolites, among other organochlorine pesticides, with simultaneous analysis of non-target compounds in water and sediment and to evaluate the persistence of these compounds in the region impacted by the 2008 environmental accident. The sample extraction methods validated in this study employed Solid Phase Extraction (SPE) for water samples and QuEChERS for sediment sample extraction. The method was developed with a focus on fast chromatography for the determination of the analytes tetrachloro-m-xylene, α -BHC, β -BHC, δ -BHC, γ -BHC, heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, trans-chlordane, α -endosulfan, chlordane, dieldrin, 4,4 DDE, endrin, β -endosulfan, 4,4 DDD, endrin aldehyde, 4,4 DDT, endosulfan sulfate, endrin ketone, methoxychlor and decachlorobiphenyl, and the validation process followed ANVISA criteria. The total time of chromatographic analysis was 12 minutes. The recovery results were between 70.0 to 117.4% for water samples and 71.3 to 118.5% for sediment extraction, validating 15 and 19 analytes of 25 compounds, respectively in each method. The method was validated at all stages with statistical analysis in RStudio. The detection limits range from 0.38 to 173.74 ng mL⁻¹ and quantification ranges from 1.18 and 526.49 ng mL⁻¹. Water samples and sediment samples (n=16) were studied, collected in a rainy and a in a dry season. The quantitative results obtained determined the presence of endosulfan lactone in the Pirapetinga River, below the railway and on the banks of the Presidente Dutra highway, at concentrations of 142 and 255 ng mL⁻¹, respectively, while for β -BHC at the mouth of the Pirapetinga river the concentration was 40,7 ng mL⁻¹. The detection of the isomer product of endosulfan degradation and the absence of the α and β isomers of endosulfan indicate an old contamination. Analysis of 184 non-target compounds tentatively identified drugs, miscellaneous chemicals, and other pesticides present throughout the study area. It is concluded that the developed method is effective for the analysis of organochlorine compounds and other tentatively found compounds, warning about the current quality of water resources.

Keywords: ATPT. Organochlorine pesticides. QuEChERS. Pirapetinga River. Paraíba do Sul River. SPE.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul.....	23
Figura 2 -	Rio Pirapetinga, afluente do Rio Paraíba do Sul, onde houve o derramamento de endosulfan em 2008, Resende, RJ.....	24
Figura 3 -	Processo de formação dos isômeros do pesticida endosulfan.....	27
Figura 4 -	Imagens do desastre ambiental causada pelo endosulfan no Rio Paraíba do Sul, de Resende até sua foz.....	29
Figura 5 -	Técnicas analíticas empregadas para pesticidas em matrizes ambientais desde 1970, até 2019.....	30
Figura 6 -	Diagrama esquemático do cromatógrafo GCxGC/TOFMS.....	33
Figura 7 -	Esquema do funcionamento do GCxGC antes, durante e depois do modulador.....	34
Figura 8 -	Cromatograma de dezoito compostos de pesticidas em GCxGC/TOFMS.....	35
Figura 9 -	Etapas envolvidas na SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito.....	36
Figura 10 -	Diagrama simplificado do processo QuEChERS.....	37
Figura 11 -	Fluxograma de processo de desenvolvimento da pesquisa sobre desastre com endosulfan no Rio Paraíba do Sul.....	43
Figura 12 -	Local de estudo inserido na Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul com área de atuação do Comitê de Integração da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul.....	47
Figura 13 -	Pontos de coleta numerados de 1 a 8 no Rio Pirapetinga e Paraíba do Sul, RJ.....	49
Figura 14 -	Sistema de filtração montado a partir de kitassato, funil de separação e bomba à vácuo de teflon.	52
Figura 15 -	Esquema de montagem da extração de fase sólida.....	52
Figura 16 -	Graduação do kitassato.....	53
Figura 17 -	Amostras coletadas para secagem e posterior análise em GCxGC/TOFMS	54

Figura 18 - Sistema montado para coleta de amostra por extração de fase sólida	54
Figura 19 - Etapas de preparo de amostras pelo método QuEChERS modificado.....	57
Figura 20 - Padrão utilizado para fortificar amostras de água no funil de separação de 1 L.....	58
Figura 21 - Padrão mix 10 µg mL ⁻¹ rodado em 23/08/2019 com método 1.....	62
Figura 22 - Padrão mix 10 µg mL ⁻¹ rodado em 23/08/2019 com método 2 (cores intensificadas)	63
Figura 23 - Padrão mix 1 µg mL ⁻¹ rodado em 23/08/2019 com método 2.....	63
Figura 24 - Cromatograma do padrão mix EPA 8081 - 10 µg mL ⁻¹ no método 3.....	64
Figura 25 - Analitos de endosulfan adicionados no mix de padrões de organoclorados.....	65
Figura 26 - Modelo de liner utilizado.....	66
Figura 27 - Cromatograma com a coluna Rtx-17.....	67
Figura 28 - Cromatograma com coluna nova Rxi-17Sil-MS.....	67
Figura 29 - Ajuste feito na metodologia com a coluna Rxi-17SilMS.....	68
Figura 30 - Cromatograma do método 5.....	69
Figura 31 - Padrão mix com 25 analitos de 3 µg mL ⁻¹ no Método 6 (2019).....	70
Figura 32 - Curva analítica do endosulfan éter.	73
Figura 33 - Cromatogramas de extrato de amostra do ponto 5 fortificado com padrões analíticos (A), e mistura de padrão na mesma concentração (B).....	76
Figura 34 - Analito de endosulfan lactona encontrado na amostra de água do Pirapetinga do ponto 5.....	88
Figura 35 - Espectro de massas do composto Sarin.....	91
Figura 36 - Espectro de massa do Clorfenapir(a), MDPBP(b), Citrato de butila (c), Benzo(a)pireno(d) comparado com a biblioteca.....	92
Figura 37 - Diagrama de cores das amostras de sedimento do Rio Pirapetinga, RJ.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedades físico-químicas dos metabólitos do endosulfan.....	28
Tabela 2 -	Faixa de separação cromatográfica.....	41
Tabela 3 -	Condições cromatográficas realizadas na etapa de desenvolvimento da metodologia analítica.....	46
Tabela 4 -	Pontos de coleta de água e sedimento para análise, Resende.....	48
Tabela 5 -	Áreas dos picos dos padrões em diclorometano na concentração de 100 ng mL ⁻¹ em metodologias diferentes (métodos 3 e 6).....	70
Tabela 6 -	Resultados obtidos para a validação do método 6.....	74
Tabela 7 -	Valores calculados para determinar homoscedasticidade da curva analítica.....	75
Tabela 8 -	Resultados das recuperações preliminares das extrações realizadas em comparação ao padrão.....	77
Tabela 9 -	Valores referentes a área do pico das trélicas do frasco A, B e C de água fortificada na concentração 100 ng mL ⁻¹ (n=3).....	78
Tabela 10 -	Valores referentes a área do pico das trélicas de água fortificada na concentração 200 ng mL ⁻¹ (n=3).....	79
Tabela 11 -	Valores referentes a área do pico das trélicas de água fortificada na concentração 300 ng mL ⁻¹ (n=3).....	79
Tabela 12 -	Valores referentes a área do pico das trélicas das amostras A, B e C de sedimento na concentração 50 µg kg ⁻¹ com destaque para endosulfan.....	81
Tabela 13 -	Valores referentes a área do pico das trélicas de sedimento na concentração 100 µg kg ⁻¹ (n=3).....	81
Tabela 14 -	Valores referentes a área do pico das trélicas de sedimento na concentração 200 µg kg ⁻¹ (n=3).....	82
Tabela 15 -	Recuperações em sedimento e água (n=3).....	83
Tabela 16 -	Analitos de possíveis substâncias presentes na água do Rio Pirapetinga (período sem chuva)	85

Tabela 17 -	Analitos de outras possíveis substâncias presentes na água do Rio Pirapetinga (período chuvoso).....	88
Tabela 18 -	Diferentes substâncias no sedimento do Rio Pirapetinga.....	94
Tabela 19 -	Analitos de outras possíveis substâncias no sedimento do Rio Paraíba do Sul, em Resende, RJ.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Ação Civil Pública
AGEVAP	Associação Pró-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul
ANA	Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATPT	Tempo médio de pico teórico “Average Theoretical Peak Time”
BHC	Hexaclorobenzeno “ <i>Benzene Hexachloride</i> ”
C ₁₈	Octadecilsilano “ <i>Octadecyl silane</i> ”
CEIVAP	Comitê de Integração da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul
CMV	Concentração máxima validada
CV	Coeficiente de variação
DCM	Diclorometano
DDD	Diclorodifenildicloroetano “ <i>Dichlorodiphenyldichloroethane</i> ”
DDE	Diclorodifenildicloroetileno “ <i>Dichlorodiphenyldichloroethylene</i> ”
DDT	Diclorodifeniltricloroetano “ <i>Dichlorodiphenyltrichloroethane</i> ”
DMDCS	Dimetildiclorosilano
dSPE	Extração dispersiva em fase sólida “ <i>Dispersive solid phase extraction</i> ”
ECD	Detector de captura de elétrons “ <i>Electron capture detector</i> ”
FIPERJ	Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro
FPD	Detector fotométrico de chama “ <i>Flame Photometric Detector</i> ”
GC	Cromatografia gasosa “ <i>Gas chromatography</i> ”
GCxGC	Cromatografia gasosa bidimensional abrangente “ <i>Comprehensive two-dimensional gas chromatography</i> ”
GFEA-U	Agencia Ambiental Federal da Alemanha “ <i>German Federal Environmental Agency</i> ”
HCH	Hexaclorociclohexano “ <i>Hexachlorocyclohexane</i> ”
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência “ <i>High performance liquid chromatography</i> ”

HRMS	Espectrometria de massa de alta resolução “ <i>High resolution mass spectrometry</i> ”
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Hídricos.
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICH	Conferência Internacional sobre Harmonização “ <i>International Conference on Harmonization</i> ”
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	Organização Internacional de Padronização “ <i>International Organization for Standardization</i> ”
LC	Cromatografia Líquida “ <i>Liquid chromatography</i> ”
LD	Limite de detecção “ <i>Limit of detection</i> ”
LQ	Limite de quantificação “ <i>Limit of quantification</i> ”
LTPRI	Índice de retenção por temperatura linear programada “ <i>Linear-temperature-programmed retention Index</i> ”
EM	Efeito Matriz
MS	Espectrometria de massa “ <i>Mass spectrometry</i> ”
OCP	Pesticidas Organoclorados “ <i>Organochlorine Pesticides</i> ”
PFTBA	Perfluorotributilamina “ <i>Perfluorotributylamine</i> ”
POP	Poluentes orgânicos persistentes
PSA	Amina primária e secundária “ <i>Primary secondary amine</i> ”
QuEChERS	Extração rápida, fácil, barata, eficaz, robusta e segura “ <i>Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe</i> ”
R ²	Coeficiente de determinação
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RPS	Rio Paraíba do Sul
RSD	Desvio padrão residual “ <i>Residual standard deviation</i> ”
S/N	Sinal/Ruído “ <i>Signal/Noise</i> ”.
SEA	Secretaria Estadual do Ambiente
SPE	Extração de fase sólida “ <i>Solid phase extraction</i> ”
TOFMS	Espectrometria de massa por tempo de voo “ <i>Time-of-flight mass spectrometry</i> ”
t _R	Tempo de retenção

u.m.a.

Unidade de massa atômica

USEPA

Agencia de Proteção Ambiental dos Estados Unidos "*United States Environmental Protection Agency*".

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
	OBJETIVOS	20
	Objetivo Geral	20
	Objetivos específicos.....	20
	Motivação.....	20
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
1.1	Rio Paraíba do Sul	22
1.2	Rio Pirapetinga	24
1.3	Pesticidas organoclorados (OCPs)	25
1.4	Endosulfan	26
1.5	Acidente Ambiental no município de Resende	28
1.6	Os métodos cromatográficos empregados na análise de OCPs	30
1.7	Fast GC	32
1.8	GCxGC/TOFMS	32
1.9	Extração em fase sólida – SPE	35
1.10	Extração QuEChERS	37
1.11	Processo de validação do método	38
1.12	ATPT	40
1.13	Índice de Retenção	41
2	MATERIAIS E MÉTODO	43
2.1	Levantamento bibliográfico	43
2.2	Aquisição de recursos para a pesquisa	43
2.3	Reagentes e químicos	44
2.4	Preparo da vidraria	44
2.5	Instrumental utilizado	45
2.6	Desenvolvimento do método	46
2.7	Área de estudo	47
2.8	Metodologia de extração e purificação	51
2.8.1	<u>Método de extração SPE</u>	51
2.8.2	<u>Método QuEChERS</u>	55

2.9	Processo de validação	57
2.10	Análises estatísticas	59
3	RESULTADO	61
3.1	Desenvolvimento de método GCxGC/TOFMS	61
3.2	Validação do método	72
3.3	Validação dos métodos de extração	76
3.3.1	<u>Método de extração para as amostras de água superficial</u>	76
3.3.2	<u>Método de extração de amostras de sedimento</u>	80
3.4	Resultado das análises das amostras do Rio Pirapetinga e RPS	84
3.4.1	<u>Amostras de água</u>	84
3.4.2	<u>Amostra de sedimento</u>	93
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
	REFERENCIAS	100
	APÊNDICE A	117
	APÊNDICE B	119
	APÊNDICE C	127
	APÊNDICE D	130
	APÊNDICE E	131
	APÊNDICE F	139
	APÊNDICE G	146
	APÊNDICE H	147

INTRODUÇÃO

Em 2008, ocorreu um dos maiores desastres ambientais da história, na cidade de Resende, situada na Região Hidrográfica III do Estado do Rio de Janeiro, ou seja, a região do Médio Paraíba do Sul. O derramamento de mais de 8 mil litros do inseticida organoclorado endosulfan (SEA, 2009) resultou na morte de toneladas de peixes, pássaros, capivaras e demais animais nos Rios Pirapitinga e Paraíba do Sul (FIPERJ, 2008). O Rio Paraíba do Sul é uma das principais fontes de água tratada para a cidade do Rio de Janeiro e região metropolitana, abastecendo cerca de 16 milhões de pessoas. Mais de uma década após o acidente com endosulfan nos Rios Pirapitinga e Paraíba do Sul, não foram encontrados estudos que comprovem a persistência ou degradação desse composto no ambiente na região impactada. Os monitoramentos realizados pelo Instituto Estadual do Ambiente - INEA na região não apresentaram um estudo específico sobre o endosulfan, mas reportaram um impacto na ictiofauna em decorrência desse evento (SEA, 2009).

O endosulfan é um inseticida organoclorado semivolátil e todas as rotas de exposição (estômago, pulmões, pele) podem ser perigosas (YADAV *et al.*, 2013; MENEZES *et al.*, 2017). O pesticida demonstrou ser extremamente tóxico para peixes e outros organismos aquáticos, bem como para seres humanos e para a maioria das espécies animais (ULČNIK; CIGIĆ; POHLEVEN, 2013). Devido ao ingrediente ativo endosulfan apresentar características genotóxicas, neurotóxicas, imunotóxicas e provoca toxicidade endócrina ou hormonal e toxicidade reprodutiva e sobre o desenvolvimento embrionário, a comercialização e uso do composto já estão proibidos desde 31 de julho de 2013, de acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 28, de 9 de agosto de 2010 (BRASIL, 2010) e está em fase de eliminação em mais de 60 países segundo a Convenção de Estocolmo.

Segundo a Agência de Proteção Ambiental Americana – USEPA (2007) e a Agência Ambiental Federal da Alemanha - GFEA-U (2007), sua meia vida pode variar de 9 meses a 6 anos e é considerado pela Convenção de Estocolmo como um Poluente Orgânico Persistente (POP). Além disso, a USEPA também considera um potencial de bioacumulação e biomagnificação. Sendo assim, pesquisas devem ser desenvolvidas para acompanhar sítios contaminados a fim de se ter maior segurança nas decisões de saúde pública.

Para a determinação de endosulfan e seus metabólitos em concentrações traços em matrizes ambientais, as técnicas analíticas utilizadas por muitos anos foram a cromatografia gasosa com detectores seletivos, tais como Detector de Captura de Elétrons - ECD ou Detector Fotométrico de Chama - FPD (GREVE; WIT, 1971; NEBEKER *et al.*, 1983; STAN, 1989). A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - HPLC também tem sido empregada e, mais recentemente, o uso de detectores Espectrométricos de massa (MS) e técnicas hífenizadas, como GC/MS-MS, HPLC/MS-MS (RODRIGUES *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2018; MONDAL *et al.*, 2018; JABALI; MILLET; EI-HOZ, 2019) e também Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente com Espectrometria de Massa de Tempo de Voo – GC×GC/TOFMS (BUAH-KWOFIE; HUMPHRIES, 2019; WOODING ROHWER; NAUDÉ, 2017) melhoraram a confirmação de moléculas para determinações multirresiduais.

A Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente (GC×GC) é uma ferramenta poderosa que é capaz de determinar grande número de compostos em uma matriz complexa durante uma única análise (GÓMEZ *et al.*, 2011; WILDE *et al.*, 2020). Produzindo picos cromatográficos muito estreitos (geralmente de 50 a 600 ms na linha de base), o sistema de detecção aplicado torna-se rápido o suficiente para fornecer densidade de pontos de dados por pico cromatográfico (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003; POLLO *et al.*, 2020). O acoplamento com instrumentos TOFMS fornecem taxas de aquisição de sinal muito rápidas, aumentando consideravelmente o potencial de aplicação da técnica GC×GC (ZROSTLÍKOVÁ; HAJSLÓVÁ; CAJKA, 2003; YI *et al.*, 2015).

Uma aplicação recente de GC×GC rápida reduziu significativamente o tempo de análise enquanto alcançava a mesma capacidade de picos de uma separação GC×GC convencional sem o uso de líquidos criogênicos (SCHENA *et al.* 2020). A combinação de colunas cromatográficas de menores dimensões e rampas de alta temperatura pode reduzir significativamente o tempo de análise enquanto aumenta a relação sinal-ruído (GIOCASTRO *et al.*, 2018), além de reduzir custos com consumíveis.

Para a avaliação da velocidade da separação cromatográfica recentemente foi desenvolvida a métrica ATPT (do inglês *Average Theoretical Peak Time*). A aplicação das métricas ATPT foi demonstrada em cromatografia convencional, cromatografia rápida, bem como em várias condições multidimensionais. As métricas ATPT não foram apenas robustas para classificar a velocidade do método analítico com base na

capacidade e tempo de pico, mas também demonstraram ser uma métrica analítica para avaliar os resultados cromatográficos (VON MÜHLEN *et al.*,2022).

A criação de uma metodologia rápida e robusta, com evolução cromatográfica utilizando o GCxGC/TOFMS será importante para avaliar a persistência ambiental do endosulfan e seus metabólitos na região do desastre de 2008 no município de Resende, RJ.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Desenvolver uma metodologia analítica rápida para a quantificação de endosulfan, seus metabólitos e outros OCPs utilizando a cromatografia gasosa bidimensional abrangente com espectrometria de massa por tempo de voo nos compartimentos água e sedimento, bem como análise qualitativa de compostos não alvo, e aplicar essa metodologia na região mais impactada pelo derramamento de endosulfan de 2008 nos Rios Pirapetinga e Paraíba do Sul a fim de estudar a persistência desses compostos no ambiente.

Objetivos Específicos

- Criar e validar metodologias analíticas de fast-GC×GC/TOFMS para quantificação dos pesticidas organoclorados e analitos não alvo simultaneamente na matriz água utilizando SPE;
- Criar e validar metodologias analíticas de fast-GC×GC/TOFMS para quantificação dos pesticidas organoclorados e analitos não alvo simultaneamente na matriz sedimento utilizando QuEChERS;
- Aplicar a métrica de ATPT ao método desenvolvido;
- Estudar outros contaminantes e metabólitos identificados nas amostras coletadas através da biblioteca *NIST* do software *Leco® ChromaTOF-GC* e determinar os índices de retenção;
- Avaliar a persistência ambiental do endosulfan na região impactada.

Motivação

Considerando a toxicidade do endosulfan e seus metabólitos bem como o volume despejado no desastre ambiental de 2008 em Resende, um estudo ambiental da persistência desses compostos no ambiente é uma questão de saúde pública para 16 milhões de habitantes e segurança ambiental. Essa questão foi levantada pelo Comitê da Bacia Hidrográfica do Médio Paraíba do Sul em uma reunião Plenária Ordinária. O Rio Paraíba do Sul é de suma importância para o Estado do Rio de

Janeiro, e a falta de informação a respeito da qualidade da fonte de abastecimento do estado representa um risco aos usuários, ao meio ambiente e a economia. Organoclorados são compostos altamente tóxicos e persistentes no meio ambiente sendo alvos de discussões e banimentos na Convenção de Estocolmo. Além de sua toxicidade aguda e crônica, os sistemas de tratamento convencional de água não removem esses compostos totalmente. A região impactada no Rio Pirapetinga também é utilizada como balneário pela população local gerando preocupação com as exposições. Apesar de existirem métodos cromatográficos para análise de OCPs, incluindo endosulfan (Alfa, Beta e Sulfato), métodos que utilizam a GCxGC/TOFMS ainda estão em ascensão. GCxGC/TOFMS é uma poderosa ferramenta analítica que, permite obter resultados analíticos quantitativos e qualitativos relativos não apenas aos compostos alvo selecionados, mas a outros poluentes que poderiam estar presentes no local de estudo. É importante destacar que outros analitos de endosulfan pouco difundidos, transformados no meio ambiente como o endosulfan lactona, éter e álcool podem ser investigados com esta ferramenta permitindo a geração de informação de base científica pela universidade para fundamentar a gestão das águas de uma bacia hidrográfica e se tornar uma forma de retorno do conhecimento científico para a sociedade. GCxGC/TOFMS também permite aprimorar o método analítico de forma a se desenvolver as análises de forma mais rápida, gerando economia de tempo e recursos.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Rio Paraíba do Sul

O Rio Paraíba do Sul (RPS) é um ecossistema de suma importância. Suas águas são utilizadas, tanto para consumo doméstico quanto industrial, bem como para produção de energia (cerca de 90%) no estado do Rio de Janeiro (DEMANBORO, 2015). Este é o principal manancial para abastecimento de água para mais de 15 milhões de pessoas. Rico em diversidade de plantas e animais, as águas do Rio Paraíba do Sul são consideradas uma das mais importantes do país (CEIVAP, 2021). O fornecimento é através da transposição do Rio Paraíba do Sul, na elevatória de Santa Cecília em Barra do Piraí para uma série de reservatórios que direcionam a água para o rio Guandu (TARGA E BATISTA, 2015). Nasce na Serra da Bocaina, no município de Areias, estado de São Paulo e deságua no norte de São João da Barra, em Atafona, estado do Rio de Janeiro (Figura 1). Sua bacia tem formato alongado e comprimento cerca de três vezes maior do que sua largura máxima (MARENGO; ALVES, 2005). Sua Bacia hidrográfica ocupa aproximadamente 61.545,39 km², estendendo-se pelos estados de São Paulo (13.944,01 km²), Rio de Janeiro (26.878,14 km²) e Minas Gerais (20.723,25 km²), abrangendo 184 municípios - 88 em Minas Gerais, 57 no Estado do Rio e 39 no estado de São Paulo. A área da bacia corresponde a cerca de 0,7% da área do país e, aproximadamente, a 6% da região sudeste do Brasil. No Rio de Janeiro, a bacia abrange 63% da área total do estado; em São Paulo, 5% e em Minas Gerais, apenas 4% (CEIVAP, 2021).



Figura 1 - Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul
 Fonte: <https://www.ceivap.org.br/downloads/mapa2.jpg>

É um rio brasileiro altamente degradado, com 1.145 km de extensão, localizado em uma região estratégica entre os mais importantes centros urbanos e industriais do Brasil e usado como disposição de resíduos ao longo do seu curso. A qualidade da água diminui substancialmente à medida que o rio desce de suas cabeceiras em direção à foz do rio (CARVALHO; TORRES, 2002; KAHN *et al.*, 2017). Uma nota à imprensa do Comitê Baixo Paraíba do Sul e Itabapoana relata uma crise hídrica iniciada no ano de 2014 até os tempos atuais. Esta redução de vazão pré-estabelecida pela ANA para preservação dos reservatórios causou um desabastecimento em diversas cidades como Sapucaia, Barra Mansa, São Fidélis, São João da Barra, dentre outras, por principalmente, cotas reduzidas que impediam as captações. Outras consequências são o aumento da salinidade, maior deposição de sedimentos, redução do potencial agrícola, percolação de água do mar, aumento da concentração dos poluentes inorgânicos e orgânicos, entre outros (CBH-BPSI, 2019).

Sua vazão máxima no período de 2004 a 2007 foi de aproximadamente 800 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ no município de Barra do Piraí, com vazão média natural de 575 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e a vazão mínima jusante de 160 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$. Em 2019, sua vazão máxima foi alterada para 463 $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$.

¹, a média para $196 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ e a mínima $72 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, apresentando um aumento na concentração de poluentes lançados (ANA 2020).

1.2 Rio Pirapetinga

O Rio Pirapetinga nasce no Parque Nacional do Itatiaia, na latitude de $22^\circ 23' 20'' \text{S}$ e longitude de $44^\circ 33' 30'' \text{W}$ na Serrinha do Alambari (Figura 2). Tem como afluentes o córrego da Floresta, córrego Santo Antônio e outros pequenos contribuintes. Tem 37,5 Km de extensão e altitudes variando de 1.338 m a 414 m (RESENDE, PMGIRS., 2017; GOOGLE EARTH, 2020). Sua vazão Q_{95} segundo relatório de esgotamento sanitário municipal de Resende é de $1,31 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (CEIVAP, 2019a).



Figura 2 - Rio Pirapetinga, afluente do Rio Paraíba do Sul, onde houve o derramamento de endossulfan em 2008, Resende, RJ.

Fonte: GOOGLE, 2020, adaptado pelo autor.

No entorno do Rio Pirapetinga na parte mais alta, ou seja, na Serrinha do Alambari existem pousadas e chalés com baixa densidade e muita área verde. Ao longo do rio as áreas verdes diminuem com baixa densidade, dando lugar a fazendas e sítios. As águas são muito utilizadas para banhos e recreação. Segundo Atlas de despoluição de Bacias Hidrográficas (RESENDE, 2017), o rio é classificado como classe 2.

O rio é cortado pelas Rodovias Dr. Rúbens Tramuja Mader (RJ-163) que liga o município de Resende a Visconde de Mauá e a Rodovia Joaquim Mariano de Souza

(RJ-161) com sentido a Bocaina de Minas. Nos últimos quilômetros, próximo à Rodovia Presidente Dutra, o rio faz divisa com bairros como Fazenda da Barra, Fazenda da Barra 1, 2 e 3, Campo belo e indústrias como a Servatis e Tachi-s Brasil sendo mais vulnerável a desastres de ações antrópicas.

1.3 Pesticidas organoclorados (OCPs)

O uso de pesticidas tem aumentado significativamente no mundo ao longo dos anos (VARSAMIS *et al.*, 2008; LIORENT-MARTINEZ *et al.*, 2011; BERG e TAM, 2018). Embora o uso desses compostos traga benefícios para a agricultura, muitos deles atingem um destino distinto do que as espécies-alvo e podem contaminar o solo, a água e os alimentos. A utilização de pesticidas organoclorados e seus resíduos são um desafio para a Convenção de Estocolmo (DOLLIMORE; SCHIMPF, 2013; VIJGEN; ALIYEVA; WEBER, 2013; BERG e TAM, 2018). Determinados pesticidas são cancerígenos e outros podem causar disfunções nos sistemas nervoso e reprodutivo, mesmo em baixas concentrações, sendo extremamente prejudiciais à saúde humana (VARSAMIS *et al.*, 2008; SHARMA, D. *et al.*, 2010; ABOLHASANI *et al.*, 2019).

Os cinco principais grupos de pesticidas organoclorados são: DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano) e seus análogos, hexaclorociclohexano (HCH), ciclodienos e compostos semelhantes, toxafeno e produtos químicos relacionados. O HCH (BHC ou lindano), que consiste de 8 isômeros incluindo o gama BHC, e o DDT têm propriedades surpreendentemente diferentes de seus metabólitos. Por exemplo, o metabolismo lento e o bioacúmulo acentuado de DDT e seu metabólito DDE contrastam com o metabolismo rápido e o bioacúmulo insignificante do metoxicloro. Os ciclodienos são compostos relacionados que incluem aldrin, isodrin, dieldrin, endrin, telodrin, heptacloro, isobenzam, clordano e endosulfan. Este grupo contém os pesticidas organoclorados mais tóxicos, particularmente em relação ao envenenamento agudo (HOFFMAN *et al.*, 2003).

Os OCPs (principalmente inseticidas) são hidrocarbonetos clorados usados extensivamente das décadas de 1940 a 1980 na agricultura e controle de mosquitos (CHOI; LEE; JUNG, 2016). Muitos persistem por longos períodos de tempo no ambiente (até muitos anos). A meia-vida prevista de gama BHC na água é de 191 dias (KAFILZADEH, 2015) e a meia-vida média de gama BHC e alfa BHC variou de 3 a 4 anos (CORTES; HITES, 2000).

Devido à alta persistência e serem bioacumulativos, pode-se encontrá-los em ambientes costeiros (ARIENZO; MASUCCIO; FERRARA, 2013), frutos do mar (MOON *et al.*, 2009), mamíferos marinhos (ROBINSON *et al.*, 2015), pássaros (HONG *et al.*, 2014) e humanos (WITCZAR *et al.*, 2021). Além disso, exibem propriedades de transporte de longo alcance que os levam a longas distâncias por meio de ar ou água (CORTES; HITES, 2000). O BHC e endosulfan foram predominantemente transportados de terras agrícolas para o mar, o que acaba causando um sério risco à biota aquática (LEADPRATHOM *et al.*, 2009).

Witczar *et al.* (2021) concluíram ainda que muitas mulheres lactantes adquiriram maiores concentrações de OCP nos primeiros meses de lactação com o consumo de peixes e aves contaminados.

1.4 Endosulfan

O endosulfan foi identificado como causa do envenenamento ocupacional em países em desenvolvimento e desenvolvidos (MURRAY *et al.*, 2002; MAGNI *et al.*, 2017). Como resultado, a produção e o uso do endosulfan foram descontinuados em mais de 60 países, inclusive no Brasil. Apesar de seus efeitos tóxicos com risco de vida, o endosulfan continua sendo um dos pesticidas agrícolas mais utilizados, principalmente nos países em desenvolvimento, devido à sua alta eficácia e baixo custo (YADLA *et al.*, 2013; MENEZES *et al.*, 2017) como China, Índia, Irã, Paquistão, Bangladesh e outros (FANG *et al.*, 2018; PIRSAHEB *et al.*, 2019; SHARMA, N.; DEB; SAMTANI, 2019).

Muitos estudos demonstraram que o endosulfan pode provocar sintomas agudos e crônicos nos peixes, como aumento na mortalidade, falta de crescimento ou reprodução, genotoxicidade e mutagenicidade (BEYGER *et al.* 2012; DAR *et al.*, 2015). Utilizado em diversas culturas como chá, café e algodão anos atrás (SINGH, M.; SINGH, D., 2014), foi considerado um disruptor endócrino (MILESI *et al.*, 2017). Atribuído a afetar adversamente a saúde humana de várias maneiras impacta os hepatócitos primários humanos, induzindo convulsões, desenvolvimento do câncer, distúrbios do sistema reprodutivo, doenças gastrointestinais e distúrbios fisiológicos (NAWAZ *et al.*, 2014; SYED *et al.*, 2014).

O endosulfan é uma mistura de dois isômeros: alfa endosulfan e beta endosulfan (SCHMIDT *et al.*, 2001; SIN *et al.*, 2015). Outros isômeros são conhecidos

assim como o sulfato de endosulfan é a forma de óxido do endosulfan com toxicidade semelhante (HERNÁNDEZ *et al.*, 2002; AWASTHI *et al.* 2003; USEPA, 2007). A Figura 3 demonstra o processo de formação dos isômeros.

O principal metabólito é o sulfato de endosulfan. Outros metabólitos incluem endosulfan álcool, endosulfan éter, ácido hidroxí carboxílico de endosulfan, endosulfan hidroxí éter e endosulfan lactona. O sulfato de endosulfan é geralmente incluído no alfa e isômeros beta do endosulfan na medição de resíduos por ser considerado igualmente tóxico e de persistência aumentada em comparação com os pais isômeros (USEPA, 2007).

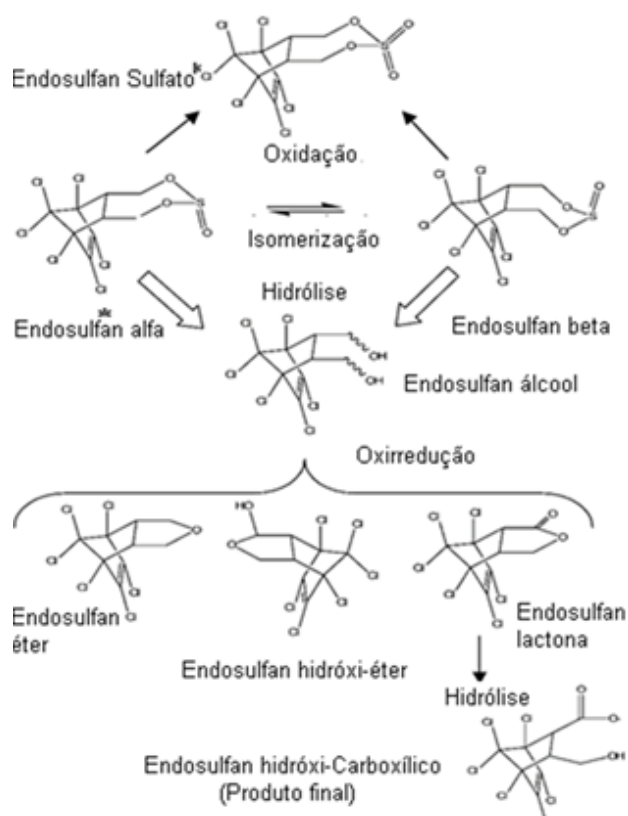


Figura 3 - Processo de formação dos isômeros do pesticida endosulfan.
Fonte: WALSE; SCOTT; FERRY, 2003, adaptado pelo autor.

Os isômeros alfa-endosulfan, beta-endosulfan e sulfato de endosulfan são compostos de média polaridade que possuem boa solubilidade em solventes orgânicos polares, mas são muito menos solúveis em solventes orgânicos não polares (SIN *et al.*, 2015). O endosulfan lactona e éter são mais solúveis em água do que todos os demais exceto álcool e hidroxí éter. Estes são polares, menos voláteis, e têm uma maior solubilidade em água e precisam de derivatização antes da análise por GC. As polaridades dos Isômeros podem ser vistas na Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas dos metabólitos do endosulfan

Metabólitos de endosulfan	Log K _{ow}	Meia vida Dias*	Solubilidade (água à 20 °C) mg L ⁻¹	Pressão de vapor Pa 25 °C
Alfa	4,74	54 a 187	0,51	1,9E ⁻⁰³
Beta	4,79	104 – 265	0,45	9,2E ⁻⁰⁵
Éter	4,15	-	-	-
Lactona	3,4	-	-	-
Sulfato	3,66	> 184	0,48	2,3E ⁻⁰⁵
Álcool	2,92	30	300	-

Fonte: PILLI *et al.*, 2013. ATSDR 2015*.

O estudo de Mazza *et al.* (2011) conclui através de modelagem matemática de fugacidade que há particionamento nos compartimentos ambientais ar, solo, sedimento e biota, mas entre os compartimentos, o endosulfan é muito suscetível de aderir nos últimos três. Supondo o derramamento de 8 mil litros, em média, a 20% de concentração, à temperatura de 25 °C, a biota concentraria 1.911 g kg⁻¹ sedimentos e partículas 0,5 g kg⁻¹ e solo 0,25 g kg⁻¹.

1.5 Acidente ambiental no município de Resende

A Servatis, localizada no município de Resende, as margens da Rodovia Presidente Dutra, está inserida nos ramos de especialidades químicas e agroquímicas, sínteses e formulações (SEA, 2009). A mesma foi responsável pelo vazamento de endosulfan que ocorreu no dia 18 de novembro de 2008, terça-feira, por volta das 2h e 30min da madrugada (IBAMA, 2009).

O vazamento do pesticida endosulfan ocorreu por causa da falha no descarregamento do produto na indústria química em virtude do vazamento do dique de contenção para o sistema pluvial, sendo lançado no Rio Pirapetinga, afluente do Paraíba do Sul. Foram declarados o vazamento de 8 mil litros do produto diluído com xileno a 20%, o que equivalente a 1.600 litros de endosulfan puro lançado no Rio Pirapetinga. Usado na produção de pesticidas e inseticidas, este organoclorado é altamente persistente e tóxico, principalmente para peixes. O produto derramado percorreu cerca de 2 km pelo Rio Pirapetinga e atingiu o Rio Paraíba do Sul, resultando em uma imensa mortandade de peixes (IBAMA, 2009).

A princípio, o dique deveria ter retido todo o material, mas uma válvula de purga de água de chuva estava mal fechada e permitiu que o produto chegasse ao Rio Pirapetinga e posteriormente ao Paraíba do Sul. Esse dique foi construído de acordo com uma especificação antiga, e por isso continha essa válvula (SEA, 2009).

O vazamento de endosulfan prejudicou quase dois mil pescadores que vivem exclusivamente da atividade pesqueira na região sul fluminense. A mortandade de peixes foi a maior dos últimos anos afetando vários municípios (Figura 4). Atingidos na época da piracema, várias espécies de peixes foram encontradas mortas além de animais terrestres como pacas e cavalos (FIPERJ, 2008; RESENDE, ACP., 2008). Está registrado como um dos maiores desastres ambientais no Rio Paraíba do Sul segundo relatório de diagnóstico da CEIVAP (2019b).



Figura 4 - Imagens do desastre ambiental causada pelo endosulfan no Rio Paraíba do Sul, de Resende até sua foz.

Fonte: FIPERJ, 2008.

O contaminante desceu rio abaixo sofrendo o processo de difusão nas águas do Rio Paraíba do Sul e atingindo a biota. O composto foi transportado de Resende até o mar, sendo que a região mais próxima da fonte permaneceu com concentrações

mais altas e causou muitas mortes de animais da região. A medida que o contaminante se afastava, foi atingindo pontos mais distantes com concentrações menores, porém ainda tóxicos. O contaminante percorreu mais de 470 km até chegar ao mar no trecho do estado do Rio de Janeiro que abastece mais de 16 milhões de pessoas (75% do estado) e afetou 57 municípios.

1.6 Os métodos cromatográficos empregados na análise de OCPs

Diversos métodos cromatográficos foram utilizados ao longo de décadas para analisar derivados de pesticidas organoclorados. Para OCP era muito comum a utilização da cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons. Na década de 90, a espectrometria de massa foi se tornando cada vez mais utilizada para este fim com GC e LC (Cromatografia Líquida).

A quantificação de pesticidas e seus principais metabólitos foi realizada em métodos analíticos multirresiduais, juntamente com outros pesticidas e as diversas técnicas analíticas historicamente empregadas na literatura (Figura 5).

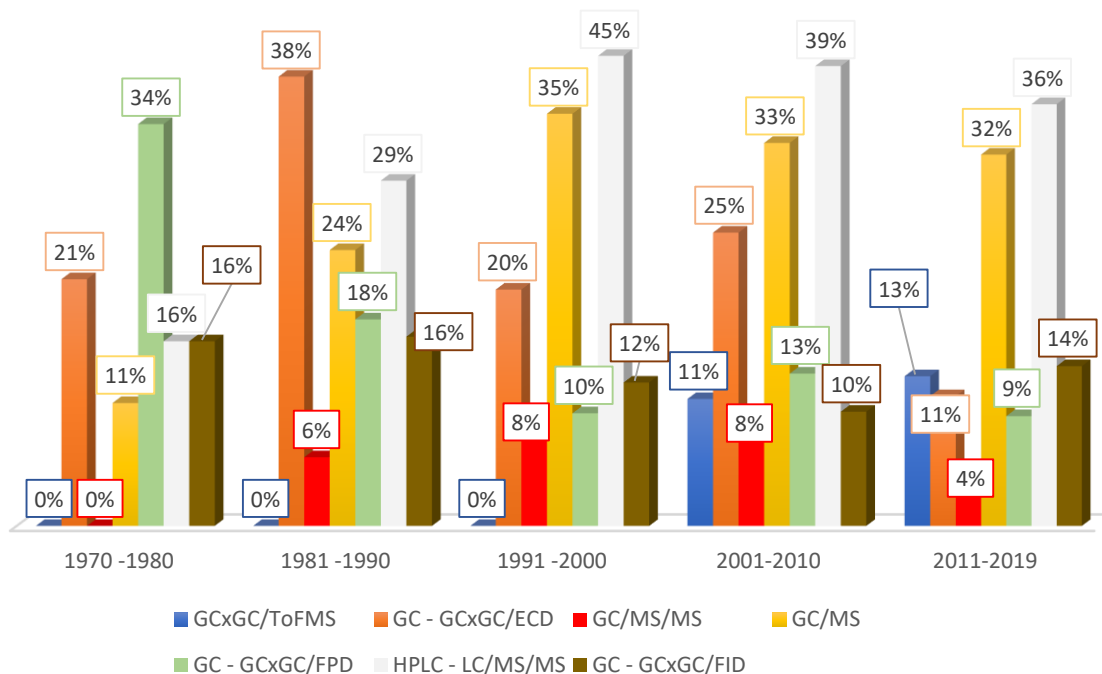


Figura 5 - Técnicas analíticas empregadas para pesticidas em matrizes ambientais desde 1970, até 2019.

Fonte: O autor, 2019.

Huyten e Rijnders (1964, p. 244) construíram um detector fotométrico de chama com um fotomultiplicador para a determinação de halogênios que tornou-se na época uma ferramenta importante nas mãos dos químicos orgânicos.

Posteriormente, Detectores por Captura de Elétrons (ECDs) foram utilizados com sucesso para a detecção de vários compostos, incluindo substâncias perigosas. Os princípios são baseados na ionização dos componentes da amostra e na medição do sinal usando as diferenças na mobilidade de portadores de carga elétrica (BUDZYNSKA *et al.*, 2019). É rotineiramente usado para analisar quantitativamente compostos contendo halogênios (CHEN; CHEN, 2018).

A Espectrometria de Massa (MS) é usada não apenas para quantificação, mas também para a identificação de pesticidas em amostras complexas (BONANSEA *et al.*, 2013). Para identificar compostos perigosos, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa de alta resolução (LC ou GC/HRMS) têm sido muito utilizada (SCHYMANSKI *et al.*, 2015; GAGO-FERRERO *et al.*, 2015, 2018). A Espectrometria de Massa em Tandem (MS-MS) também promove a análise de pesticidas em níveis extremamente baixos (níveis traço), mesmo na presença de interferência, reduzindo significativamente o ruído de fundo (LARA-GONZALO *et al.*, 2012). Porém, a medição é tradicionalmente complexa e mais cara, pois os produtos químicos são caros e podem ser uma causa do uso em declínio (CASADO; SANTILLO; JOHNSTON, 2018).

Com o desenvolvimento da técnica de detecção por Varredura Completa (FS), a Cromatografia Líquida com Espectrometria de Massa de Alta Resolução (LC-HRMS) foi cada vez mais usada na análise de resíduos de pesticidas devido ao seu alto rendimento e à capacidade de rastreamento não direcionado (GÓMEZ-RAMOS *et al.*, 2013; GOON *et al.*, 2018; SAITO-SHIDA *et al.*, 2018).

Por fim, nos últimos anos a Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente com Espectrometria de Massas por Tempo de Voo (GC×GC/TOFMS) foi amplamente utilizada para investigar a presença de um grande número de contaminantes em amostras devido a suas características complementares para determinar compostos não polares / voláteis apolares / não voláteis. A taxa de aquisição desta ferramenta e dados fornecidos pelo TOFMS permitem um aumento perceptível no número de compostos a serem investigados (ELBASHIR; ABOUL-ENEIN, 2017).

1.7 Fast GC

Amostras complexas são comumente analisadas sob condições convencionais de Cromatografia Gasosa Bidimensional (GC×GC) usando colunas mais longas (30m) e taxas de aquecimento até 10 °C por minuto. (WOODING; ROHWER; NAUDÉ, 2017; BUAH-KWOFIE E HUMPHRIES, 2017; 2019).

Devido ao aumento da exigência e demanda, é importante adotar técnicas Cromatográficas Rápidas (Fast GC) para aumentar a produtividade do laboratório e reduzir os custos de análise (SCHENA *et al.*, 2020).

A aplicação bem-sucedida de análises cromatográficas rápidas em amostras é facilitada por mudanças na geometria da coluna (comprimento de coluna menor, diâmetro interno de coluna menor, filme de fase estacionária mais fino) ou seus parâmetros operacionais (taxa de programa de temperatura mais rápida, análise isotérmica, gás de arraste ideal, operação de saída de vácuo) em conjunto analisadores MS de alta taxa (BRUNELLI *et al.*, 2006; CAJKA *et al.*, 2008).

Algumas limitações podem surgir com o uso de detectores com baixas taxas de aquisição que não permitem calcular com precisão as áreas de picos geradas (ADACHOUR *et al.* 2005). Analisadores MS rápidos (ou seja, analisadores de massa por tempo de voo e quadrupolos de alta velocidade), bem como o desenvolvimento de *software* são essenciais para essa aplicação (BRUNELLI *et al.*, 2006; CAJKA *et al.*, 2008).

Pesquisas como de Schena *et al.* (2020) e Farrapeira *et al.* (2022) obtiveram sucesso ao aplicar *fast* GC×GC para análises qualitativas em amostras muito complexas de bio-óleo em 19 minutos, apenas utilizando colunas diferentes. As colunas utilizadas na primeira dimensão foram de 10 m × 0,18 mm × 0,25 µm e 10 m × 0,18 mm × 0,20 µm (5% difenil/95% dimetilsiloxano), enquanto que na segunda dimensão foram 1,10 m × 0,18 mm × 0,18 µm e 1,0 m × 0,10 mm × 0,10 µm (50% fenil-metilpolisiloxano).

1.8 GC×GC/TOFMS

A cromatografia gasosa bidimensional abrangente é uma técnica analítica cuja importância tem crescido rapidamente devido ao seu poder de separação para amostras com elevada complexidade, compostos de difícil separação por técnicas

monodimensionais, ou para revelar um comportamento cromatográfico diferenciado que não pode ser demonstrado pela cromatografia convencional (VON MÜHLEN *et al.* 2006).

Um sistema GCxGC consiste em duas colunas de diferentes mecanismos de retenção, que são conectados em série (Figura 6). O uso das duas colunas ortogonais, primeira e segunda dimensão (colunas com polaridade diferente) proporciona uma separação melhorada e limita a eluição dos analitos (BUAH-KWOFIE; HUMPHRIES, 2019).

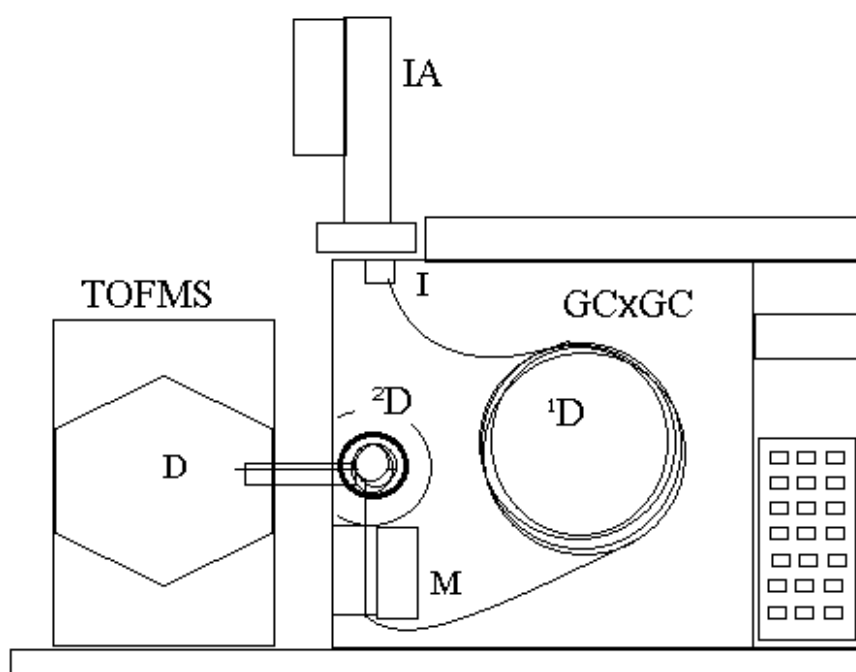


Figura 6 - Diagrama esquemático do cromatógrafo GCxGC/TOFMS; IA= Injetor automático, I = Injetor, M = modulador, D = detector, ¹D = coluna da primeira dimensão, ²D = coluna da segunda dimensão. Fonte: O autor, 2022.

Durante essa separação, pequenas frações adjacentes sucessivas do eluato da primeira coluna são retidas e focadas no início da segunda coluna por meio de um modulador criogênico, que funciona essencialmente como uma armadilha fria (Figura 7). Após o aprisionamento de cada fração, o modulador é desligado ou afastado para efetuar a liberação dos compostos retidos e sua injeção rápida na segunda coluna (DALLÜGE; BEENS; BRINKMAN, 2003).

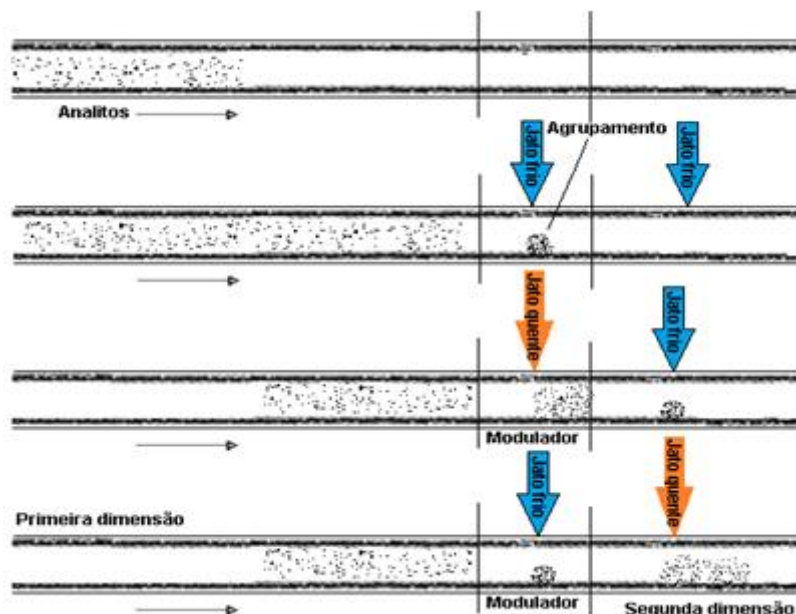


Figura 7 - Esquema do funcionamento do GCxGC antes, durante e depois do modulador.
Fonte: O autor, 2022.

A segunda coluna é muito mais curta e mais estreita que a primeira coluna, o que resulta em uma separação muito mais rápida. Com pouca variação de temperatura do forno durante a rápida separação na segunda coluna, normalmente de 0,1 a 0,5 °C, a separação de segunda dimensão é essencialmente isotérmica. Em um sistema verdadeiramente multidimensional, os mecanismos de separação na primeira e na segunda colunas são independentes entre si e a separação obtida na primeira coluna é mantida durante a modulação e a separação na segunda coluna. A combinação de uma coluna de polimetilsiloxano na primeira e uma coluna de polifenilmetilsiloxano na segunda dimensão fornece (quase) dois mecanismos de separação independentes: na primeira dimensão de acordo com a pressão de vapor dos analitos e na segunda dimensão de acordo com seus coeficientes de atividade (DALLÜGE *et al.* 2002).

Na determinação de resíduos de pesticidas, a GCxGC/TOFMS provou ser uma ferramenta poderosa para resolver problemas com a separação confiável em níveis de concentração muito baixos, aplicáveis à análise de alguns tipos de amostra. Hoh *et al.* (2012) descreveram um método analítico não-alvo usando a introdução direta de amostras acopladas ao GCxGC/TOFMS, que poderia caracterizar um amplo espectro de contaminantes não polares (por exemplo, PCBs, PBDEs e PBBs) na gordura do golfinho por exemplo. Buah-Kwofie e Humphries (2017; 2019) analisaram vários grupos de pesticidas em sedimento e peixes utilizando o GCxGC/TOFMS para

avaliar a existência destes compostos no *iSimangaliso Wetland Park World Heritage Site*, como mostra um dos cromatogramas (Figura 8).

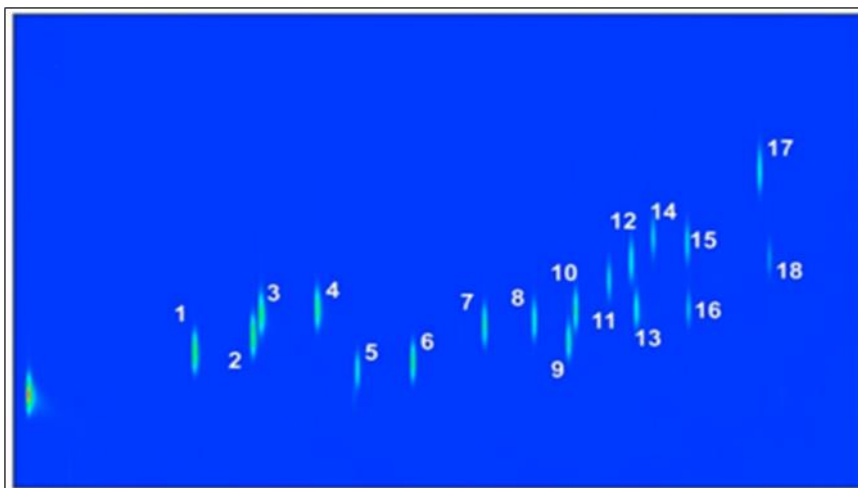


Figura 8 - Cromatograma de dezoito compostos de pesticidas em GCxGC/TOFMS

Legenda: *1. alfa-BHC, 2. beta-BHC, 3. delta-BHC, 4. gama-BHC, 5. heptacloro, 6. aldrin, 7. epóxido de heptacloro, 8. alfa endosulfan, 9. p,p'-DDE, 10. dieldrin, 11. endrin, 12. beta endosulfan, 13. p,p'-DDD, 14. endrin aldeído, 15. sulfato de endosulfan, 16. p,p'-DDT, 17. endrin cetona e 18. metoxicloro.

Fonte: BUAH-KWOFIE; HUMPHRIES, 2019, p. 85.

Análises de pesticidas em água utilizando GCxGC/TOFMS podem fornecer resposta analítica alta, fornecendo limites de detecção (LDs) em níveis muito baixos (GÓMEZ *et al.*, 2011; OCHIAI *et al.*, 2011; WOODING; ROHWER; NAUDÉ, 2017). Estudos envolvendo pesticidas em matrizes ambientais têm aparecido em maiores quantidades revelando a capacidade do método GCxGC/TOFMS e fornecendo a seletividade necessária para operar em matrizes muito complexas, enquanto o processo de modulação térmica aumenta a sensibilidade inata do TOFMS (CAJKA; HAJSLOVÁ, 2004; VAN DER LEE *et al.*, 2008; MUSCALU e GÓRECKI, 2018).

1.9 Extração em fase sólida – SPE

A extração em fase sólida (SPE) foi introduzida em 1976 (YOSHIMURA, 1976) para suprir as desvantagens apresentadas pela extração líquido-líquido (JARDIM, 2010). As analitos contidos na matriz aquosa são retidos após passarem por um cartucho contendo sorbente e, posteriormente, um solvente orgânico é utilizado para eluir os analitos (PICHON, 2000). É uma técnica muito empregada para pré-concentração de agrotóxicos e segundo Picó *et al.* (2007), entre 2003 e 2006, mais

de 100 publicações utilizaram a SPE em análises de resíduos de agrotóxicos em matrizes aquosas (Figura 9).

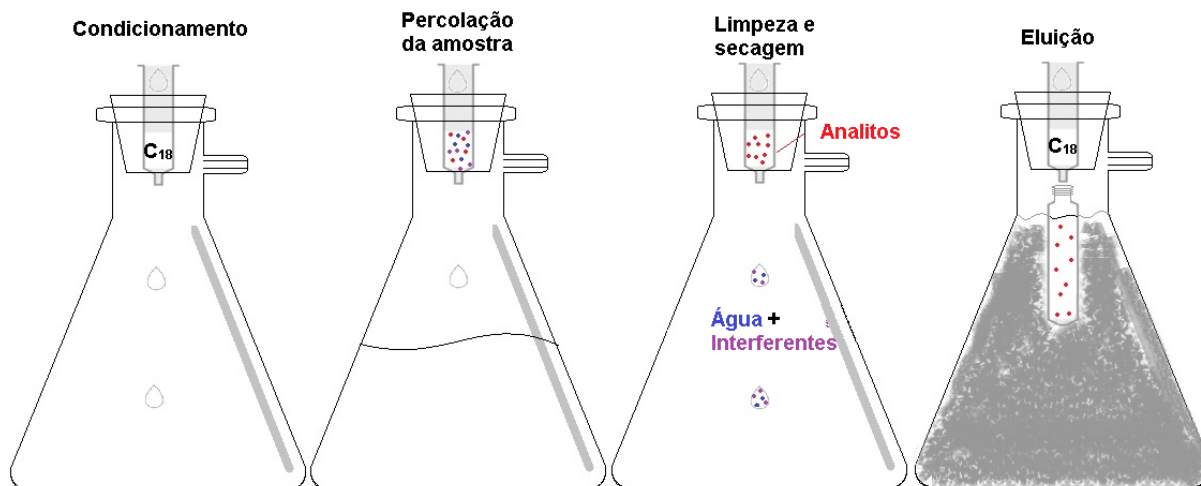


Figura 9 - Etapas envolvidas na SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito.

Fonte: O autor, 2021.

Uma das principais vantagens da SPE é a vasta gama de sorventes disponíveis, que abrange vários analitos, inclusive analitos polares e apolares (CARVALHO, *et al.*, 2008; KOWAL *et al.*, 2009); A escolha do solvente de eluição é um parâmetro importante e está diretamente relacionada com a polaridade do agrotóxico e do sorvente escolhido. O sorvente mais usados na SPE para extração de agrotóxicos em água é C₁₈ (CALDAS *et al.*, 2011). A SPE tem se tornado uma das técnicas de concentração e limpeza de extratos mais empregada em métodos analíticos, principalmente no preparo de amostras de água visando a determinação de compostos orgânicos (PICÓ *et al.*, 2007).

Glinski *et al.* (2018) utilizaram a combinação de SPE com GCxGC/TOFMS para analisar pesticidas em águas superficiais, água em raízes e água no solo com excelentes níveis de detecção. Matamoros *et al.* (2010) com a mesma técnica, determinaram a concentração traço de 97 metabólitos presentes em água de rio. Os organoclorados tiveram boas recuperações com o método assim como o LD, apesar do pouco uso do SPE com a cromatografia gasosa bidimensional abrangente.

1.10 Extração QuEChERS

A metodologia QuEChERS foi desenvolvida para a determinação de pesticidas multirresíduos em frutas e legumes (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Essa metodologia usa uma extração simples por agitação, onde os pesticidas são extraídos e particionados usando acetonitrila e uma solução de sal / tampão (Figura 10). O extrato resultante é então limpo usando uma etapa de extração em fase sólida dispersiva (dSPE) muito rápida que não requer uso adicional de solvente (KOWALSKI *et al.*). O passo SPE dispersivo reduz a quantidade de co-extratos da matriz comuns em alimentos, particularmente ácidos graxos. Após essas etapas, o extrato está pronto para GC/MS e LC/MS (LEHOTAY; MASTOVSKA; LIGHTFIELD, 2005).



Figura 10 – Diagrama simplificado do processo QuEChERS
Fonte: Kim *et al.*, 2019.

Análises de pesticidas por QuEChERS tem se tornado muito comum combinado com o GCxGC/TOFMS, Misselwitz, Cochran e Kowalski (2013), proporcionaram uma boa separação da matriz complexa dos pesticidas de interesse em biota, utilizando uma extração QuEChERS, assim como Buah-Kwofie e Humphries (2017; 2019), Xia *et al.* (2016), Meghesan-Breja e Morar (2012), Meghesan-Breja, Marutoiu e Cimpoi (2015) em sedimento e peixes, Kowalski *et al.* (2010) em plantas e Porter *et al.* (2018) em recifes.

Este procedimento demonstrou extrair com segurança (GARCIA; GOTAH, 2017) e gera recuperações mais altas em comparação com outros métodos tamponados e não tamponados (LEHOTAY *et al.*, 2010; MASTOVSKA *et al.*, 2010; RASHID *et al.*, 2010; RIZZETTI *et al.*, 2016; BARCI *et al.* 2020; BERNARDI *et al.*

2020). Foram testados matrizes com adição de padrão na faixa de concentração de 50 a 1000 ng g para frutas e vegetais, 25 a 500 ng g para diferentes grãos de cereais, 50 a 200 ng g para solo, 10 a 100 µg L em suco de laranja e vinho, 5 a 100 ng g para nozes utilizando cromatografia gasosa e líquida em tandem (MS/MS).

1.11 Processo de validação do método

A necessidade de se quantificar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (RIBANI *et al.*, 2004).

A validação de método utiliza um conjunto de etapas que testam quaisquer suposições nas quais o método analítico se baseia e estabelecem e documentam as características de desempenho de um método, demonstrando assim se o método é adequado para uma finalidade analítica específica. As características típicas de desempenho dos métodos analíticos são: aplicabilidade, seletividade, linearidade, faixa de operação, limite de quantificação, limite de detecção, exatidão, recuperação e robustez (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002).

A seletividade de um método instrumental é a capacidade de avaliar, de forma válida, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação na amostra. A seletividade determina que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (RIBANI *et al.*, 2004).

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em análise, dentro de uma determinada faixa de aplicação (ICH, 1995). Essa relação linear pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica que utiliza-se dos coeficientes de regressão a e b , e que determina outros coeficientes (CHUI, ZUCCHINI; LICHTIG, 2001).

O Coeficiente de determinação serve para mostrar o quanto da Variável Dependente (Y) pode ser explicado pela variável independente. Esta medida é normalmente utilizada como uma indicação da adequação do modelo de regressão

ao conjunto de pontos inicialmente dado, como é referido em MONTGOMERY (2003), sinal de que um modelo esteja a ajustar bem os dados.

Para a validação do método também foi calculado os limites de detecção e de quantificação do método. O Limite de Detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada enquanto que o Limite de Quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (ICH, 1995). O limite de detecção foi determinado tanto visualmente através dos resultados das triplicatas, quanto pelo método da curva expressa pela fórmula $LD = 3,3 \times s^b$ (desvio padrão de "b") / (média de "a"). Assim como o LD, o LQ também é expresso pela equação, porém ao invés de 3,3, o valor multiplicado é 10 (RIBANI *et al.*, 2004).

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas. É avaliada pelo desvio padrão absoluto (σ), que utiliza um número significativo de medições, normalmente maior que 20 (ICH, 1995). A expressão da precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (CV), também conhecido como coeficiente de variação (CV%) que pode ser calculado pela divisão do desvio padrão pela média, multiplicado por 100. O valor máximo admitido pela ANVISA (BRASIL, 2003) é de 5%.

A exatidão foi avaliada no estudo de recuperação apresentado na extração e purificação. A recuperação, R, é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (THOMPSON *et al.*, 1999). O Padrão da substância adicionado à matriz isenta da substância ou à amostra é conhecido como fortificação, incorporação, dopagem, enriquecimento, termos provenientes do inglês "*spiking*"). Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos de pesticidas estão entre 70 e 120% quase sempre, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (RIBANI *et al.*, 2004).

De acordo com o INMETRO (2003), a robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. É validada por pequenas variações de parâmetros analíticos como concentração de solvente, programação de temperatura, tempo de extração.

O teste White (WHITE, 1980) de homocedasticidade (mesma variância) é usada para determinar se um termo de erro de modelos de regressão linear é o mesmo em todos os valores das variáveis independentes. Um problema mais sério associado à heterocedasticidade (variância diferente) é o fato de que os erros padrão são tendenciosos e podem levar a conclusões incorretas sobre a significância dos coeficientes de regressão.

O efeito da matriz (EM) pode ser calculado usando a seguinte fórmula:

$$EM \% = \left(\left(\frac{A_P}{A_S} \right) - 1 \right) * 100 \quad (1)$$

Sendo:

EM = Efeito matriz - %

A_P = Área do pico da matriz fortificada

A_S = Área do pico do mix de padrões

Vários autores definem validação de métodos e pode-se dizer que os conceitos continuam evoluindo e estão constantemente sob consideração pelas agências reguladoras. A ANVISA (BRASIL, 2003) determina que a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas. Através da ISO, é definido a confirmação por testes e apresentação de evidências objetivas de que determinados requisitos são preenchidos para um dado uso intencional (ISO/IEC 17025).

Um processo de validação definido e documentado fornece às agências reguladoras evidências de que o sistema e o método são adequados para o uso pretendido (SHABIR, 2003).

1.12 ATPT

Segundo von Mühlen *et al.* (2022) , a métrica do tempo médio de pico teórico (ATPT) foi desenvolvido para avaliar o tempo necessário (em milissegundos por pico - ms.pico⁻¹) para um composto eluir no sistema cromatográfico. Com essa medição é possível classificar a velocidade da separação cromatográfica em faixas normais de velocidade (acima de 4000 ms.pico⁻¹), velocidade alta (600 a 4000 ms.pico⁻¹), velocidade muito alta (200 a 600 ms.pico⁻¹), velocidade hiper-rápida (3,3 a 200 ms.pico⁻¹) e velocidade ultra rápida (abaixo de 3,3 ms.pico⁻¹).

Tabela 2 – Faixa de separação cromatográfica.

	Faixa de separação ms.pico ⁻¹
Velocidade normal	> 4000
Velocidade alta	600 a 4000
Velocidade muito alta	200 a 600
Velocidade hiper-rápida	3,3 a 200
Velocidade ultrarrápida	< 3,3

Com base em von Mühlen *et al.* (2022), para sistema bidimensional abrangente, o ATPT depende da separação tanto na primeira dimensão quanto na segunda dimensão. As métricas foram robustas para classificar a velocidade do método analítico com base na capacidade e no tempo de pico, e também demonstraram ser uma métrica analítica para avaliar melhor os resultados cromatográficos. Para a GCxGC, o ATPT foi calculado com base na equação descrita:

$$ATPT = \left(\frac{{}^1\omega_b * {}^2\omega_b}{P_M} \right) \quad (2)$$

É necessário determinar o produto da média das larguras de base da primeira dimensão (${}^1\omega_b$ - segundos) e da segunda dimensão (${}^2\omega_b$) dos analitos alvo (milissegundos) no cromatograma em relação ao período de modulação do método (P_M segundos). A largura da base do pico na segunda dimensão é obtida a partir do cromatograma. Para determinar a largura do pico na primeira dimensão, é necessário o produto da largura do pico na segunda dimensão e o número total de modulações por pico (VON MÜHLEN *et al.*, 2022).

1.13 Índice de Retenção

O índice de retenção de temperatura linear programada (LTPRI) foi discutido pela primeira vez por van den Dool e Kratz (1963) e, por isso, também é conhecido como índice de van den Dool e Kratz. Com o uso de padrão de n-alcanos, são realizadas as separações cromatográficas determinando o LTPRI. Este dado permite determinar a presença de compostos sem utilizar mix de padrões, apenas comparando valores de índices de retenção do analito obtidos em outros métodos cromatográficos.

A equação que expressa a definição de van den Dool e Kratz é descrita como:

$$I_{DK} = 100n + 100 * \left[\frac{t_{R(X)} - t_{R(Z)}}{t_{R(Z+1)} - t_{R(Z)}} \right] \quad (3)$$

Onde I_{DK} é a índice de retenção da temperatura programada, $T_{R(x)}$ é o tempo de retenção da substância estudada, $T_{R(z)}$ é o tempo de retenção do n-alcano eluido antes da substância, $T_{R(z+1)}$ t de retenção do n-alcano depois da substância.

2 MATERIAIS E MÉTODO

2.1 Levantamento bibliográfico

Foi realizado o levantamento de bibliografia, planejamento experimental, além da capacitação para operação do sistema GC×GC/TOFMS. Palavras chaves como TOFMS, cromatografia gasosa bidimensional abrangente, organoclorados foram utilizados na pesquisa, fornecendo dados de sobre cromatografia de 1950 até 2022.

Esta pesquisa realizou um levantamento de diversas metodologias cromatográficas, propondo criar um método cromatográfico rápido. A sequência da pesquisa pode ser vista a seguir na Figura 11.

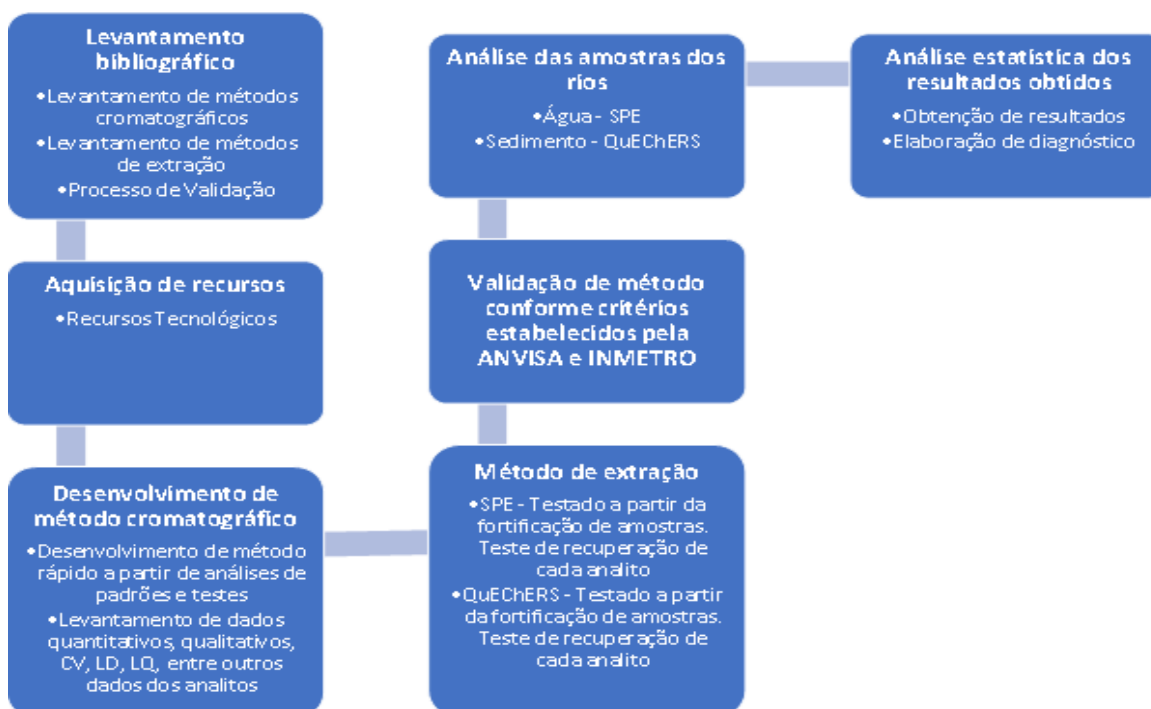


Figura 11 - Fluxograma de processo de desenvolvimento da pesquisa sobre desastre com endosulfan no Rio Paraíba do Sul. Onde: CV = coeficiente de variância, LD = Limite de detecção, LQ = Limite de quantificação.

Fonte: O autor, 2020.

2.2 Recursos para a pesquisa

Os recursos para desenvolver a tese foram provenientes de uma proposta para a Associação Pró-Gestão das Águas da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul –

AGEVAP do edital 005/2018 (processo nº 002.020.001.18) com a proposta “Estudo da contaminação com endosulfan no Rio Paraíba do Sul”.

A ajuda de custo foi aplicada na compra de material de consumo. Os materiais foram cotados e entregues para sua utilização ao decorrer da pesquisa.

2.3 Reagentes e químicos

Os produtos (hexano, acetona, tolueno, metanol, diclorodimetilsilano, ácido acético, diclorometano, acetonitrila, mix EPA 8081, endosulfan lactona, endosulfan éter, endosulfan álcool e padrão de n-alcenos C₇-C₃₀) foram fornecidos pela Sigma Aldrich (Brasil). O mix EPA 8081, contém 22 pesticidas (Tetracloro-m-xileno, α -BHC, β -BHC, δ -BHC, γ -BHC, Heptacloro, Aldrin, Epóxido de Heptacloro, trans-Clordano, α -Endosulfan, Clordano, Dieldrin, 4,4 DDE, Endrin, β -Endosulfan, 4,4 DDD, Endrin Aldeído, 4,4 DDT, Sulfato de Endosulfan, Endrin Cetona, Metoxicloro, Decaclorobifenil) com concentração de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em hexano:tolueno 1:1. Os outros padrões (Endosulfan Éter, Endosulfan Lactona e Endosulfan Álcool) foram adquiridos em forma sólida com P.A. (Sigma Aldrich, Barueri-SP, Brasil) Os cartuchos de SPE de octadecilsilano (C₁₈) foram de 6 mL com 500 mg^{-1} de fase estacionária (Sigma Aldrich, Barueri-SP, Brasil). Para a extração QuEChERS, foram adquiridos sulfato de magnésio anidro (MgSO₄), acetato de sódio (NaOAc), acetato de sódio tri-hidratado (CH₃COONa.3H₂O), amina primária-secundária (PSA) e C₁₈ em pó fino também da Sigma Aldrich (Brasil). Todos os produtos químicos foram armazenados nas condições recomendadas até o uso.

O padrão do endosulfan álcool é insolúvel em hexano ($\log K_{ow} = 3,9$), sendo necessário uma mistura de hexano e acetona 1:1 ($\log K_{ow} = 1,8$) para permitir sua diluição e preparo do padrão álcool com concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para o preparo de um padrão mix de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ que comporte os 25 analitos alvo, foi utilizado diclorometano para eluição que possui $\log K_{ow}$ de 1,25 (SANGSTER, 1989).

2.4 Preparo da vidraria.

O método utilizado para limpeza da vidraria consiste no uso de detergente e água. Após o uso do detergente, foram realizados 10 enxágues com água da torneira, 3 com água destilada e o material foi colocado em estufa (Modelo 3, Icamo, Biocristal,

RJ, Brasil) a uma temperatura de 120 °C até secar. Depois de seca, a vidraria foi limpa com pequenas alíquotas de acetona, na capela, e seca em temperatura ambiente. Repetiu-se o procedimento com n-Hexano. Por fim, o material foi colocado na estufa a uma temperatura de 280 °C por 2h. Após o resfriamento, as partes abertas da vidraria foram protegidas com papel alumínio para armazenamento.

Após a limpeza, foi incluída a etapa de silanização. A silanização de superfícies de vidro com 5% dimetil-dicloro-silano (DMDCS) solubilizado em tolueno é para evitar a interação dos analitos com as paredes aumentando a eficiência das recuperações. O método foi baseado em Cajka *et al.* (2005).

O método de silanização consistem em rinsar com acetonitrila as paredes da vidraria para remover partículas aderidas e logo em seguida seco a 200 °C por 2h. Após seco, a parte interna da vidraria é mergulhada na solução silanizante por 45 min. Depois deste período, a solução é recuperada e as paredes do vidro são limpas com tolueno. E seguida, deixa-se as paredes silanizadas em contato com metanol, recuperando o excesso após 10 min de contato. Por fim, aquece-se a vidraria a 200 °C para secar durante 30 min.

2.5 Instrumental utilizado

A análise GCxGC/TOFMS foi realizada em um GC Agilent 7890B (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) acoplado a um espectrômetro de massa Leco Pegasus 4D TOFMS (St. Joseph, MI, EUA), com injetor automático Agilent 4513A (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) com modulador criogênico de duplo estágio sem consumíveis (SP Scientific). Foi utilizado um compressor de ar modelo Schultz CSV 10, nobreak Dominion SP1 e um banco de baterias da CM comandos. A separação foi obtida usando uma coluna Restek Rtx-5 (fase 5% difenil/95% dimetil polisiloxano) com 10 m x 0,18 mm i.d. x 0,20 µm de espessura de filme acoplada a uma coluna secundária Rtx-17 (fase 50% fenil/50% dimetil polisiloxano) de 0,74 m x 0,1 mm i.d. x 0,1 µm. Também foi utilizada a coluna Rxi-17Sil (fase de silarileno de meia polaridade – similar a 50% fenil / 50% metil polisiloxano) de 1,0 m x 0,15 mm i.d. x 0,15 µm de espessura de filme na segunda dimensão. Foi utilizado um capilar vazio de dimensões 0,5 m x 0,25 mm i.d. da segunda dimensão até a fonte de íons, para reduzir o tempo de manutenção e exposição do analisador de massas nas trocas de colunas.

Amostras de 1 μL foram injetadas em modo *splitless* usando gás hélio de alta pureza (99,99%) como gás de arraste a fluxo constante.

2.6 Desenvolvimento do método

A metodologia de separação cromatográfica utilizada como referência foi a proposta por Buah- Kwofie e Humphries (2019). A sensibilidade da detecção e separação dos analitos foi otimizada ajustando a vazão de fase móvel, a programação de temperatura dos fornos primário, secundário e do modulador, o período de modulação e a taxa de aquisição de sinal do detector, além do ajuste da voltagem.

Uma alíquota de 1 μL foi injetada no modo *splitless*. A faixa de massa (relação massa/carga, m/z) analisada foi estabelecida entre 45-550 u.m.a. e uma taxa de aquisição de dados espectrais de 100 espectros. s^{-1} foi usada. O processamento dos dados e identificação dos picos foram realizados com o software e os bancos de dados Leco® ChromaTOF-GC v4.51.6.0.

As condições cromatográficas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições cromatográficas realizadas na etapa de desenvolvimento da metodologia analítica.

Método		Atraso de aquisição s	Voltagem detector eV	Tempo total min	Período de modulação s	Forno secundário °C	Jato quente/ jato frio s	Fluxo de Hélio mL.min ⁻¹
1 -	75 °C (2 min) até 280 °C a 6 °C.min ⁻¹ (1min).	120	200	37	4	+10	0,6/1,4	1,4
2 -	75 °C (2 min) até 280 °C a 6 °C.min ⁻¹ (1min).	120	200	37	4	+20	0,6/1,4	1,4
3 -	75 °C (2 min) até 140 °C a 20 °C.min ⁻¹ . De 140 °C até 250 °C a 6 °C.min ⁻¹ (1min).	120	300	24	4	+20	0,6/1,4	1,4
4 -	75 °C (2 min) até 140 °C a 20 °C.min ⁻¹ . De 140 °C até 250 °C a 6 °C.min ⁻¹ (1min).	120	300	24	5	+30	1 / 1,5	1,4
5 -	75 °C (2 min) até 250 °C a 20 °C.min ⁻¹ (1min).	120	300	11,75	3	+30	0,6/0,9	1
6 -	75 °C (0,5 min) até 280 °C a 20 °C.min ⁻¹ (1min).	300	300	11,75	3	+30	0,6/0,9	1

Fonte: O autor, 2020.

Foi realizada um análise de brancos antes de cada análise do padrão para avaliar a limpeza da coluna para evitar o efeito de memória. Após o branco, foi analisado o padrão intermediário de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e todos os analitos foram detectados.

Os dados amostrais foram calculados através de triplicatas das análises em todas as concentrações dos padrões até 1 ng mL^{-1} , juntamente com sua média. Para avaliar a dispersão dos resultados entre os ensaios, foram consideradas mais de 9

determinações, contemplando o intervalo linear do método, ou seja, no mínimo 3 concentrações diferentes com 3 réplicas cada ou mínimo de 6 determinações a 100% da concentração do teste como determina a ANVISA (BRASIL, 2003).

Os índices de retenção foram calculados com uso de padrão de alcanos (C₇-C₃₀) na metodologia desenvolvida. Foi criada uma metodologia com os índices de retenção de van de Dool e Kratz (1963) no software ChromaTOF-GC para utilizar no processamento de dados e determinar os índices de retenção com base nos alcanos injetados. Os alcanos encontrados no método 6 variam do C₁₆ ao C₃₀ e os índices podem ser vistos no tópico 3.2 (Tabela 6).

2.7 Área de estudo

O Rio Pirapetinga é cercado por áreas com maior densidade demográfica nos últimos 2 km de trecho onde aconteceu a sua contaminação. Após a contaminação, o rio desagua no Rio Paraíba do Sul, na qual é responsável pelo abastecimento de milhões de pessoas em todo estado do rio. O rio são utilizados para consumo humano, recreação, abastecimento de indústrias, dessedentação de animais e pesca. A Figura 12 destaca a região da bacia hidrográfica mais próxima do derramamento de endossulfan onde foram coletadas amostras de água e sedimento e demonstra a contaminação em todo o estado.



Figura 12 – Local de estudo inserido na Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul com área de atuação do Comitê de Integração da Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul.

Fonte: CEIVAP adaptado pelo autor, 2023.

Na etapa de amostragem, foram seguidos t pico 3.2.1 do guia nacional de coleta e preserva o de amostras (CETESBa, 2012). Potes de vidro previamente limpos e silanizados conforme procedimento descrito no t pico 2.4. Foram utilizadas luvas para evitar a contamina o dos frascos durante etapa de coleta. A vidraria foi fechada com papel alumínio, refrigerada em caixa de isopor e gelo, protegida de luz solar, separada por ponto de coleta e com volumes suficientes para extra o. As amostras foram identificadas por ponto e os locais das coletadas demonstradas na Tabela 4.

Tabela 4 - Pontos de coletas de água e sedimento para análise, Resende, RJ.

Pontos de coleta	Rio	Localiza�o	Descri�o
1	Pirapetinga	22�26'50.63"S 44�24'18.08"W	Montante do acidente
2	Pirapetinga	22�27'6.56"S 44�24'14.34"W	Ponto Jusante prox. do acidente
3	Pirapetinga	22�27'23.65"S 44�24'12.50"W	Jusante Rod. Pres. Dutra
4	Pirapetinga	22�27'25.71"S 44�24'24.15"W	Jusante Rod. Pres. Dutra
5	Pirapetinga	22�27'35.09"S 44�24'32.62"W	Jusante Linha de Trem
6	Pirapetinga	22�27'46.84"S 44�24'17.57"W	Foz do Pirapetinga Bairro Faz. da Barra 2
7	Paraíba do Sul	22�27'56.15"S 44�26'9.66"W	Montante da Foz Bairro Monet
8	Paraíba do Sul	22�27'13.37"S 44�22'13.81"W	Jusante da Foz Rod. Pres. Dutra

Fonte: O autor, 2019.

Foram necessários 2 dias para as campanhas de coletas. Para cada dia foram coletas amostras simples em 4 pontos no período da tarde entre 14 e 17 h. As análises foram realizadas no dia subsequente para evitar perda de compostos. Coletas foram realizadas em meses diferentes com condi oes meteorológicas diferentes. No mês de novembro foram coletadas amostras sem regime de chuvas nas últimas semanas. No período de Janeiro de 2022, as coletas foram realizadas com influência de chuvas nas últimas 24 h. O total de 16 amostras de sedimento e de água foram levadas ao

laboratório utilizando potes de vidro de 500 ml para sedimento e garrafas âmbar de vidro previamente limpos de 1 L. As amostras de água foram coletadas em pontos com correnteza de forma a não gerar turbulência e oxigenação. As amostras de sedimento foram coletadas no fundo do rio, nas proximidades da margem. No laboratório, as amostras foram armazenadas em geladeira a 4 °C até a análise.

Foram coletados 6 pontos de amostragem localizados no Rio Pirapetinga, afluente do Rio Paraíba do Sul, próximo ao ponto de derramamento do endossulfan até sua foz localizada no município de Resende-RJ (Figura 13). Os pontos de coleta foram escolhido com base em um estudo de Strauch (2010), o relatório final do SEA (2009) e ação civil pública (RESENDE, ACP, 2008) movida contra a empresa responsável. As coletas foram realizadas para avaliar a concentração do composto em amostras brutas próximo ao ponto de contaminação. Mais dois pontos de coleta (Ponto 7 e 8) foram analisados para avaliar o Rio Paraíba do Sul.

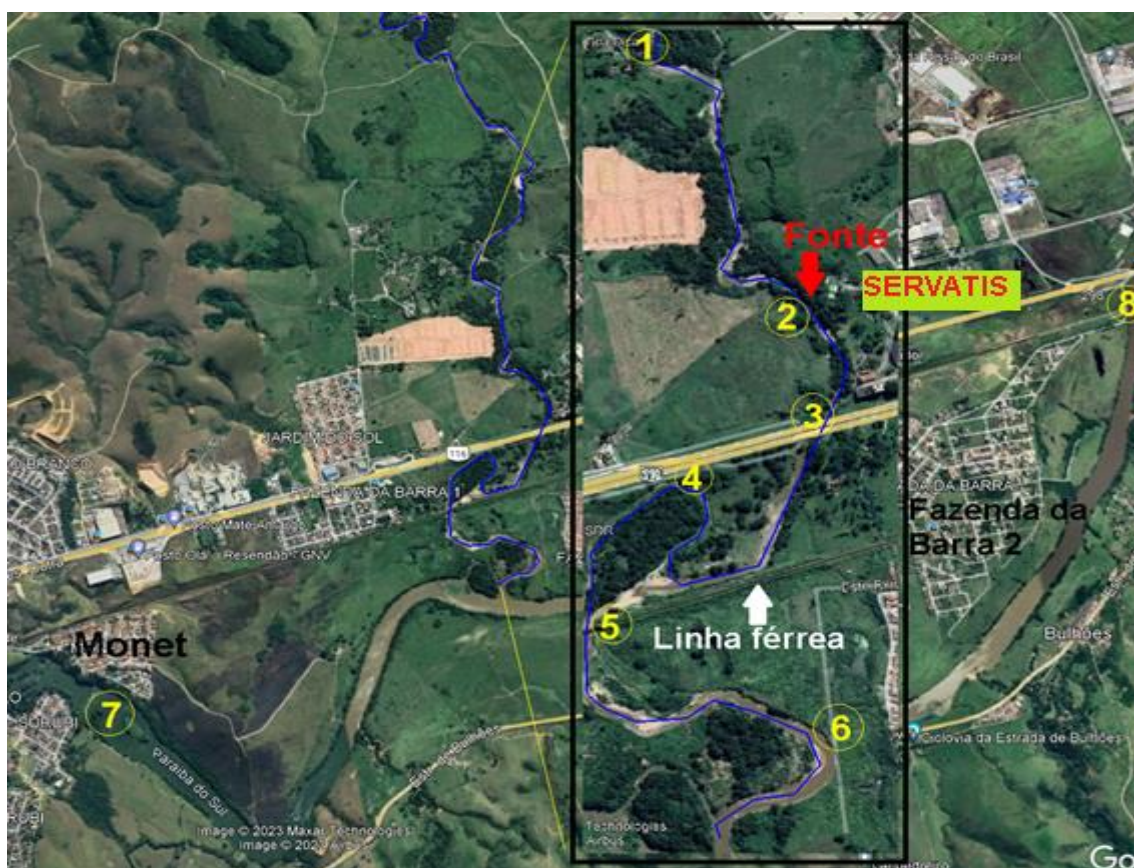


Figura 13 – Pontos de coleta numerados de 1 a 8 no rio Pirapetinga e Paraíba do Sul, RJ. Fonte – GOOGLE MAPAS, adaptado pelo autor, 2019.

Os pontos de coleta de água e sedimento foram distribuídas ao longo do trecho de 2 km finais do Rio Pirapetinga e mais dois pontos no Rio Paraíba do Sul.

O ponto 1 está localizado nas mediações do bairro Jardim do Sol, com poucas casas, estrada de chão e cercada de áreas de pasto. O local de coleta tem grande correnteza e possui uma pequena ilha usada pelos moradores para banho. O ponto está a montante do trecho afetado e foi analisado com objetivo de descartar possíveis contaminações de endossulfan advindos de outras localidades.

O Ponto 2 está nas margens do rio Pirapetinga próximo a pontos de captação de água da Servatis e uma área usada como pasto. O local foi demarcada como o local da fonte de contaminação do endossulfan. O rio possui apenas margem direita acessível para coleta, devido a um desnível na margem pertencente a Servatis. Bancos de areia no centro do rio foram formados permitindo uma coleta dentro do rio.

O ponto 3 e 4 estão margeando a Rodovia Presidente Dutra próximo à Balança. Os acessos foram pelas laterais da rodovia permitindo chegar nos locais. O ponto 3 fica abaixo da rodovia, próximo a mesma área de pasto do ponto 2 e a Servatis. O local possui muitas pedras e fácil acesso pela margem direita. O Ponto 4 possui uma ilha formada na qual não possui fácil acesso e muitas árvores. O fluxo de água é menos intenso neste lado da ilha e se encontra próximo a uma área de pasto com solo menos arenoso.

Os pontos 5 e 6 ficam próximos entre os bairros Fazenda da Barra 1 e Fazenda da Barra 2. Os locais possuem grandes áreas de pasto no entorno e pouca arborização. O ponto 5 fica abaixo da linha férrea, e a área possui bancos de areia utilizados pelos moradores próximos como recreação. A coleta foi na margem esquerda em local com grande deposição de sedimento. O fácil acesso pela linha férrea e o aspecto límpido da água atraem os moradores para o local. O ponto 6 fica próxima a uma área de pasto próximo a Fazenda da Barra 2, sendo possível acessar atravessando uma área de mato alto. O local possui solo com sinais de erosão fluvial.

Nas campanhas de coleta no Rio Paraíba do Sul o ponto 7 apresentou proximidade com o centro urbano de Resende. O bairro Monet possui uma estação de tratamento de esgoto próxima ao ponto de coleta. A coleta foi realizada a montante do lançamento de esgoto na margem esquerda do rio. O ponto 7 foi determinado para avaliar contaminações de endossulfan advindos de outras regiões. O Ponto 8 foi coletada no viaduto que dá acesso a polo industrial de Resende e a própria UERJ. A área não possui construções muito próximas e fica a jusante do Bairro Morada da Barra, Jardim Martinelli e Bulhões. Ponto 8 foi inserido para avaliar a dispersão da contaminação até o Rio Paraíba do Sul.

Mazza *et al.* (2011) estudaram o contaminante após o vazamento através do modelo de fugacidade de *Mackay* e modelo dinâmico de *Fick*. O endosulfan comercial é suscetível de aderir em sedimento, solo e biota. Através do modelo dinâmico de *Fick*, a concentração do contaminante nos primeiros quilômetros de rio seria muito alta, permanecendo por longos anos. Os pontos de 2 a 6 e o 8 foram os pontos afetados pela derramamento de endosulfan em 2008.

2.8 Metodologia de extração e purificação

2.8.1 Método de extração em fase sólida (SPE)

O método de extração adotado para a água foi baseado na metodologia de Vassilakis, Tsipi, Scoullou (1998), utilizando cartuchos C₁₈ de 6 mL com 500 mg.

Outros materiais utilizados para a extração foram:

- 3 funis de separação
- 2 kitassatos
- 2 rolhas de silicone com furo para o cartucho
- Tubos de silicones
- Papel alumínio
- Uma bomba a vácuo com teflon (Modelo 107CAB18 G, Thomas, WI, USA)
- 2 registros de gás
- Suporte metálico com aro.
- Frascos de 20 mL
- Micropipeta Monocanal de 5 ml.

Para iniciar a extração, foi montado na capela um sistema a vácuo para a extração simultânea de 2 amostras (Figura 14). O sistema pode ser demonstrado no esquema da Figura 15. Em uma rolha perfurada, o cartucho é colocado e encaixado no kitassato para iniciar o processo de filtração a vácuo. O suporte metálico foi utilizado para apoiar o funil de separação com as amostras em altura superior ao kitassato com o cartucho de extração já inserido.



Figura 14 - Sistema de filtração montado a partir de kitassato, funil de separação e bomba à vácuo de teflon

Fonte: O autor, 2022.

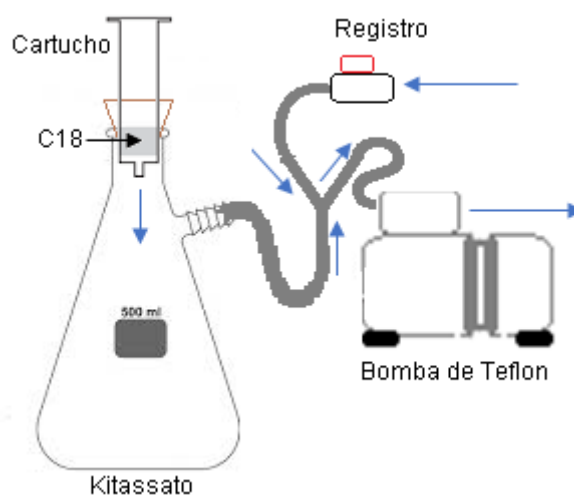


Figura 15 - Esquema de montagem da extração de fase sólida

Fonte: O autor, 2022.

No kitassato são colocados tubos de silicone que bifurcam em direção a bomba de vácuo e um registro aberto. O registro instalado foi usado para controlar a vazão de infiltração da amostra.

Todos os cartuchos utilizados foram condicionados com 10 mL de metanol seguido de 10 mL de água destilada utilizando a micropipeta monocal de 5 ml e ponteiros descartáveis. Em seguida, foram utilizados 1 litro de amostra para

fortificação com padrão mix com 25 analitos em 3 concentrações diferentes inseridas nos balões volumétricos sem tampa. A extração foi realizada em tréplicas introduzindo a amostra nos cartuchos através de funis de separação. A regulagem da válvula dos funis foi necessária durante toda a etapa de extração para controle de fluxo, sendo lenta para não haver perda de amostra e oxigenação.

O ajuste da vazão da amostra dentro do cartucho variou de aproximadamente 8 a 10 mL min⁻¹ com a ajuda do registro, sendo o tempo cronometrado a cada 100 mL. Ao iniciar a extração, o registro permanece aberto, sendo fechado gradualmente até atingir um fluxo aproximado de 2 gotas por segundo. Com o cronometro ligado, os ajustes de vazão são realizados conforme cada graduação de 100 ml (Figura 16) fechando ou abrindo o registro. A cada 100 ml de amostra infiltrado no cartucho, o tempo foi programado para faixa de 10 e 12,5 minutos.

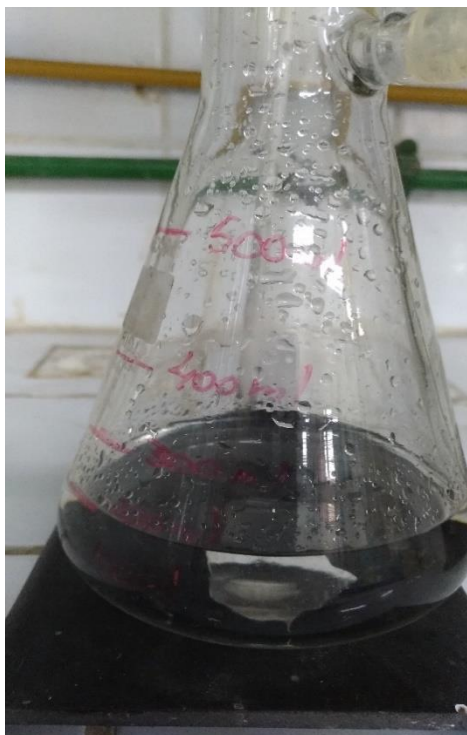


Figura 16 – Graduação do kitassato
Fonte: O autor, 2022.

Cada extração possui tempo médio de 2 h, sendo possível realizar duas extrações simultaneamente. Durante os minutos finais de extração, é previsto uma redução de fluxo por conta de entupimento do sorbente no interior do cartucho, sendo necessário o fechamento gradual do registro. Após a infiltração da amostra, foi realizado o descarte da água no interior do kitassato e um processo de secagem do cartucho com ar ambiente durante 15 minutos com o registro fechado. Após secagem,

a eluição foi feita com 10 mL de diclorometano transferindo os analitos do cartucho para frascos de 20 mL, que foram devidamente tampados e identificados (Figura 17). Antes da transferência, o registro é novamente aberto para a regulação de fluxo, pois se tratando de solvente, a percolação é mais rápida. O processo de recuperação dos analitos por eluição com diclorometano pode ser vista no esquema da Figura 18.



Figura 17 - Amostras coletadas para secagem e posterior análise em GCxGC/TOFMS
Fonte: O autor, 2022.

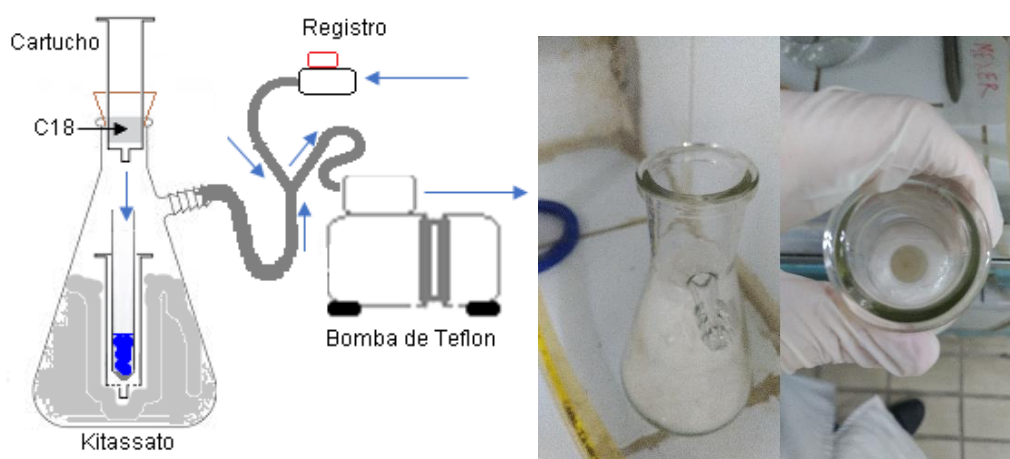


Figura 18 - Sistema montado para coleta de amostra por extração de fase sólida.
Fonte: O autor, 2022.

Após todas as extrações, os solventes foram evaporados com o uso de Nitrogênio (N_2 ultra puro, Messer, Alta Pressão, RJ, Brasil) para redução do volume de solvente com duração de algumas horas.

Após secagem, os extratos foram redissolvidos em 1 mL de diclorometano para injeção no sistema GCxGC/TOFMS.

2.8.2 Método QuEChERS

Após a coleta de amostras, 10 g de amostra em réplicas de cada ponto foram pesadas na balança de precisão dentro de cadinhos. Após pesagem, as amostras foram encaminhadas para a estufa por período de 24 h (EMBRAPA SOLOS, 2017). Após estufa, a amostra foi novamente pesada para avaliação o teor de umidade de cada amostra.

O QuEChERS foi iniciado com a pesagem da amostra em balança de precisão. O método de extração foi baseado em Buah-Kwofie e Humphries (2017) para extração de OCPs em sedimentos onde os mesmos utilizam 10 g de amostra seca e 15 ml de água. Com teor médio de umidade de 34 % nas amostras do ponto 1 ao 8, foram utilizados 15 g de amostra úmida, contendo aproximadamente 10 g de massa seca e 5 g (5 ml) de água.

Iniciou-se a extração com a limpeza das vidrarias e silanização dos tubos falcon de 50 mL, 10mL e vials de 10 mL para etapa de centrifugação.

Os materiais utilizados foram:

- Tubos falcon de 50 mL de vidro;
- Tubos falcon de 10 mL de vidro;
- Tubos de 10 mL;
- Cadinho de 50 ml;
- Banho de ultrassom;
- Suporte metálico;
- Rolha;
- Papel alumínio;
- Balança de precisão (Gehaka, modelo AG-200, Brasil);
- Agitador vórtex Fisatom (modelo 772, Brasil);
- Micropipeta Monocanal de 5 mL;
- Micropipeta Monocanal de 1 mL;
- Espátulas;
- Centrífuga Janetzki (modelo T30, Alemanha).

O QuEChERS foi modificado utilizando 15 g de amostra úmida (10 g de sedimento seco + 5 g de água) para evitar volatilização de compostos na etapa de

secagem. Nos ensaios de recuperação e efeito matriz, foi adicionado um tempo de repouso por 30 minutos devido à adição do padrão analito, que não é exigido nas amostras ambientais do local de estudo. Após adicionado a amostra em tudo falcon de 50 mL foram introduzido 10 mL de água complementado os 5 mL já existentes utilizando micropipeta monocanal de 5 mL. Em seguida a amostra permanece 15 minutos no banho de ultrassom modelo Q3350 (Quimis, SP, Brasil) apoiada em suporte metálico com garra.

São adicionados 20 mL de acetonitrila: ác.acético (99:1 v/v) junto a mistura da amostra e água iniciando a fase de extração dos analitos do sedimento. Previamente foram montados saches com a gramatura dos sais utilizando espátulas previamente limpas e formas de papel alumínio. Na mistura são adicionados 8 g de sulfato de magnésio anidro, 1,5 g de acetato de sódio e 1 g de acetato de sódio tri-hidratado iniciando a fase de particionamento. Nesta fase, o tubo falcon é fechado com rolha foleada com papel alumínio e agitada por 1 min. É liberado calor e gases através de uma reação exotérmica, sendo necessário a retirada da rolha em intervalo de 30 s. Após esse tempo, foi utilizado o vórtex Fisatom (modelo 772, Brasil) para misturar por mais 1 min.

O solvente orgânico foi transferida através de vial de 10 mL para a etapa de centrifugação (centrífuga Janetzki, modelo T30, Alemanha). Na fase de limpeza, 1,2 g de sulfato de magnésio anidro, 0,4 g de C₁₈ e PSA foram adicionados, sendo novamente agitada e centrifugada. Por fim, após a limpeza, uma alíquota de 5 mL do extrato foi transferido para outro tubo de vidro de 10 mL e seca sob corrente suave de nitrogênio gás. A etapa de secagem foi realizada em condições ambientais sem equipamento. Para a secagem da acetonitrila foram necessários várias horas, sendo a extração finalizada no dia seguinte na parte da manhã.

Após secura, foram adicionados 1 mL de diclorometano com micropipeta monocanal de 1 mL para redissolver e analisar em cromatografia conforme Figura 19.

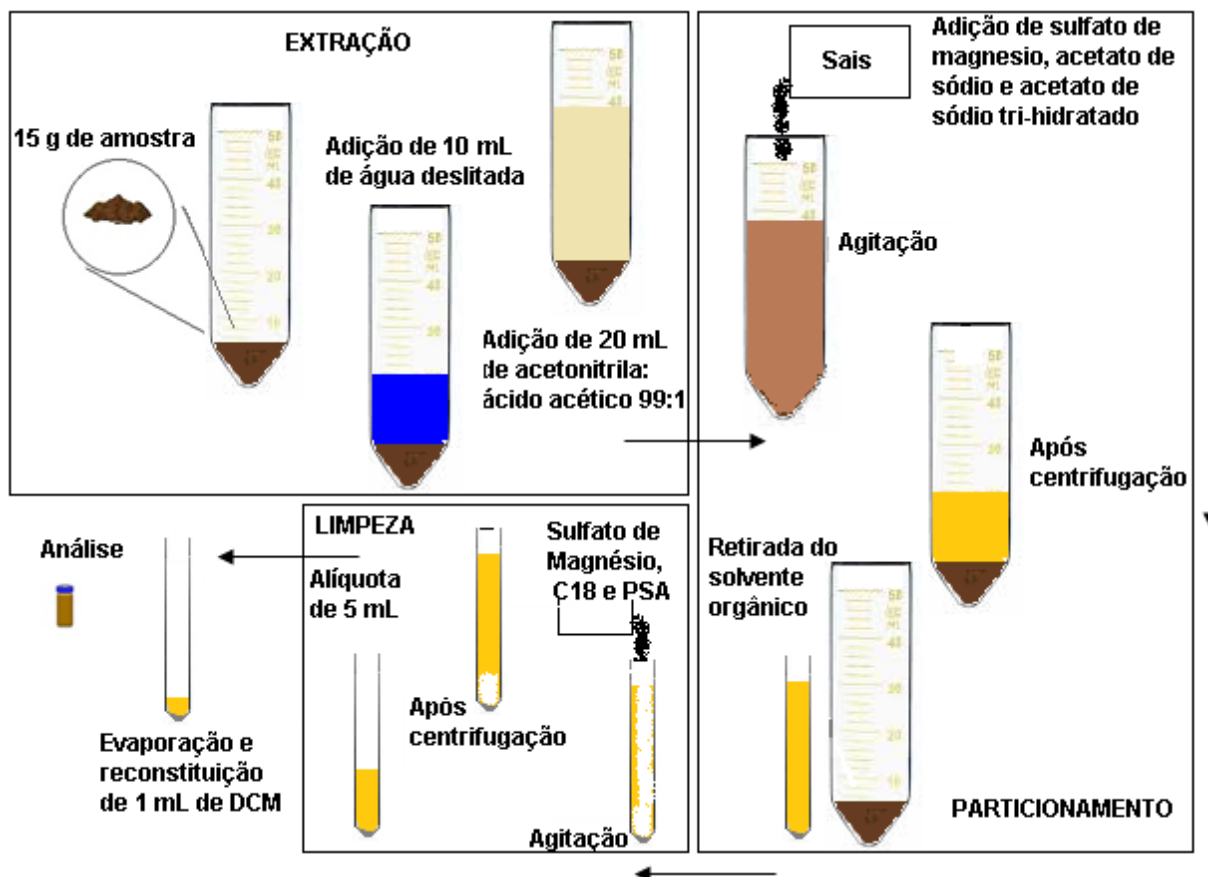


Figura 19 – Etapas de preparo de amostras pelo método QuEChERS modificado
Fonte: O autor, 2022.

2.9 Processo de validação

Para processo de validação os parâmetros levantados foram: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, ensaio de recuperação e robustez conforme determinam ANVISA e INMETRO (BRASIL 2003; INMETRO 2003).

A seletividade e a linearidade foram determinadas pelos picos dos compostos de interesse. A linearidade foi avaliada considerando o coeficiente de determinação da curva analítica obtida para cada analito sendo determinado um valor mínimo de 0,99 (BRASIL, 2003).

A faixa de aplicação foi calculada considerando o valor máximo validado. O valor foi calculado a partir das comparações de valores analíticos com valores estimados pela equação linear, determinando um valor máximo com nível de significância de 5% (RIBANI *et al.*, 2004).

Para a avaliação da sensibilidade, o limite de detecção (LOD) para cada analito foi estimado seguindo as diretrizes internacionais descritos no tópico 1.11. A razão

do desvio padrão da interceptação para a inclinação da linha de regressão foram obtidos pela curva analítica determinaram através de réplicas.

A recuperação e exatidão do método de extração SPE foram avaliadas usando experimentos de fortificação realizada em 3 concentrações diferentes e em triplicatas. Três funis de separação foram usados para acondicionar 1 L de amostras fortificadas e o branco com pH 2. Seguindo a metodologia de Vassilakis, Tsipi e Scoullou (1998), foi utilizado o padrão mix com 25 analitos de $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o preparo do ensaio de recuperação (Figura 20).



Figura 20 - Padrão utilizado para fortificar amostras de água no funil de separação de 1 L
Fonte: O autor, 2021.

Foi adicionado com a pipeta de $100 \mu\text{L}$, o volume de $50 \mu\text{L}$ do padrão de $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ à 1 litro de água destilada no funil de separação. Com a diferença de 20 vezes o volume de diluição, a concentração final na amostra no funil de separação é equivalente a 100 ng mL^{-1} . Outras concentrações foram trabalhadas posteriormente seguindo o mesmo protocolo adicionando $100 \mu\text{L}$ e $150 \mu\text{L}$ de padrão, tornando a concentração das amostras equivalente a 200 e 300 ng mL^{-1} . O procedimento foi realizado em réplicas, em funis de separação A, B e C, e todos foram tampados com papel alumínio.

Após extração do cartucho SPE com diclorometano e a etapa de secagem, o extrato redissolvido em 1 mL nas concentrações de 100, 200 e 300 ng mL^{-1} foi injetado e comparado com padrão analítico na mesma concentração para avaliar as recuperações da extração SPE.

Para ensaios de recuperação e exatidão em sedimento, também foram avaliadas experimentos de fortificação realizada em 3 concentrações diferentes e em triplicatas. Quatro tubos falcon foram usados para acondicionar 15 g de amostras de sedimento úmidas (10 g de massa seca) com fortificação e uma sem fortificação (branco sedimento). Também foram realizadas três fortificações com água destilada para avaliar o efeito matriz. Seguindo a metodologia de Buah-Kwofie e Humphries (2017), foi utilizado o padrão com 25 analitos na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o preparo do ensaio de recuperação.

Foi adicionado com a pipeta de $20 \mu\text{L}$, o volume de $10 \mu\text{L}$ do padrão à $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ (equivalente a massa de 500 ng de padrão) em tubo falcon com 10 g de amostra seca, obtendo concentração final da amostra de 50 ng g^{-1} . No método de extração foram avaliadas também outras fortificação com adição de $20 \mu\text{L}$ e $40 \mu\text{L}$ de padrão analítico em sedimento e água, obtendo concentração final da amostra de 100 e 200 ng g^{-1} .

Para comparação com padrão analítico, é importante destacar a recuperação de 5 mL de acetonitrila do total de 20 mL adicionado no método QuEChERS na fase de extração, diminuindo a massa do padrão em 4 vezes. Com $\frac{1}{4}$ da massa de padrão de 500 ng (125 ng) redissolvido em 1 mL de diclorometano, a concentração da amostra injetada é equivalente ao padrão na concentração de 125 ng mL^{-1} . O procedimento foi repetido para 100 e 200 ng g^{-1} , obtendo concentrações finais de 250 e 500 ng mL^{-1} , tanto em sedimento quanto água (tubos A, B e C) com tréplica para comparação com os padrões analíticos e para as análises estatísticas.

A robustez do método se provou pelas substituições das colunas cromatográficas degradadas, lineares e ajustes pequenos na rampa de temperatura que não prejudicaram a resposta analítica do método.

2.10 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas foram utilizadas ferramentas para a validação do método científico de análise cromatográfica e análise das amostras através do software *Leco® ChromaTOF-GC v4.51.6.0*, concomitantemente com *Microsoft Excel* e *RStudio*. O *Script* em *R Studio* criado encontra-se no apêndice A.

Foi utilizado o teste de White (WHITE, 1980) para avaliar a homocedasticidade, através de uma regressão auxiliar, para determinar se é constante a variância dos erros e, condicional aos valores das variáveis explanatórias.

3 RESULTADOS

3.1 Desenvolvimento de Método GC×GC/TOFMS

Buah-Kwofie e Humphries (2019) desenvolveram uma metodologia para a separação de 18 OCPs utilizando GC×GC/TOFMS convencional. No presente trabalho foi possível separar 22 compostos com uma metodologia similar (método 1). Entretanto, o tempo de análise cromatográfica pode ser considerado convencional para uma separação cromatográfica, mas elevado para uma rotina de análises ambientais que geralmente possui grande volume de amostras. Considerando a elevada resolução cromatográfica obtida pela GC×GC, foram realizados experimentos que visavam reduzir o tempo de análise sem compromisso à informação analítica obtida.

Para atingir esse objetivo, foram utilizados os princípios da cromatografia rápida. O GC×GC rápido emprega colunas de menor diâmetro e reduz o tempo de execução da cromatografia em fase gasosa para possíveis análises de rotina. Colunas menores têm uma eficiência muito maior devido ao aumento da transferência de massa (há menos gás para percorrer antes de interagir com o outro lado da coluna). Como as colunas mais estreitas têm maior eficiência, o comprimento total da coluna pode ser diminuído para alcançar a mesma eficiência que uma coluna mais longa, mas menos eficiente e mais ampla (DEI CAS *et al.*, 2019).

Para iniciar a pesquisa, os padrões intermediários a partir do mix de padrões EPA 8081 com concentração de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ em hexano: tolueno 1:1 foram diluídos em vial de 1 mL. Os padrões intermediários com 22 analitos usados na etapa inicial foram diluídos em concentrações de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ em hexano devidamente etiquetados e identificados. Inicialmente foi realizada a análise do mix de padrões utilizado no Método 1 descrito na Tabela 3. Esse método foi construído com base na pesquisa de Buah-Kwofie e Humphries (2019), porém com colunas diferentes (Primeira dimensão - Rxi-5SilMS $30\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$ para Rtx-5 $10\text{m} \times 0,18\text{mm} \times 0,20\mu\text{m}$ e Segunda dimensão - Rxi-17SilMS de $1,1\text{m} \times 0,25\text{mm} \times 0,25\mu\text{m}$ para Rxi-17SilMS de $1\text{m} \times 0,15\text{mm} \times 0,15\mu\text{m}$). O Diagrama de cores obtido está ilustrado na Figura 21.

Muitos picos estão fora de ciclo e apresentam uma elevada largura de base na segunda dimensão em relação aos picos iniciais.

Pico fora de ciclo é o efeito observado quando um determinado composto apresenta um tempo de eluição na segunda coluna superior ao período de modulação (VON MÜHLEN, ZINI, CARAMÃO, 2007). Sendo assim, o composto aparecerá na próxima modulação com o tempo de eluição menos a modulação que, neste caso é 4 s. Os picos fora de ciclo passam a ser um problema apenas quando co-eluem com picos da modulação seguinte. A desvantagem de trabalhar-se com picos fora de ciclo é o aumento da largura do pico em função do tempo que ficam retidos na segunda coluna.

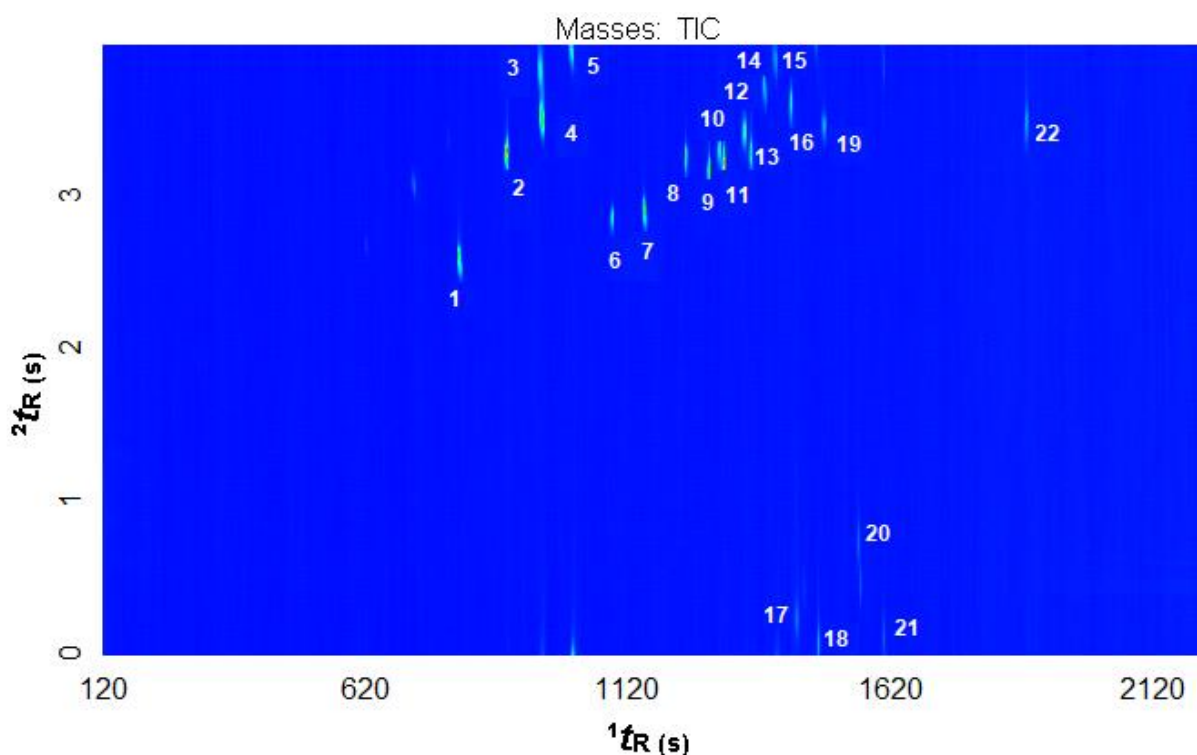


Figura 21 - Padrão mix $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ rodado em 23/08/2019 com método 1.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

Para diminuir a retenção dos picos e evitar a presença de picos fora de ciclo, a temperatura do forno secundário foi aumentada de 10°C para 20°C em relação ao forno primário. Os picos que estavam fora de ciclo entraram no espaço de separação correto, conforme o método 2.

Aumentando-se a diferença de temperatura entre os fornos primário e secundário, obteve-se uma melhoria significativa de S/N para beta, delta e gama BHC com aumento 200 a 350%, e aumento também para alfa e beta endosulfan, DDT e os endrin's tanto para S/N quanto área. Entretanto alguns picos como tetracloro m-xileno, epóxido de heptacloro, trans-Clordano, clordano, decaclorobifenil tiveram as respostas reduzida com o ajuste. Além disso, o tetracloro m-xileno e clordano obtiveram uma largura de pico maior, tendo resultados pouco significativos. Os cromatogramas obtidos para a mistura de padrões nas concentrações de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, estão ilustrados nas Figuras 22 e 23.

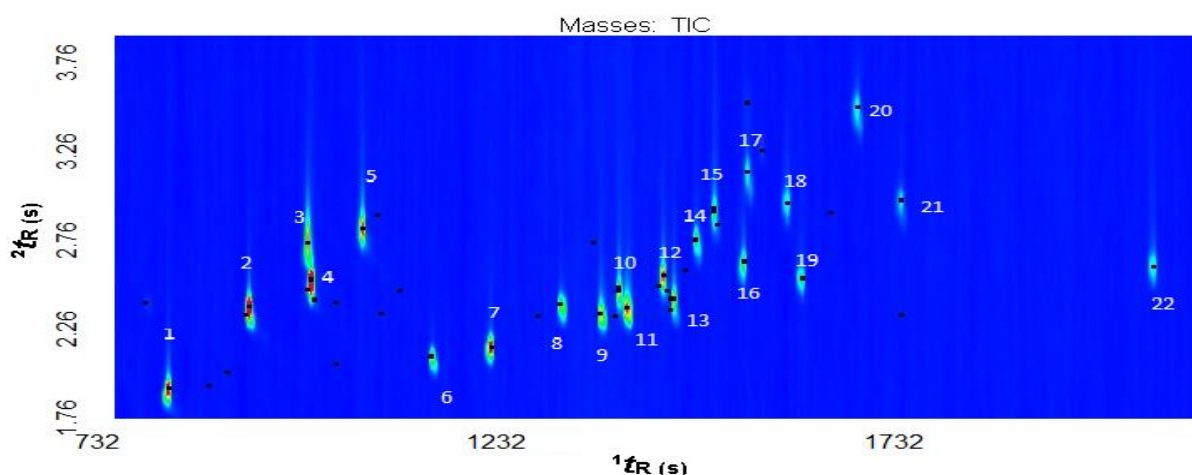


Figura 22 - Padrão mix $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ rodado em 23/08/2019 com método 2 (cores intensificadas).

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

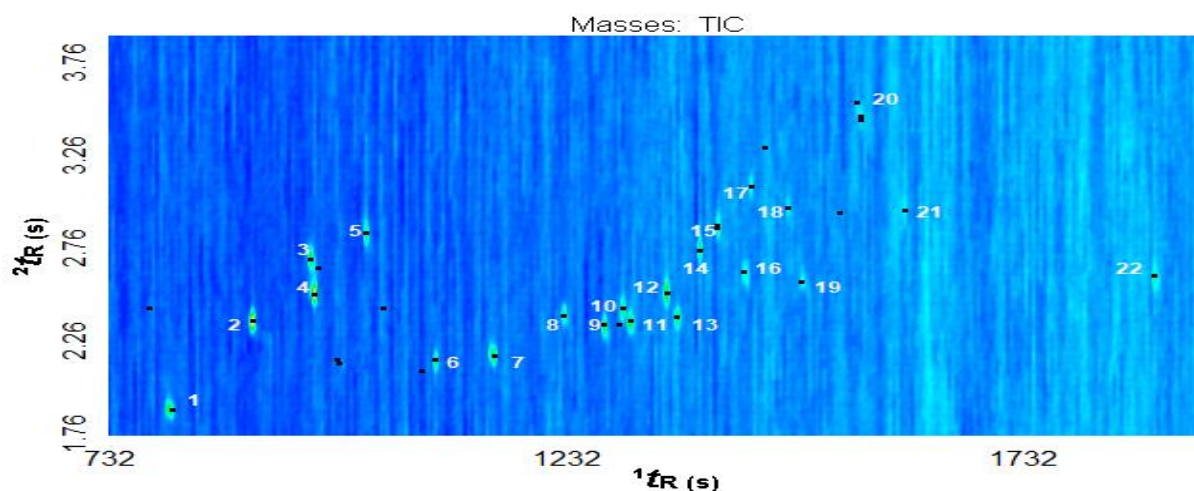


Figura 23 - Padrão mix $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ rodado em 23/08/2019 com método 2.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17.

Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

A metodologia fast empregada foi realizada com a rampa de temperatura nos primeiros 11 minutos de forma mais rápida conforme Tabela 3. Ao final da análise, restando aproximadamente 5,5 min, não foram detectados outros picos sendo, portanto, finalizada com temperatura de 250 °C nessa etapa de otimização (método 3). A separação cromatográfica obtida está ilustrada na Figura 24.

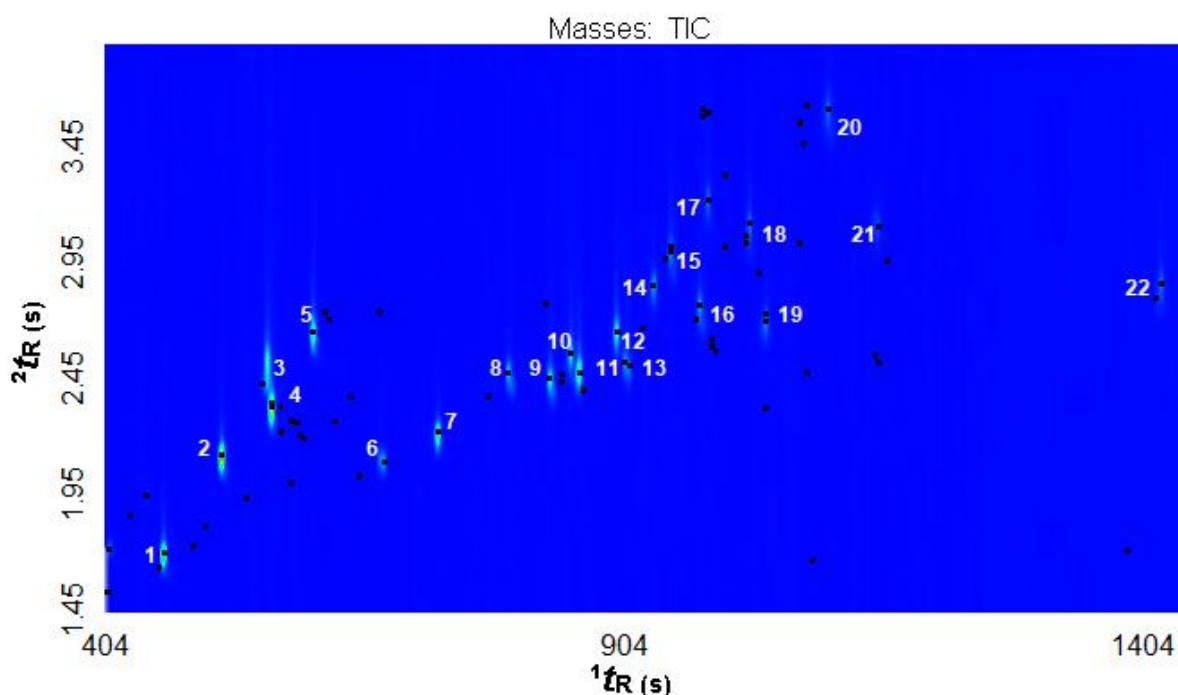


Figura 24 - Cromatograma do padrão mix EPA 8081 - 10 µg mL⁻¹ no método 3.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

Mais padrões foram preparados para testar a metodologia ao decorrer do processo. O padrão mix foi diluído para as concentrações de 500 ng mL⁻¹ e 100 ng mL⁻¹ e outros analitos do endosulfan (endosulfan lactona, éter e álcool) foram adicionados conforme exemplifica a Figura 25.

Em algumas pesquisas (HERNÁNDEZ *et al.*, 2002; REDDY MUDIAM *et al.*, 2012; LUCERO *et al.*, 2016) o isômero -diol teve o LD mais altos em relação aos demais metabolitos ou nem mesmo foi considerado devido a sua elevada polaridade. Portanto, uma metodologia analítica viável e rápida para analisar o endosulfan e seus metabolitos é necessária.

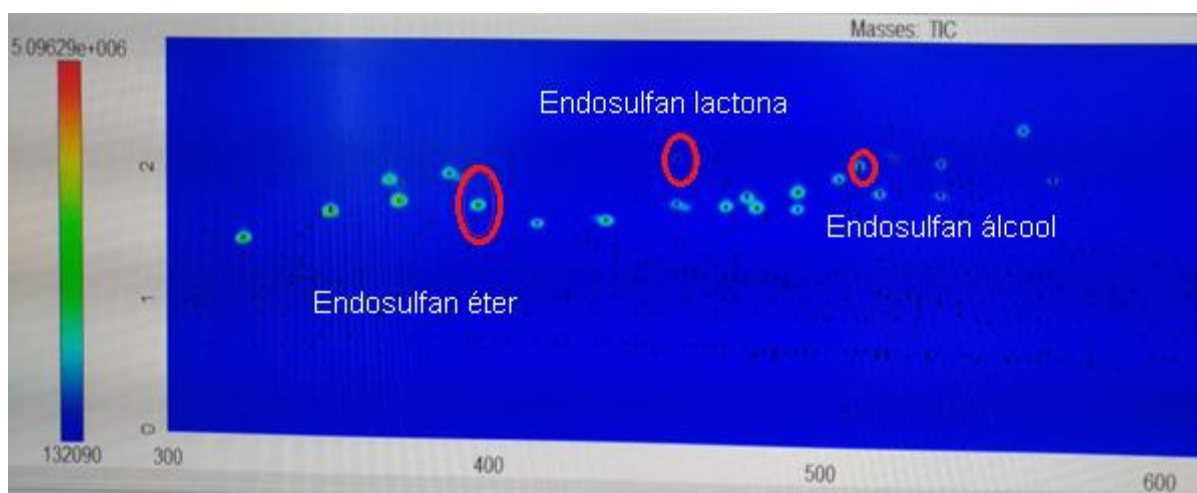


Figura 25 – Analitos de endosulfan adicionados no mix de padrões de organoclorados.
Fonte: O autor, 2019.

Os resultados preliminares apontaram melhorias na S/N do método 3, mas pouca diferença nos resultados entre utilizando os solventes hexano:acetona 1:1 e diclorometano, exceto para alguns analitos como alfa-BHC, gama-BHC, clordano, endrin, metoxicloro, que tiveram aumentos entre 19% a 400%. A mudança do solvente não ocasionou um aumento significativo de S/N para a detecção de picos do sulfato de endosulfan em 250 ng mL⁻¹ e endosulfan-diol em ambas as concentrações.

Foi analisado separadamente o padrão lactona, éter e álcool nas concentrações de 10 µg mL⁻¹ até 100 ng mL⁻¹ em DCM. Considerando estes limites, concentrações ainda altas para a pesquisa em questão, não foram encontrados traços de endosulfan lactona e álcool em 100 ng mL⁻¹, sendo realizado um aumento na energia do detector, a fim de obter-se uma melhora na S/N. Com esse objetivo, foi aplicado um aumento em 300 volts na energia do detector em relação ao arquivo de *tunning* com PFTBA. Apesar disto, o endosulfan álcool não obteve sinal analítico em concentrações inferiores a 1 µg mL⁻¹, sendo necessária uma pesquisa quanto a sua seletividade. Interferências de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes no cromatógrafo afetaram seus resultados (Ribani *et al.*, 2004). Para isso, foram trocados os consumíveis como seringa, septo, liner, o-ring e gold seal. Foi observado que o liner de entrada (*splitless*, cone único, desativado) utilizado, apresentava um filtro de fibra de vidro que foi removido por interferir nos resultados (Figura 26).

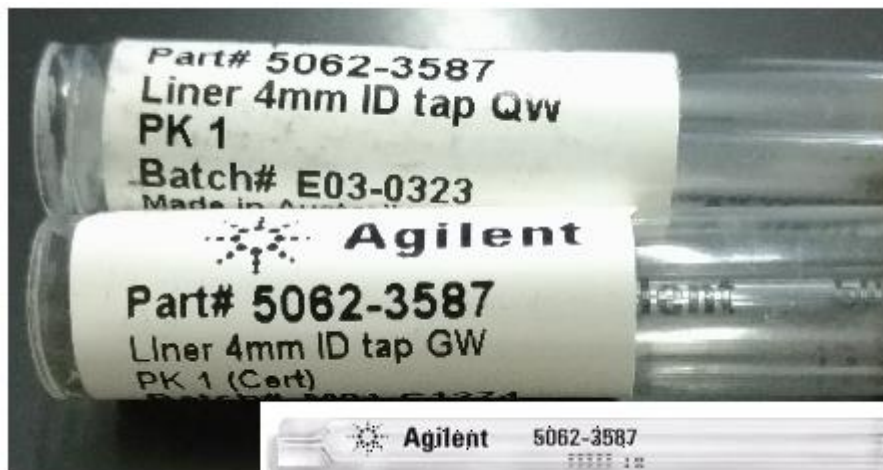


Figura 26 - Modelo de liner utilizado.
Fonte: O autor, 2019.

Após a remoção da fibra de vidro, foi observado sinal analítico para o endosulfan álcool, em concentrações inferiores a 250 ng mL^{-1} . Considerando que a o processo de injeção seja responsável pela maior parte dos problemas de repetitividade e resposta analítica cromatográfica, e que esse tema seja pouco abordado na literatura, os resultados obtidos demonstram a relevância do estudo realizado (VON MÜHLEN E MARRIOTT, 2016). Mol *et al.* (1995) concluem que o uso de lã de vidro nos liner degradam facilmente compostos polares como o endosulfan álcool em injetores com temperatura de vaporização programada.

Buscou-se aumentar a resolução cromatográfica na segunda dimensão. A troca da coluna cromatografia da 2ª dimensão, coluna Rtx-17 ($0,74 \text{ m} \times 0,1 \text{ mm} \times 0,1 \mu\text{m}$) com (Rxi-17Sil de $1,0 \text{ m} \times 0,15 \text{ mm} \times 0,15 \mu\text{m}$). A mudança da coluna da segunda dimensão alterou o cromatograma do método 3 devido a diferença de diâmetro do capilar e a espessura do filme, sendo necessário a contínua melhoria da metodologia. As imagens cromatográficas a seguir mostram a diferença entre as colunas da segunda dimensão (Figura 27 e 28).

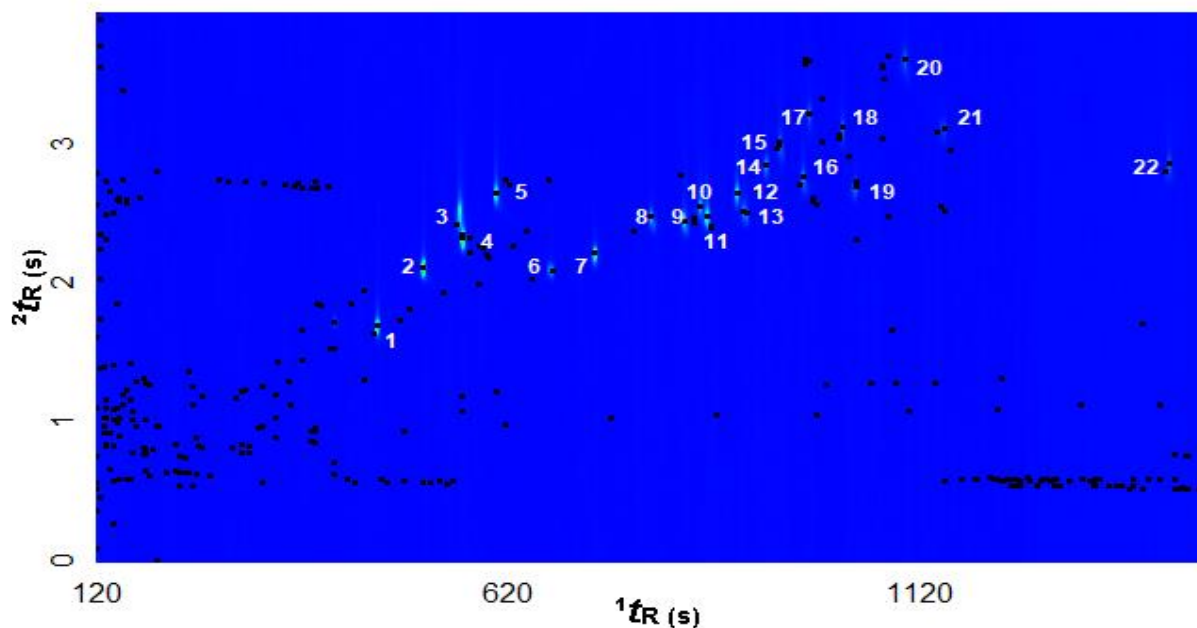


Figura 27 - Cromatograma com a coluna Rtx-17.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

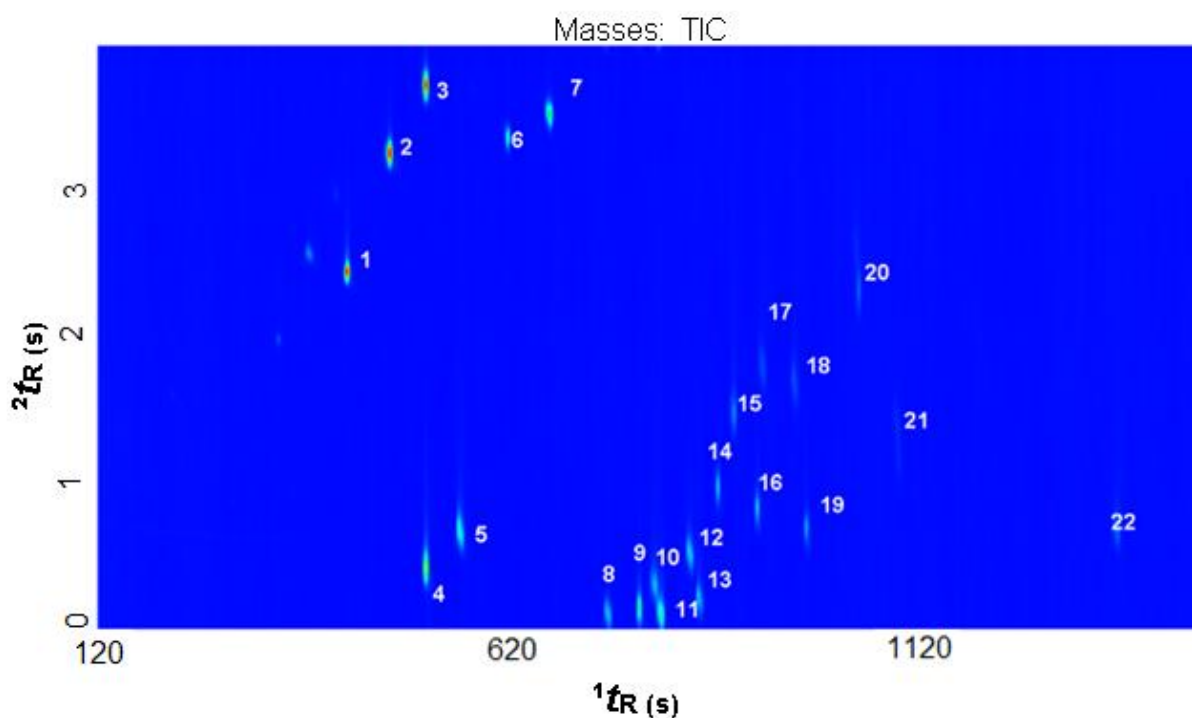


Figura 28 - Cromatograma com coluna nova Rxi-17Sil-MS.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

Com o ajuste da rampa de temperatura, fez necessário uma nova alteração. Para melhorar o enquadramento, a diferença de temperatura do primeiro e segundo forno foi ajustada de 20°C para 30°C e o período de modulação subiu de 4 para 5 s criando o método 4 (Figura 29). Com ajuste da modulação, os jatos também ajustaram-se ao novo método.

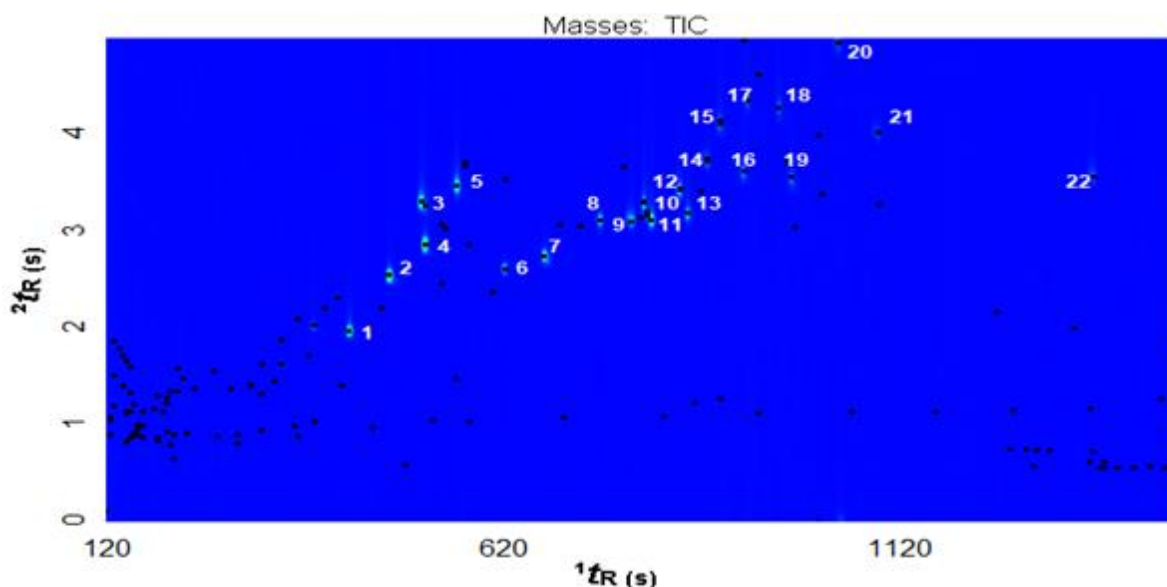


Figura 29 - Ajuste feito na metodologia com a coluna Rxi-17SiIMS.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro, 22. Decaclorodifenil.

Fonte: O autor, 2019.

O enquadramento dos picos no cromatograma mostrou o ajuste da metodologia (método 4) e reduziu o tempo de análise de 37 min para 24 min de análise conforme já ajustado no método 3.

Com o intuito de reduzir o tempo de análise, outra metodologia foi desenvolvida com uma rampa de temperatura de 20 °C.min⁻¹, de 75 °C à 250 °C durante a análise, mantendo os demais parâmetros inalterados. Após tentativa, um método de 13 min foi desenvolvido (método 5). Apesar da melhoria no tempo, notou-se que nesta configuração o decaclorobifenil, não foi detectado no cromatograma, sendo necessário o aumento da temperatura final até sua detecção. Outro parâmetro observado foi a modulação. Na configuração do método, não é mais necessária modulação 5s, sendo reduzido para 3s novamente conforme mostra a Figura 30.

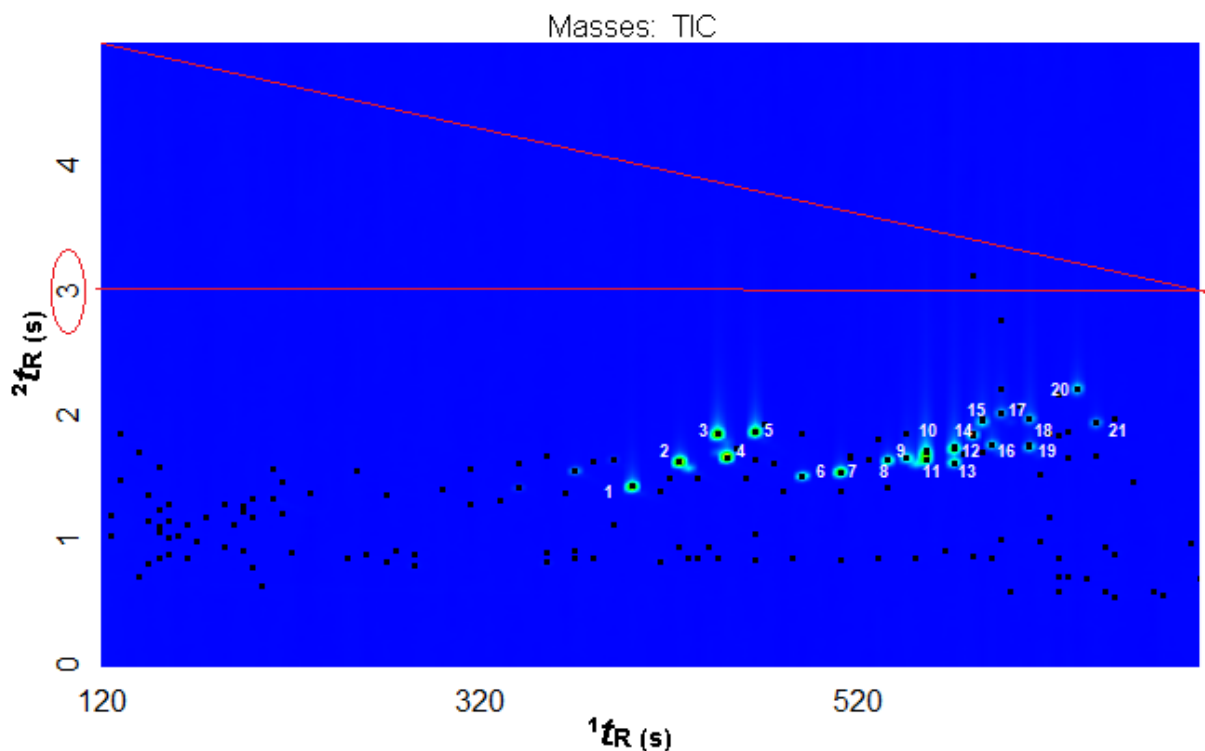


Figura 30 - Cromatograma do método 5.

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Heptacloro, 7. Aldrin, 8. Epóxido de heptacloro, 9. trans-Clordano, 10. alfa endosulfan, 11. Clordano, 12. Dieldrin, 13. 4,4' DDE, 14. Endrin, 15. beta endosulfan, 16. 4,4' DDD, 17. Endrin aldeído, 18. Sulfato de endosulfan, 19. 4,4' DDT, 20. Endin cetona, 21. Metoxicloro.

Fonte: O autor, 2019.

Para incluir o pico do decaclorobifenil, a temperatura final foi ajustada de 250 °C para 280 °C novamente. Além disso, o jato quente de 1 s, foi para 0,6 s e jato frio ajustado de 1,5 s para 0,9 s. Para fins de economia de consumíveis, o fluxo de hélio foi reduzido de 1,4 para 1 mL min⁻¹.

Para finalizar o método GC, a temperatura de 75 °C foi mantida por 0,5 min apenas, completando o método final com o tempo de análise de 11,75 min. O tempo de espera antes da ativação do detector foi aumentado de 2 min para 5 min para diminuir o consumo do filamento.

Todos os analitos do mix EPA 8081, endosulfan álcool, lactona e eter foram detectados na metodologia desenvolvida (Figura 31). Picos que não apresentaram separação cromatográfica efetiva puderam ser resolvidos pela deconvolução matemática dos espectros de massas obtidos pela espectrometria de massa por tempo de voo. As diferentes massas dos analitos permitem sua identificação e quantificação.

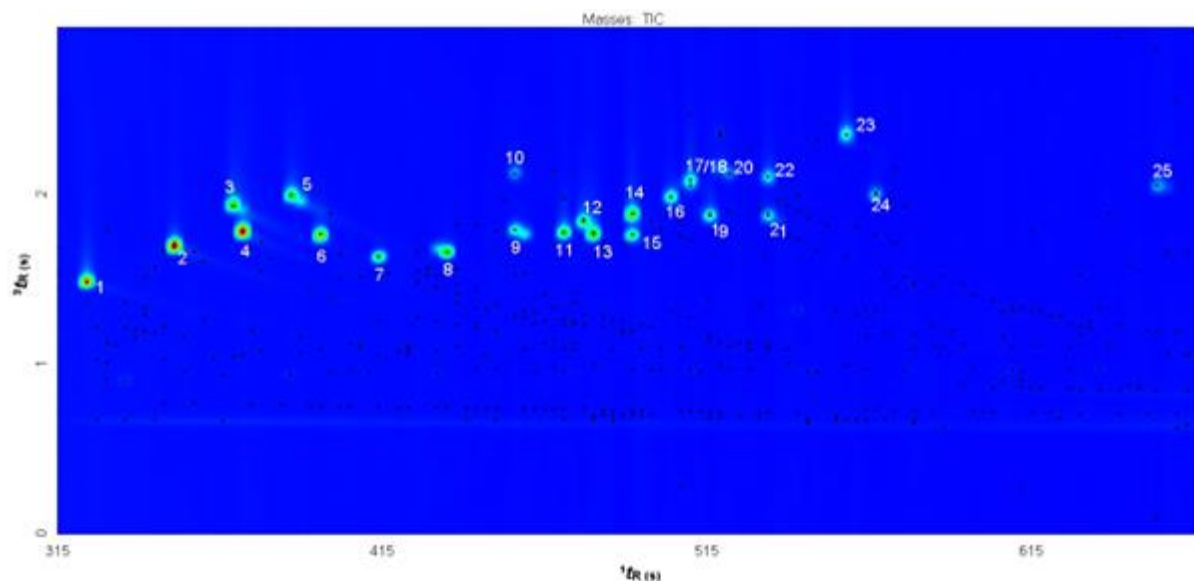


Figura 31 - Padrão mix com 25 analitos de $3 \mu\text{g mL}^{-1}$ no Método 6 (2019).

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Endosulfan éter, 7. Heptacloro, 8. Aldrin, 9. Epóxido de heptacloro, 10. Endosulfan lactona, 11. trans-Clordano, 12. alfa endosulfan, 13. Clordano, 14. Dieldrin, 15. 4,4' DDE, 16. Endrin, 17. Endosulfan álcool, 18. beta endosulfan, 19. 4,4' DDD, 20. Endrin aldeído, 21. 4,4' DDT, 22. Sulfato de endosulfan, 23. Endin cetona, 24. Metoxicloro, 25. Decaclorobifenil.

Fonte: O autor, 2021.

A metodologia também teve ganho de resposta analítica. Comparados com o método 3 o aumento de área do pico são notáveis nas mesmas concentrações analisadas conforme Tabela 5.

Tabela 5 - Áreas dos picos dos padrões em diclorometano na concentração de 100 ng mL^{-1} em metodologias diferentes (métodos 3 e 6).

Analitos	Método 3	Método 6
Tetracloro m-xileno	4314	54367
alfa BHC	4383	54391
delta BHC	5081	41362
beta BHC	0	24025
gama BHC	1755	36871
Endosulfan éter	N.A	132222
Heptacloro	3941,8	41557
Aldrin	7178,2	64826
Epóxido de heptacloro	3708,7	35271
Endosulfan lactona	N.A	2714,5
trans-Clordano	903	13896
alfa Endosulfan	384,61	6570,8
Clordano	1075,5	12232
Dieldrin	7038,6	62584
4,4' DDE	2516,9	28880
Endrin	1266	14255
Endosulfan álcool	N.A	0
beta Endosulfan	912,56	28717
4,4' DDD	2680,9	41836
Endrin Aldeído	2704,5	20620
4,4' DDT	1723,1	23142
Sulfato de Endosulfan	0	5306,1

Endrin Cetona	1272,3	22394
Metoxicloro	2201,8	31050
Decaclorobifenil	0	6544,2

NA. Não analisado

Fonte: O autor, 2019.

Compostos como sulfato de endosulfan foram detectados no método 6, embora o endosulfan álcool ainda não possa ser analisado em concentrações muito baixas nas mesmas condições que os demais padrões.

A alteração da geometria da coluna ou seus parâmetros operacionais são essenciais para permitir execuções rápidas (BRUNELLI *et al.*, 2006; CAJKA *et al.*, 2008). A troca dos consumíveis e a escolha do solvente eliminaram ainda mais os interferentes aumentando a resposta para concentrações traço na ordem de partes por bilhão – ng mL⁻¹ junto com o aumento da tensão do detector e a escolha do volume de amostra.

Considerando o cromatograma obtido no método 2 para uma mistura padrão a 1 mg L⁻¹, ¹ω_b foi de 0,95 s, e ²ω_b foi de 332 ms para os 22 analitos detectados. O valor do ATPT foi de 79 ms pico⁻¹, usando um tempo de modulação de 4 s. No cromatograma obtido pelo método 6, o ¹ω_b médio foi de 1,12 s, e o ²ω_b foi de 185 ms considerando os 24 analitos detectados. Como resultado, o ATPT calculado para o método 6 foi de 69 ms pico⁻¹ com base no método descrito por von Mühlen *et al.* (2022), equação 2, ambos os métodos foram classificados como separações de hipervelocidade (região de hipervelocidade de 3,3 a 200 ms pico⁻¹).

As larguras dos picos na primeira dimensão foram maiores no método 6 do que no método 2 devido à redução do período de modulação de 4 para 3 s (resultando em mais amostragem por pico) e à aplicação de uma tensão de detector mais alta, ou seja, 300 eV em vez de 200 eV (resultando em mais modulações por pico com S/N detectável). Como resultado dessa otimização, o número médio de modulações por pico variou de 2,9 no método 2 para 6,2 no método 6. Por outro lado, as larguras dos picos bidimensionais foram mais estreitas devido à redução do período de modulação.

O ATPT também foi calculado para a mistura padrão de 100 ng mL⁻¹ no método 6. Nesse caso, ¹ω_b foi de 0,47 s e ²ω_b foi de 161 ms, atingindo um valor de ATPT de 25 ms pico⁻¹. Nesta concentração, obteve-se uma média de 3 modulações por pico. Não é esperado observar uma diferença significativa em ¹ω_b quando diferentes concentrações são aplicadas. Porém, é importante ressaltar que em concentrações traço, o número de picos modulados com S/N detectável será reduzido com

concentrações menores, principalmente os picos modulados menores, afetando o cálculo de $1\omega_b$. Além dos resultados do ATPT serem diferentes para as concentrações de traços, ambos os métodos foram classificados como separações de hipervelocidade.

Em relação a metodologia de referência, os resultados gerados atribuíram uma economia 4,4 vezes maior de hélio sem alteração significativa dos resultados devido a diminuição do fluxo em aproximadamente 30 % e a diminuição do tempo de análise em 3 vezes. Valores de ATPT apresentam uma queda de 3 vezes em relação ao método de origem na coluna de 10 m, sendo considerado hiper rápido conforme Tabela 2 (VON MÜHLEN *et al.*, 2022). O uso de modulador criogênico sem consumíveis, também adiciona economia nas análises, assim como as colunas 1D mais curtas, que podem ser repostas 3 vezes.

3.2 Validação do método.

Após a melhoria na seletividade de cada composto presente no padrão mix com 25 analitos de durante o desenvolvimento da metodologia analítica por GCxGC/TOFMS, foi avaliada a linearidade do método. À partir desse estudo, a metodologia fast desenvolvida (método 6) foi empregado.

A Figura 32 representa um dos analitos estudados e sua curva analítica.

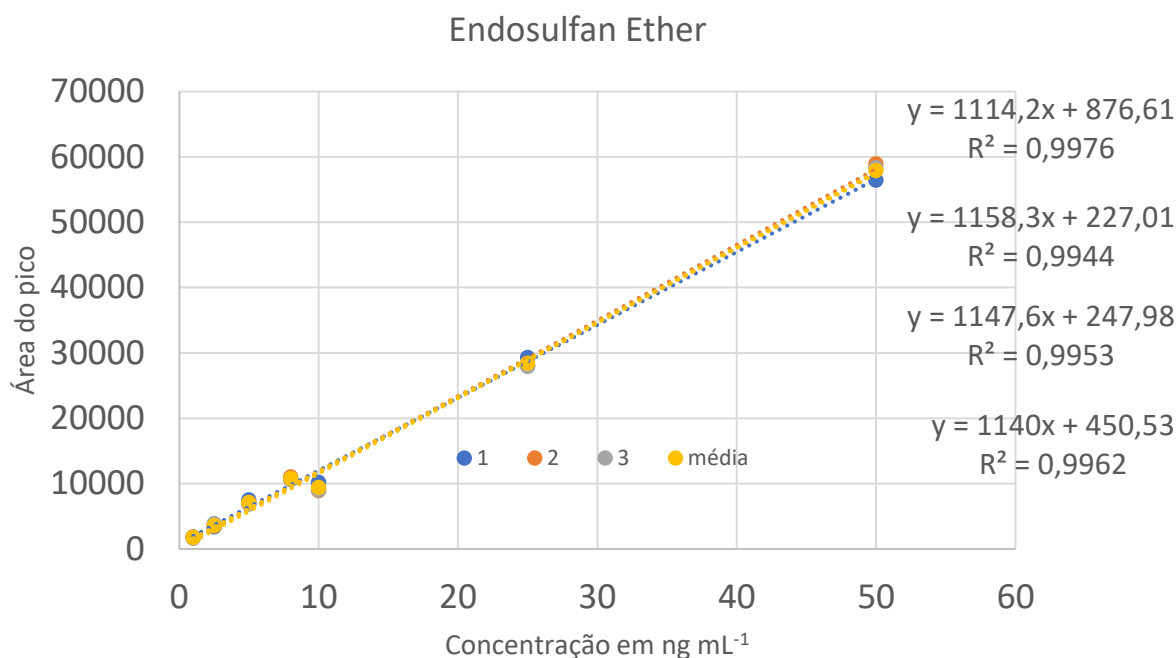


Figura 32 - Curva analítica do endosulfan éter.
Fonte: O autor, 2019

O gráfico apresenta 4 colorações diferentes que representam cada triplicata mais a média. Os dados utilizados na construção do mesmo são os mais próximos da concentração esperada na análise de uma amostra real. Foram utilizados no mínimo 5 pontos de concentração (concentrações de nível traço) para construir a curva, utilizando a relação linear simples, descrita pela equação $y = ax + b$. Com os resultados presentes (Apêndice B), obteve-se os coeficientes de regressão linear (coeficiente angular “a” e coeficiente linear “b”) e o coeficiente de determinação r^2 (RIBANI *et al.*, 2004).

A análise repetida dos padrões de calibração foi usada para avaliar a variabilidade nos tempos de retenção do analito. O desvio padrão relativo (% RSD) para o tempo de retenção dos pesticidas individuais variou entre 0 e 0,41 % e 0,26 à 0,86 % para os tempos de 1^a e 2^a dimensão. O baixo % RSD intra e inter-dia para tempos de retenção ($\leq 1,4$ %) e área de pico ($\leq 7,6$ %) relacionados aos compostos alvo indicam uma boa precisão do sistema cromatográfico (BRIGHENTI *et al.*, 2019). Os RSD% relacionados à área de pico dos 24 analitos estão entre 2,40 e 5,00 %.

Utilizando o padrão de alcanos, os resultados do índice de retenção variaram de 1563,8 até 3119, com uma pequena variação dos valores dos alcanos do C₁₆ ao C₃₀ devido a inclusão dos dados da segunda dimensão. Através dessa determinação,

foi criado um método de índice de retenção e feito o processamento dos dados dos analitos do padrão. Os resultados foram reunidos na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados obtidos para a validação do método 6. Tempo de retenção (TR), Massa, Coeficiente de determinação R², Limite de detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ), Concentração máxima validada (CMV), Índice de retenção (Ind. Ret.).

#	TR (s) 1D	TR (s) 2D	Massa M/Z	Equação	R ²	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)	CMV	Ind. Ret.
1	324	1,49	209	y = 0563,77x - 2362,5	0,9892	1,14	3,45	700	1640,9
2	351	1,69	111	y = 0447,63x + 0089,2	0,9910	1,20	3,64	700	1723,3
3	372	1,79	181	y = 0417,27x - 1536,7	0,9927	0,93	2,81	1000	1787,2
4	369	1,95	109	y = 0391,38x - 11782	0,9903	4,69	14,22	700	1787,6
5	387	1,99	111	y = 0330,42x - 1297,8	0,9929	2,74	8,30	500	1836,7
6	396	1,76	69	y = 1140,02x + 0450,5	0,9958	0,87	2,64	700	1865,9
7	414	1,63	100	y = 0406,11x - 1217,8	0,9943	2,55	7,72	1000	1928,3
8	432	1,66	66	y = 0574,49x - 0097,1	0,9970	1,73	5,25	700	1995,1
9	456	1,79	81	y = 0305,86x - 0256,3	0,9925	1,09	3,30	700	2076,0
10	456	2,13	239	y = 0030,23x - 0216,3	0,9907	17,96	54,43	700	2077,1
11	471	1,77	373	y = 0105,01x + 0085,6	0,9957	4,14	12,54	700	2128,8
12	477	1,86	195	y = 0058,53x - 0159,8	0,9906	13,15	39,85	700	2151,3
13	480	1,77	373	y = 0094,78x - 0024,3	0,9900	2,32	7,03	700	2162,1
14	492	1,76	246	y = 0299,65x - 1073,7	0,9917	1,70	5,15	1000	2207,3
15	492	1,88	79	y = 0522,89x + 0038,5	0,9932	0,39	1,18	500	2207,8
16	504	1,99	81	y = 0142,47x - 0297,7	0,9920	0,71	2,15	700	2258,3
17	510	2,06	69	y = 0133,90x - 74328	0,9901	173,74	526,49	-	2258,4
18	510	2,08	64	y = 0299,34x - 1000,3	0,9904	6,87	20,83	700	2283,7
19	516	1,88	235	y = 0411,75x - 1582,2	0,9915	1,65	5,00	1000	2307,8
20	519	2,16	67	y = 0210,45x - 0837,5	0,9929	2,51	7,60	500	2321,5
21	534	1,88	235	y = 0202,87x - 0729,4	0,9926	5,70	17,27	500	2382,8
22	534	2,11	272	y = 0057,77x - 0918,5	0,9932	16,38	49,64	700	2383,8
23	558	2,36	67	y = 0230,79x - 0782,6	0,9901	4,12	12,47	500	2484,9
24	567	2,02	227	y = 0294,99x - 1395,6	0,9919	2,66	8,06	500	2520,9
25	654	2,08	498	y = 0057,86x - 0141,5	0,9900	33,95	102,88	500	2921,1

*1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Endosulfan éter, 7. Heptacloro, 8. Aldrin, 9. Epóxido de heptacloro, 10. Endosulfan lactona, 11. trans-Clordano, 12. alfa endosulfan, 13. Clordano, 14. 4,4' DDE, 15. Dieldrin, 16. Endrin, 17. Endosulfan diol, 18. beta endosulfan, 19. 4,4' DDD, 20. Endrin aldeído, 21. 4,4' DDT, 22. Sulfato de endosulfan, 23. Endin cetona, 24. Metoxicloro, 25. Decaclorobifenil.

Fonte: O autor, 2022.

O critério mínimo aceitável do coeficiente de determinação (r²) deve ser = 0,99. E apenas o beta BHC não atingiu o valor estimado pela ANVISA (BRASIL, 2003), mas não será descartado neste estudo. O INMETRO (2003), através da DOQ-CGCRE-008, determina que o coeficiente de determinação mínima seja 0,9, tornando beta BHC aceitável. O endosulfan álcool, decaclorobifenil e beta BHC não atingiram o coeficiente de variação inferior a 5 % e também não serão descartados do estudo, considerando que não há norma regulamentadora a ser seguida. Em métodos de validação bioanalítico, Shah *et al.* (2000) afirmam que para validação de um método, além de no mínimo 5 amostras para determinação de concentração, a precisão não deve exceder 15 % do CV, exceto para baixos limites de quantificação que aceita-se até 20 %. Outros autores como Queiroz, Ferracini e Rosa (2012) desenvolveram e

validaram método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimento no Brasil com coeficiente de variação de até 20 %. Cada composto trabalhou na sua menor faixa de concentração obtida pelo método criado.

O script desenvolvido (Apêndice A) foi destinado à cada analito separadamente e a fonte de dados alterado para cada caso. Analitos com mais resultados terão maior número de linhas

A aplicação do teste de White (BERENGUER-RICO; WILMS, 2020) para homocedasticidade levou a resultados que indicaram que a hipótese de homocedasticidade foi aceita e o modelo de regressão linear simples é adequado para descrever a relação entre a resposta cromatográfica e as concentrações (Tabela 7).

Tabela 7 – Valores calculados para determinar homocedasticidade da curva analítica.

Analitos	R ²	R ² Resíduos	Teste White	Teste Qui-Q 5%	Teste Qui-Q 1%
Tetracloro m-xileno	0,991	0,999	12,987		
alfa BHC	0,997	0,998	12,971		
delta BHC	0,995	1,000	8,000		
beta BHC	0,989	1,000	12,999		
gama BHC	0,991	1,000	10,000		
Endosulfan éter	0,993	0,999	13,984		
Heptacloro	0,994	0,999	11,985		
Aldrin	0,995	0,998	12,972		
Epóxido de heptacloro	0,994	0,995	12,940		
Endosulfan lactona	0,995	1,000	8,000		
trans-Clordano	0,983	1,000	11,998		
alfa Endosulfan	0,996	1,000	8,000		
Clordano	0,976	1,000	11,999	<16,918	<21,665
Dieldrin	0,987	1,000	11,999		
4,4' DDE	0,989	0,998	12,980		
Endrin	0,997	1,000	12,000		
Endosulfan álcool	0,986	1,000	6,000		
beta Endosulfan	0,998	1,000	8,000		
4,4' DDD	0,999	0,999	12,992		
Endrin Aldeído	0,996	1,000	11,000		
4,4' DDT	0,994	1,000	8,000		
Sulfato de Endosulfan	0,997	1,000	8,000		
Endrin Cetona	0,995	1,000	10,000		
Metoxicloro	0,996	1,000	11,996		
Decaclorobifenil	0,999	1,000	8,000		

Fonte: O autor, 2021.

As análises estatísticas determinaram que os valores calculados foram inferiores ao equivalentes a 5% de significância para o teste White. Os efeitos da matriz (EM) para todos os analitos analisados, foram em média de 13,6 %. Os efeitos da matriz foram considerados suaves ($-15\% < EM < 15\%$).

A Figura 33 ilustra o estudo do efeito matriz na separação GCxGC. Neste exemplo, o extrato da amostra mais complexa foi fortificado com a mistura padrão de 100 ng mL⁻¹. A maioria dos compostos presentes na matriz foi separada da região do analito na segunda dimensão e não foram observados picos de coeluição. Este

resultado demonstra que a abordagem de cromatografia rápida é recomendada apenas em uma separação GCxGC, uma vez que uma coeluição severa será observada em uma separação cromatográfica unidimensional.

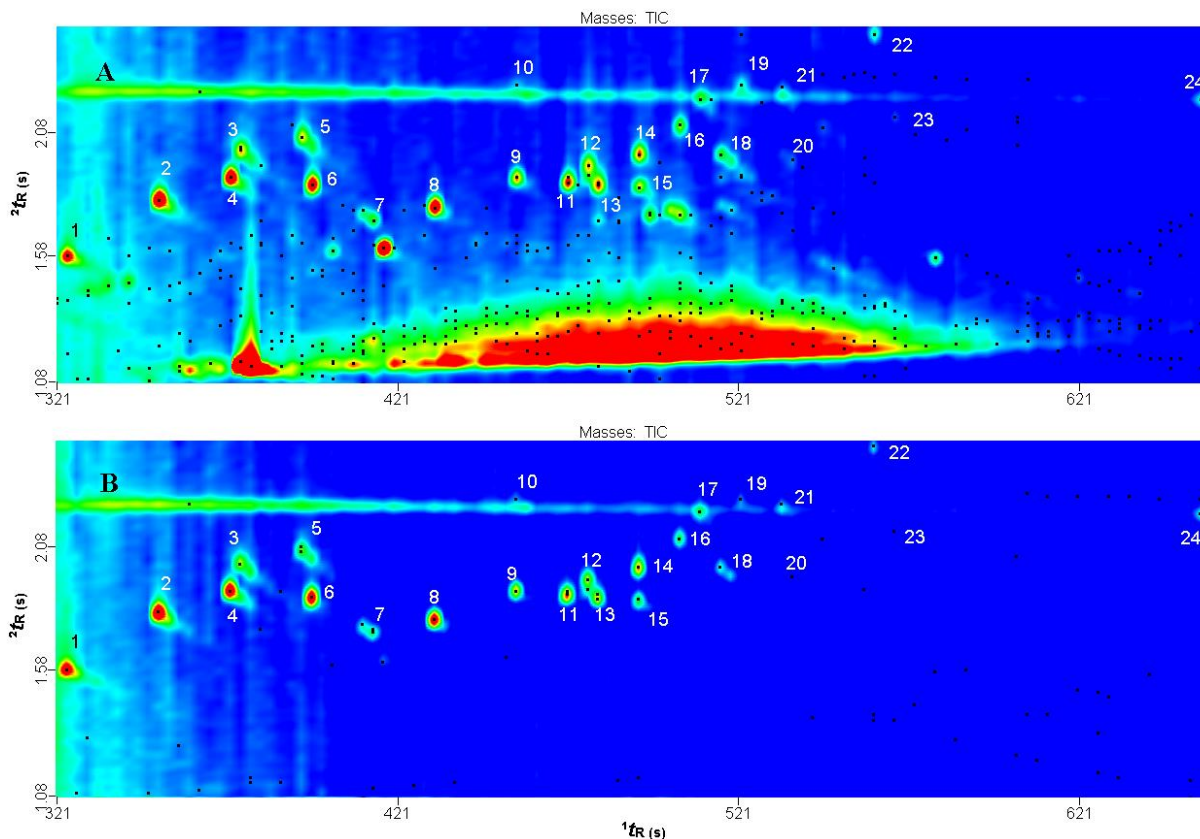


Figura 33 - Cromatogramas de extrato de amostra do ponto 5 fortificado com padrões analíticos (A), e mistura de padrão na mesma concentração (B)

Legenda: *1. Tetracloro m-xileno, 2. alfa BHC, 3. delta BHC, 4. beta BHC, 5. gama BHC, 6. Endosulfan éter, 7. Heptacloro, 8. Aldrin, 9. Epóxido de heptacloro, 10. Endosulfan lactona, 11. trans-Clordano, 12. alfa endosulfan, 13. Clordano, 14. Dieldrin, 15. 4,4' DDE, 16. Endrin, 17. beta endosulfan, 18. 4,4' DDD, 19. Endrin aldeído, 20. 4,4' DDT, 21. Sulfato de endosulfan, 22. Endin cetona, 23. Metoxicloro, 24. Decaclorobifenil.

Fonte: O autor, 2022.

3.3 Validação dos métodos de extração

3.3.1 Método de extração para as amostras de água superficial

O método validado para a extração das amostras de água superficial foi a extração em fase sólida (SPE). Os extratos obtidos do branco do processo de extração, onde todo o processo foi executado sem a adição de padrão, foram analisados pelo método 6. O branco do método de extração não obteve nenhum pico dos analitos presentes no padrão utilizado em todas as duplicatas. Os ensaios preliminares de recuperação geraram resultados que podem ser observados na

Tabela 8. Os frascos A, B e C representam 3 amostras diferentes com o mesmo nível de fortificação para os primeiros ensaios.

Tabela 8 - Resultados das recuperações preliminares das extrações realizadas em comparação ao padrão

Analito	Massa M/Z	A %	B %	C %	T %	CV %
Tetracloro m-xileno	209	-	-	-	-	37%
alfa BHC	111	288%	213%	243%	248%	15%
delta BHC	109	94%	88%	134%	105%	22%
beta BHC	181	276%	218%	354%	283%	22%
gama BHC	111	90%	80%	126%	99%	23%
Endosulfan éter	69	232%	192%	304%	242%	21%
Heptacloro	100	125%	111%	176%	137%	23%
Aldrin	66	90%	97%	158%	115%	29%
Epóxido de heptacloro	81	93%	90%	139%	107%	23%
Endosulfan lactona	239	82%	79%	104%	88%	15%
trans-Clordano	373	89%	87%	131%	102%	22%
alfa Endosulfan	195	75%	68%	97%	80%	54%
Clordano	373	90%	77%	129%	99%	25%
Diieldrin	246	73%	83%	121%	92%	25%
4,4' DDE	79	84%	84%	125%	98%	22%
Endrin	81	42%	41%	120%	68%	61%
Endosulfan álcool	69	137%	154%	116%	136%	72%
beta Endosulfan	64	109%	76%	90%	92%	26%
4,4' DDD	235	99%	81%	128%	103%	21%
Endrin Aldeído	67	-	-	-	-	31%
4,4' DDT	272	47%	42%	144%	78%	84%
Sulfato de Endosulfan	235	76%	67%	92%	79%	15%
Endrin Cetona	67	89%	90%	112%	97%	13%
Metoxicloro	227	64%	77%	102%	81%	22%
Decaclorobifenil	498	0%	0%	69%	23%	155%

Fonte: O autor, 2019.

Os valores tabelados mostram que os níveis de recuperação não se mostram satisfatórios com diferenças nos resultados realizados nas duplicatas das amostras de extração A, B e C. Esta variação de A, B e C pode ser confirmada com o resultado do CV demonstrando uma variação significativa entre eles. Esta distinção nas amostras sugerem perda de analitos durante o processo de extração e injeção. Outra questão observada são o tetracloro m-xileno e o endrin aldeído que não foram detectados no padrão.

Resultados em triplicata do padrão não apresentaram variação acima do recomendado (Brasil 2003), excluindo problemas na injeção. Os resultados das

recuperações mostram uma interação dos analitos com as paredes da vidraria utilizada na fase de extração. Com variações altas entre as réplicas, novos ensaios foram realizados logo após a pandemia SARS-CoV-2 utilizando novas vidrarias. Balões volumétricos foram substituídos por funis de separação para facilitar a transferência da amostra para o cartucho de extração e lavados segundo procedimentos descritos na metodologia.

Para diminuir a interação dos analitos com a parede do vidro, foi acrescentado um procedimento de silanização da vidraria. A interação dos compostos com a vidraria não permitiu a adequada eluição dos analitos no solvente tendo perdas significativas e resultados com elevados valores de CV.

Após o procedimento, os resultados foram significativamente melhores, com CV abaixo de 20 % para a maioria dos compostos conforme os ensaios demonstrados pela Tabela 9, demonstrando a importância do preparo de todas as etapas da extração, inclusive a silanização das vidrarias.

Tabela 9 – Valores referentes a área do pico das réplicas do frasco A, B e C de água fortificada na concentração 100 ng mL⁻¹ (n=3). Destaque para o endosulfan.

Pesticidas	Média A	RSD	Média B	RSD	Média C	RSD	Média Amostral	RSD
Tetracloro m-xileno	15,65	19,7	77,64	8,4	19,06	5,8	37,45	81,2
alfa BHC	84,19	5,7	97,79	4,6	63,89	3,6	81,96	18,5
delta BHC	94,43	3,0	118,22	3,0	77,03	8,7	96,56	19,0
beta BHC	95,24	18,7	108,59	4,5	117,19	5,7	107,01	12,8
gama BHC	113,52	2,3	115,55	5,5	117,03	12,3	115,36	7,1
Endosulfan éter	111,83	5,4	115,14	2,1	90,47	3,5	105,81	11,5
Heptacloro	27,11	13,6	27,01	4,3	17,62	5,2	23,91	21,4
Aldrin	16,99	11,1	58,35	3,8	35,88	4,8	37,07	48,6
Epóxido de heptacloro	97,11	5,9	112,86	3,4	91,38	3,2	100,45	10,3
Endosulfan lactona	115,30	7,3	117,71	2,9	115,76	2,7	116,26	4,2
trans-Clordano	47,19	4,0	99,76	7,2	79,19	12,6	75,38	31,5
alfa Endosulfan	114,36	2,6	119,71	2,4	112,07	5,8	115,38	4,5
Clordano	63,87	8,9	98,62	2,4	96,10	4,8	86,19	20,0
Dieldrin	104,28	2,2	122,30	2,8	123,26	2,3	116,61	8,2
4,4' DDE	18,89	8,2	69,74	3,5	51,53	7,7	46,72	48,1
Endrin	96,02	5,5	101,91	6,3	107,60	9,5	101,84	8,1
beta Endosulfan	86,10	1,7	96,98	17,1	88,06	3,2	90,38	10,9
4,4' DDD	58,82	1,1	88,78	0,6	89,87	2,9	79,16	19,4
Endrin Aldeído	78,14	5,1	91,94	4,7	98,74	9,0	89,61	11,8
4,4' DDT	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0
Sulfato de Endosulfan	109,67	6,6	109,61	3,0	115,67	5,4	111,65	5,3
Endrin Cetona	104,00	8,0	121,90	4,5	126,40	1,3	117,43	9,7
Metoxicloro	73,17	2,9	96,09	7,2	98,58	5,2	89,28	14,5
Decaclorobifenil	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0

Fonte: O autor, 2021.

Os analitos de endosulfan tiveram suas recuperações dentro da margem esperada e obtiveram precisão abaixo dos limites aceitáveis.

Com resultados validos na extração SPE, foram realizadas ensaios em concentrações de 200 e 300 ng mL⁻¹, conforme Tabela 10 e 11.

Tabela 10 – Valores referentes a área do pico das trélicas de água fortificada na concentração 200 ng mL⁻¹ (n=3). Destaque para o endosulfan.

Pesticidas	Média A	RSD	Média B	RSD	Média C	RSD	Média Amostral	RSD
Tetracloro m-xileno	10,54	8,7	19,15	8,3	30,15	6,3	21,23	43,2
alfa BHC	93,95	1,9	77,69	4,3	82,99	16,4	83,54	11,9
delta BHC	119,75	11,2	110,34	7,5	86,33	10,0	103,34	16,5
beta BHC	100,65	2,7	86,16	8,5	89,30	10,9	91,18	9,9
gama BHC	115,92	2,8	95,39	9,4	93,79	13,4	99,88	13,1
Endosulfan éter	101,86	10,3	85,95	5,0	85,98	11,4	90,72	120
Heptacloro	37,78	5,5	39,26	14,9	19,55	9,4	31,24	31,2
Aldrin	11,88	4,4	13,11	7,9	9,93	20,6	11,57	15,6
Epóxido de heptacloro	68,92	10,1	74,01	10,6	64,57	5,6	70,04	10,0
Endosulfan lactona	107,52	7,5	87,15	4,2	81,17	11,4	90,81	14,8
trans-Clordano	39,65	9,7	34,94	2,7	30,39	13,5	34,94	14,1
alfa Endosulfan	80,14	9,8	82,32	4,2	79,82	6,2	81,93	6,3
Clordano	44,99	11,3	40,60	1,2	31,96	13,7	39,19	17,0
Dieldrin	68,62	10,7	62,35	0,7	54,55	13,0	62,03	12,9
4,4' DDE	25,74	7,5	20,60	11,7	11,08	7,3	18,57	34,7
Endrin	77,20	7,9	79,34	2,4	65,65	6,4	74,53	10,0
beta Endosulfan	74,61	5,5	72,64	7,0	76,39	7,5	75,12	6,2
4,4' DDD	32,12	57,3	37,29	2,2	34,03	6,9	34,01	27,7
Endrin Aldeído	80,99	3,6	64,78	8,2	64,02	12,8	68,66	13,9
4,4' DDT	37,89	7,3	36,56	3,1	17,76	8,3	30,23	32,2
Sulfato de Endosulfan	106,54	11,0	75,81	6,8	81,65	13,5	87,32	18,7
Endrin Cetona	86,77	8,0	67,35	1,3	77,27	6,9	76,66	12,3
Metoxicloro	65,93	8,7	60,06	6,7	44,73	1,7	56,58	17,8
Decaclorobifenil	10,67	3,6	9,36	5,9	3,72	9,3	7,59	40,7

Fonte: O autor, 2021.

Tabela 11 – Valores referentes a área do pico das trélicas de água fortificada na concentração 300 ng mL⁻¹ (n=3). Destaque para o endosulfan.

Pesticidas	Média A	RSD	Média B	RSD	Média C	RSD	Média Amostral	RSD
Tetracloro m-xileno	36,07	7,1	22,05	6,4	23,35	7,9	25,82	25,5
alfa BHC	88,68	7,8	77,54	5,1	89,98	5,7	84,24	8,9
delta BHC	90,83	7,4	85,19	4,4	97,43	6,2	90,48	7,9
beta BHC	80,97	8,8	80,96	4,1	88,64	7,0	83,13	7,5
gama BHC	87,16	8,9	88,62	4,8	99,08	5,8	91,20	8,4
Endosulfan éter	94,04	8,7	94,24	3,7	98,83	5,3	95,05	5,9
Heptacloro	31,43	8,9	35,33	4,0	37,07	7,3	34,71	9,4
Aldrin	12,98	9,4	18,56	2,1	11,88	9,7	14,51	22,2
Epóxido de heptacloro	94,51	8,8	92,75	4,3	89,18	7,7	90,98	6,8
Endosulfan lactona	96,11	9,9	98,34	3,6	103,38	8,8	98,44	7,6
trans-Clordano	46,65	14,0	51,66	4,8	44,04	6,5	46,64	10,6
alfa Endosulfan	84,93	9,5	87,38	8,2	75,62	6,8	81,50	9,7
Clordano	57,68	8,7	57,00	4,8	49,27	6,5	53,71	9,5
Dieldrin	92,57	9,4	87,78	7,2	68,43	11,2	80,79	15,5
4,4' DDE	24,91	15,1	25,65	11,2	22,67	13,1	23,82	12,7
Endrin	94,20	12,3	95,72	6,0	84,36	8,8	89,62	10,0
beta Endosulfan	84,16	11,3	88,38	0,9	75,55	3,7	81,42	9,1
4,4' DDD	70,59	7,4	59,00	5,1	54,37	3,7	59,65	12,9
Endrin Aldeído	85,38	11,6	74,48	5,5	65,68	3,0	72,75	13,5
4,4' DDT	30,19	7,2	23,19	22,6	24,64	11,4	25,79	17,3
Sulfato de Endosulfan	90,03	9,5	95,56	3,3	97,77	7,3	94,02	7,1
Endrin Cetona	85,11	12,8	78,27	9,1	92,32	5,7	84,07	10,9
Metoxicloro	62,37	5,7	57,18	4,2	50,96	11,1	56,30	10,7
Decaclorobifenil	4,45	11,7	4,54	6,0	5,92	1,0	4,96	15,5

Fonte: O autor, 2021.

Analisando todas as tabelas, resume-se que os analitos de endosulfan obtiveram resultados satisfatórios constatando a validação do método de extração para estes analitos entre outros, segundo Ribani *et al.* (2004), que determina valores entre 70 e 120 % de recuperação e CV abaixo de 20 %. Dependendo da complexidade da amostra, pode-se aceitar recuperações acima de 50 % com CV abaixo de 15 %. Os demais analitos com resultados validados são dieldrin, endrin, endrin aldeído, endrin cetona, epóxido de heptacloro, metoxicloro, alfa, beta, delta e gama BHC.

Outros analitos não obtiveram os valores mínimos de recuperação. São eles: tetracloro m-xileno, heptacloro, aldrin, trans-clordano, clordano, DDD, DDE, DDT e decaclorobifenil com recuperações variando de 4,96 a 46,64 %. Vassilakis, Tsipi, Scoullou (1998) obtiveram menores recuperações para aldrin e DDD, além do metabólito endrin e α -BHC que obtiveram melhores resultados neste estudo. Segundo Akerblom (1995) as recuperações em DDE e DDT são mais baixas, pois são atribuídas à absorção em C_{18} , que retém compostos menos hidrofóbicos. Kida, Ziembowicz e Koszelnik (2018) obtiveram recuperações entre 78 a 124 % dos mesmos compostos, porém tanto eles quanto Vassilakis, Tsipi e Scoullou utilizaram um procedimento de extração similar, com solução de hexano na etapa de eluição, o que explica a diferença nas recuperações. O uso de diclorometano na eluição tem objetivo de extrair o isômero endosulfan álcool (mais hidrofílico) além dos outros 24 analitos. O endosulfan álcool, porém, devido a pandemia, não foi testado por conta da deterioração do padrão analítico.

3.3.2 Método de extração de amostras de sedimento

O método validado para a extração de sedimentos utilizou a metodologia QuEChERS. Nas análises cromatográficas dos extratos do branco do método de extração não foram detectados pico dos analitos estudados no padrão utilizado em todas as amostras. Três amostras (A, B e C) foram fortificadas com padrão 50, 100 e 150 ng g⁻¹ e testadas. Cada amostra foi analisada 3 vezes para determinar valores de CV. Os resultados das análises mostraram pouca variabilidade entre as réplicas de cada amostra, assim como entre as amostras em si. As médias das áreas da triplicata de cada amostra, juntamente com os valores médios do padrão, percentual de recuperação e CV podem ser observados na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores referentes a área do pico das tréplicas das amostras A, B e C de sedimento na concentração 50 µg kg⁻¹ (n=3). Com destaque para endosulfan

Analito	Massa M/Z	Média A	Média B	Média C	Média total	Padrão ng mL ⁻¹	125	Recup. %	CV %
Tetracloro m-xileno	209	36999,33	37260,67	40251,67	38170,56	53561		71,27	6,3
alfa BHC	111	53383,67	52265,67	52189,00	52612,78	51699		101,76	5,97
delta BHC	109	37137,00	35235,00	35635,33	36002,44	37458		96,11	6,28
beta BHC	181	44768,00	42712,00	41447,67	42975,89	44407		96,77	6,41
gama BHC	111	27756,00	32573,00	29792,67	30040,56	27840		107,90	15,43
Endosulfan éter	69	190623,70	189827,30	184130,30	188193,80	179118		105,06	5,79
Heptacloro	100	26154,67	25682,00	24935,00	25590,56	29160		87,75	5,33
Aldrin	66	76902,00	85390,67	75824,00	79372,22	87009		91,23	11,39
Epóxido de heptacloro	81	35397,33	34990,00	34263,67	34883,76	37114		93,98	8,02
Endosulfan lactona	239	2412,76	2584,1	2542,93	2513,26	2332		107,76	8,27
trans-Clordano	373	15542,33	16576,00	15356,33	15824,89	17980		88,01	8,20
alfa Endosulfan	195	6060,00	6197,43	5872,83	6043,42	5897		102,48	10,16
Clordano	373	14232,67	14289,67	13443,00	13988,44	17391		80,43	5,96
Dieldrin	246	55058,67	5504,67	52243,00	54115,11	60284		89,76	7,46
4,4' DDE	79	30139,33	29663,33	27626,00	29142,89	27810		104,79	7,04
Endrin	81	8592,40	8607,40	8534,23	8578,01	7259		118,15	7,35
beta Endosulfan	64	11337,67	11248,67	11786,33	11457,56	11568		99,04	6,83
4,4' DDD	235	32505,00	32401,00	29622,00	31509,33	32251		97,70	6,59
Endrin Aldeído	67	2793,00	3201,23	2975,63	2989,96	18911		15,81	11,45
4,4' DDT	272	5372,86	5070,26	4566,43	5003,19	8493		58,90	17,47
Sulfato de Endosulfan	235	3594,53	3663,73	3682,93	3647,07	4074		89,50	10,22
Endrin Cetona	67	13609,00	13390,00	12507,33	13168,78	18911		71,54	5,54
Metoxicloro	227	4706,97	4186,10	3398,30	4097,12	4648		88,14	19,62
Decaclorobifenil	498	4784,30	5021,00	4455,10	4753,47	10197		46,61	7,56

Fonte: O autor, 2021.

Todos os compostos exceto endrin aldeído e decaclorobifenil obtiveram valores satisfatórios. Devido aos resultados da Tabela 12, extrações em concentrações diferentes foram realizadas, conforme Tabela 13 e 14.

Tabela 13 – Valores referentes a área do pico das tréplicas de sedimento na concentração 100 µg kg⁻¹ (n=3). Destaque para o endosulfan.

Analito	Massa M/Z	Média A	Média B	Média C	Média total	Padrão ng mL ⁻¹	250	Recup. %	CV %
Tetracloro m-xileno	209	70462,00	46772,67	68612,33	61949,00	122183		50,70	19,36
alfa BHC	111	73461,00	68976,67	82294,00	74910,56	92230		81,22	8,69
delta BHC	109	58679,67	51210,67	67227,67	59039,33	73711		80,10	12,43
beta BHC	181	69409,33	67768,33	84158,00	73778,56	94451		78,11	11,16
gama BHC	111	50463,33	44742,33	59204,33	51470,00	59896		85,93	15,07
Endosulfan éter	69	253192,33	228097,00	270795,33	250694,89	271587		92,31	8,10
Heptacloro	100	40332,67	36757,67	44085,00	40391,78	55676		72,55	8,76
Aldrin	66	116314,67	108095,67	138905,67	121105,33	130503		92,80	12,49
Epóxido de heptacloro	81	56328,33	55359,00	66438,00	59375,11	63189		93,96	10,55
Endosulfan lactona	239	5621,77	5731,77	5950,53	5768,02	6289		91,72	7,21
trans-Clordano	373	37811,33	35142,67	38753,67	37235,89	38111		97,70	6,18
alfa Endosulfan	195	13039,00	11828,33	12723,33	12530,22	14625		85,67	7,35
Clordano	373	34802,67	31849,00	35056,00	33902,56	35384		95,81	6,66
Dieldrin	246	94762,67	88029,67	106349,33	96380,56	99844		96,53	10,66
4,4' DDE	79	71168,33	65152,67	69854,00	68725,00	67791		101,38	6,90
Endrin	81	16871,00	15368,00	18229,67	16822,89	15066		111,66	11,80
beta Endosulfan	64	21783,67	20246,67	19732,33	20587,56	24275		84,81	8,21
4,4' DDD	235	78993,33	73681,67	72008,33	74894,44	79371		94,36	7,41
Endrin Aldeído	67	7485,67	6743,83	7971,53	7400,34	29968		24,69	9,81
4,4' DDT	272	12817,33	12096,33	12550,00	12487,89	24024		51,98	4,71
Sulfato de Endosulfan	235	9391,43	9758,73	9368,33	9506,17	10767		88,29	6,63
Endrin Cetona	67	26827,00	26784,67	32895,67	28835,78	33582		85,87	13,03
Metoxicloro	227	12282,00	12769,00	10494,00	11848,33	20617		57,47	9,52
Decaclorobifenil	498	14587,67	12903,67	13431,00	13640,78	21796		62,58	9,63

Fonte: O autor, 2021.

Tabela 14 – Valores referentes a área do pico das tréplicas de sedimento na concentração 200 µg kg⁻¹ (n=3). Destaque para o endosulfan

Analito	Massa M/Z	Média A	Média B	Média C	Média total	Padrão 500 ng mL ⁻¹	Recup. %	CV %
Tetracloro m-xileno	209	198412,67	173420,33	152426,33	174753,11	260981	66,96	11,49
alfa BHC	111	233812,33	194119,67	184450,67	204127,56	209482	97,44	11,42
delta BHC	109	200581,67	159727,33	166284,33	175531,11	173083	101,41	11,51
beta BHC	181	245607,33	204417,00	206292,00	218772,11	200886	108,90	9,76
gama BHC	111	170830,33	157571,00	161153,67	163185,00	139191	117,24	4,49
Endosulfan éter	69	673790,67	617707,00	608653,00	633383,56	591764	107,03	5,08
Heptacloro	100	115603,33	92476,33	100402,00	102827,22	127735	80,50	9,97
Aldrin	66	316553,00	270487,67	295125,00	294055,22	279250	105,30	7,46
Epóxido de heptacloro	81	168123,33	147327,67	147809,67	154420,22	139473	110,72	7,10
Endosulfan lactona	239	15358,00	13338,00	14282,67	14326,22	15889	90,16	7,72
trans-Clordano	373	94923,33	91023,33	99657,67	95201,44	84155	113,13	4,39
alfa Endosulfan	195	36183,67	34621,33	35482,33	35429,11	31272	113,29	4,55
Clordano	373	98329,67	84435,00	89896,00	90886,89	79060	114,96	7,18
Dieldrin	246	275157,67	247298,33	246749,67	256401,89	231024	110,98	6,08
4,4' DDE	79	194914,33	179540,33	197068,67	190507,78	166533	114,40	5,51
Endrin	81	47567,67	43651,33	46577,67	45932,22	40013	114,79	5,56
beta Endosulfan	64	57963,67	58358,33	58934,33	58418,78	69176	84,45	3,53
4,4' DDD	235	223756,67	214991,67	227976,33	222241,56	199622	111,33	3,73
Endrin Aldeído	67	15435,33	23654,33	19633,33	19574,33	78213	25,03	19,77
4,4' DDT	272	34450,67	33565,67	36789,33	34935,22	72022	48,51	7,99
Sulfato de Endosulfan	235	30475,67	26512,33	27755,33	28247,78	26512	106,55	7,03
Endrin Cetona	67	76737,33	72481,33	72453,33	73890,67	77507	95,33	5,28
Metoxicloro	227	35812,33	34761,33	36383,67	35652,44	76508	46,60	5,05
Decaclorobifenil	498	35418,33	31314,00	39201,67	35311,33	48014	73,54	10,29

Fonte: O autor, 2021.

Os analitos de endosulfan obtiveram recuperações entre 84 a 113 %, validando o método para extração segundo Ribani *et al.* (2004). Outros 14 analitos também foram validados obtendo recuperações entre 71,3 a 117,2 %. Dentre todos os metabólitos analisados, o endrin aldeído obteve resultados inferiores a 30 %, não sendo compatível com a metodologia de extração escolhida. Belarbi, *et al.* (2021) explica que a ausência de qualquer traço de Endrin Aldeído pode ser atribuída pelo uso de sorvente PSA. Baixas recuperações de DDT e metoxicloro podem estar relacionadas à deterioração do padrão como na pesquisa de Cherta *et al.* (2012). Outros analitos não tiveram recuperações aceitáveis em uma ou duas concentrações testadas, portanto os resíduos não foram avaliados com robustez.

Os efeitos da matriz (EM) foram demonstrados na comparação dos valores de recuperação em matriz água e a matriz sedimento. Este método é usado para compensar o efeito da matriz ou de possíveis interferentes e é de suma importância em determinações quando a matriz pode interferir na pré-concentração, extração, separação ou detecção da substância de interesse (RIBANI *et al.* 2004). Os valores podem ser demonstrados na Tabela 15:

Tabela 15 – Recuperações em sedimento e água (n=3). Destaque para o endosulfan

Analito	Massa M/Z	50 µg kg ⁻¹		100 µg kg ⁻¹		200 µg kg ⁻¹		EM %
		Sedim	Água	sedim.	água	sedim.	água	
Tetracloro m-xileno	209	71,27	47,26	50,70	60,81	66,96	49,59	13,23
alfa BHC	111	101,77	91,23	81,22	100,37	97,44	80,26	1,47
delta BHC	109	96,11	67,80	80,10	96,46	101,41	82,05	9,37
beta BHC	181	96,78	82,94	78,11	125,54	108,90	87,63	-8,96
gama BHC	111	107,90	109,67	85,93	97,60	117,24	81,69	5,03
Endosulfan éter	69	105,07	74,57	92,31	118,14	107,03	104,70	1,07
Heptacloro	100	87,76	50,61	72,55	72,96	80,50	61,11	21,95
Aldrin	66	91,22	89,83	92,80	95,33	105,30	60,24	13,86
Epóxido de heptacloro	81	93,99	93,44	93,96	115,90	110,72	88,64	-0,94
Endosulfan lactona	239	107,76	87,95	91,72	119,35	90,16	108,69	-9,62
trans-Clordano	373	88,01	74,81	97,70	123,45	113,13	113,81	-3,99
alfa Endosulfan	195	102,48	79,17	85,67	118,52	113,29	106,62	-3,24
Clordano	373	80,43	70,42	95,81	120,97	114,96	118,37	-5,59
Dieldrin	246	89,77	67,98	96,53	121,44	110,98	107,68	0,48
4,4' DDE	79	104,79	87,06	101,38	118,52	114,40	108,13	1,83
Endrin	81	118,16	78,29	111,66	123,07	114,79	95,48	13,45
beta Endosulfan	64	99,04	90,23	84,81	84,40	84,45	78,95	5,30
4,4' DDD	235	97,70	77,17	94,36	121,22	111,33	108,55	-1,65
Endrin Aldeído	67	15,81	15,70	24,69	36,08	25,03	39,20	-34,02
4,4' DDT	272	58,90	30,83	51,98	24,60	48,51	43,55	36,85
Sulfato de Endosulfan	235	89,51	83,64	88,29	102,62	106,55	92,94	1,03
Endrin Cetona	67	71,55	78,97	85,87	99,17	95,33	95,59	-8,71
Metoxicloro	227	88,14	26,96	57,47	24,16	46,60	53,12	37,79
Decaclorobifenil	498	46,61	63,35	62,58	82,97	73,54	64,85	-18,89

Fonte: O autor, 2021.

Segundo Chatterjee *et al.* (2016), o efeito matriz pode ter 5 categorias: alta supressão de sinal (EM < -50 %), supressão moderada (-10 a -50 %), nenhum efeito matriz (-10 a 10%), realce moderado de sinal (10 a 50 %) e alto realce (EM > 50 %). Não observar-se efeito matriz significativo entre as matrizes levantadas na tabela acima, exceto para tetracloro m-xileno, heptacloro, aldrin, endrin, DDT, metoxicloro que tiveram aumento moderado de sinal e os compostos decaclorobifenil e endrin aldeído que perderam moderadamente sinal. Tanto em matriz água, quanto sedimento, os compostos de endosulfan obtiveram recuperações entre as faixas de 80 a 120%, não havendo EM significativo.

Todos os isômeros do endosulfan, assim como do BHC, epóxido de heptacloro, heptacloro, aldrin, clordanos, dieldrin, endrin, endrin cetona, DDD e DDE foram validados nas concentrações de 50, 100 e 200 ng g⁻¹. Considerando o EM, apenas o heptacloro e aldrin precisam de atenção ao ganho de sinal. O tetracloro m-xileno e metoxicloro obtiveram recuperações acima de 70 % na concentração de 50 ng g⁻¹, ao contrário do decaclorobifenil que obteve o mesmo resultado na concentração mais alta.

3.4 Resultado das análises das amostras do Rio Pirapetinga e RPS

3.4.1 Amostras de água

As 6 amostras coletadas da água do Rio Pirapetinga e duas no Rio Paraíba do Sul, descrito na Tabela 4, foram coletadas no período posterior as amostras de sedimento, no mês de novembro de 2021. As amostras foram armazenadas conforme descrito no tópico 2.7 e analisadas dentro de 2 dias para não haver perdas de analitos. O método SPE utilizado foi validado para 15 analitos incluindo os isômeros do endosulfan com recuperações conforme literatura.

Mais de 500 picos foram encontrados nas amostras analisadas no período sem chuva de novembro. No período chuvoso de janeiro de 2022, as análises de água detectaram de 600 a 1300 picos nos mesmos locais. As análises de varredura encontraram muitas substâncias como fármacos, cosméticos, pesticidas, substâncias da indústria alimentícia, fertilizantes, drogas e substâncias utilizadas na indústria. Analitos foram tentativamente identificados com base na similaridade espectral com a biblioteca de espectros de massas NISTMS nas águas do Rio Pirapetinga pelo mesmo método GC-Fast. Vale ressaltar que a identificação desses compostos poderia ser conformada com padrões analíticos autênticos, porém não foi realizada no presente estudo.

A similaridade é um parâmetro que mede a semelhança espectral do analito com a biblioteca NIST do *software Leco® ChromaTOF-GC*. Os valores variam de 0 a 999 que indica o quanto o espectro do analito se assemelha ao da biblioteca. Também foi-se utilizado o reverso para a identificação dos compostos presentes nas amostras que indica a relação do espectro da biblioteca com o analito, sendo inverso a similaridade. Os valores considerados no estudo são acima de 700 para ambos os casos e a semelhança espectral determinou a presença de diversas substâncias na área de estudo.

Diversos fármacos foram tentativamente identificados tais como substâncias hipnóticas controladas (ex. Etclorvinol), fármacos para disfunção erétil (ex. Vardenafil), antidepressivos (ex. Amitriptilina), substâncias utilizadas em tratamento de câncer (ex. Tegafur, Topotecano). A presença destas substâncias na água pode ser proveniente tanto da ineficácia do sistema de tratamento de esgoto para eliminar esses medicamentos quanto da ausência de tratamento em diversos municípios da região.

Relacionado a drogas, muitas substâncias foram encontradas. Destaca-se anfetamina e derivados, assim como estimulantes MDDMA, e substâncias alucinógenas como ledol e muscimol (<https://www.scbt.com/pt/home>, 2022).

Triperóxido de triacetona, abreviada com TATP são conhecidas através artefatos explosivos que podem ser fabricado com produtos simples. Traços dessa substância pode ser encontrada nas águas da região, assim como o ácido pícrico, altamente explosivo e utilizado para fabricação de granadas. Vale destacar que o Rio Pirapetinga passa pela região de treino da Academia Militar das Agulhas Negras. Destaque também para produtos plastificantes presentes na maioria dos pontos analisados como citrato de butila e butirato de vinila.

Classes de pesticidas puderam ser identificadas na água. Clorfenapir, um inseticida/acaricida do grupo de desacopladores de fosforilação oxidativa via disrupção do gradiente de próton (BRASIL, 2017) também foi encontrado nas águas do Rio Pirapetinga, além de propamocarb (carbamato), um fungicida sistêmico e fosmete (IMIDAN, derivado de ftalimida), um inseticida organofosforado tóxico, conforme bulas, permitidos pela ANVISA para uso agrícola. Porém o binapacril, um fungicida da família dos dinitrofenóis que pertence a lista de ingredientes banidos pela ANVISA (BRASIL, 2021), foi detectado na água assim como bensulida, um herbicida organofosfato. Estudos mais aprofundados para esses analitos são necessários. A identificação tentativa com valores de similaridade e reverso, bem como os índices de retenção estão detalhadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Analitos de possíveis substâncias presentes na água do Rio Pirapetinga (período sem chuva). Destaque para o endossulfan

Analito	Local	TR1D s	TR2D s	Similar	Reverso	LTPRI	Area %
<u>Fármacos</u>							
Betaina	P4	315	0,04	831	831	1609,2	0,02701
Tegafur	P3	315	0,04	837	837	1609,2	0,02916
Ácido acetilsalicílico	P4	348	0,34	821	874	1710,1	0,00220
Benzedrex	P3	315	0,03	751	787	1782,1	0,03893
Atenolol	P5	378	0,12	793	936	1800,4	0,01292
Nilidrin	P3	378	0,33	638	833	1801,1	0,00712
Sotalol	P5	411	0,12	999	999	1911,5	0,00526
Triantereno	P3	426	2,90	615	727	1977,4	0,00173
Alprenolol	P1	429	1,39	722	999	1982,9	0,00452
Topotecan	P6	450	0,10	572	925	2050,3	0,00778
Betazol	P4	459	0,06	756	960	2080,2	0,01700
Isoxazol	P3	459	0,02	722	888	2080,0	0,01336

Amitriptilina	P3	498	0,17	612	757	2225,7	0,00990
Benzofurano	P5	501	1,05	876	876	2241,9	0,01035
Meglumina	P6	534	0,09	936	989	2375,3	0,00633
Etclorvinol	P2	564	0,17	679	758	2500,8	0,00931
Imidazol	P4	600	0,25	747	776	2658,3	0,00759
Glicina	P6	603	2,63	999	999	2658,3	0,01275
Betaxolol	P5	621	0,53	614	937	2759,7	0,00450
Ácido pentanóico	P4	633	2,48	839	839	2826,1	0,00274
Vardenafil	P4	693	0,23	579	787	3075,8	0,02721
<u>Cosméticos</u>							
Dietiltoluamida	P3	321	0,59	739	840	1629,1	0,00456
Citronelol	P6	339	0,46	803	891	1683,2	0,01300
Monobenzona	P2	360	0,07	744	951	1745,7	0,00586
Galaxolida	P3	399	0,59	646	763	1872,0	0,00284
Guanidina	P5	474	2,96	806	999	2144,4	0,00239
Laurato de Isoamila	P3	555	2,99	684	704	2474,9	0,01709
Silanol	P2	618	2,59	931	959	2755,3	0,02662
Farnesol	P2	642	0,35	829	829	2858,9	0,13088
Esqualeno	P3	642	0,36	766	766	2858,9	0,04893
<u>Pesticidas</u>							
Propamocarb	P6	372	0,09	692	726	1782,1	0,00500
Bensulida	P3	396	0,98	583	818	1863,3	0,00706
Binapacril	P3	405	2,74	660	744	1898,8	0,00106
Endosulfan lactona	P5	459	1,77	838	846	2085,9	0,00780
Clorfenapir	P2	675	0,25	620	999	2988,5	0,01901
<u>Alimentícios</u>							
Etilparaben	P1	321	0,22	763	903	1601,2	0,10856
Ácido Oléico	P4	396	0,07	736	736	1860,3	0,02443
Cafeína	P4	429	1,26	722	767	1982,4	0,00856
<u>Fertilizantes</u>							
Urea	P5	552	0,04	999	999	2237,6	0,13695
<u>Drogas</u>							
Ledol	P3	309	0,26	709	715	1591,7	0,00416
Meta / Anfetamina	P3	360	0,06	681	792	1745,7	0,00293
Benzefetamina	P3	396	0,94	544	771	1863,1	0,00279
Bk-MDDMA	P3	534	0,20	719	950	2375,8	0,01592
Fluoroanfetamina	P4	546	2,14	928	973	2433,9	0,00127
Muscimol	P5	657	0,13	682	708	2925,6	0,04975
<u>Outros</u>							
Butirato de vinila	P5	315	0,06	999	999	1609,3	0,02865
Fenol	P6	321	2,61	772	772	1635,2	0,00280
Decanol	P1	348	0,06	758	758	1709,6	0,20146
Neoisolongifolene	P3	348	0,24	738	764	1709,8	0,00302
Triperóxido de triacetona	P4	366	1,40	620	762	1767,9	0,00158
Ácido picrico	P6	387	0,49	625	808	1831,6	0,00239
Pirrolidina	P2	438	2,90	657	781	2019,6	0,01199

Metil-lamina	P3	441	2,88	731	794	2029,6	0,04331
Metil dodecanol	P1	489	2,87	837	837	2199,6	0,94005
Citrato de butila	P3	513	0,54	770	810	2289,7	0,00449
Benzo[a]antraceno	P5	516	2,60	791	899	2310,9	0,00187
Acrilato de dodecila	P1	519	0,19	772	772	2313,3	0,16846
Succinimida	P4	537	0,44	741	769	2389,3	0,00683
Sulfeto de carbonila	P1	552	0,03	904	999	2450,0	0,04823
Octadecanal	P1	552	0,22	915	919	2450,2	0,06725
Glicidol	P5	552	0,05	999	999	2450,2	0,03424
Di-hidroxi-acetona	P2	576	0,45	781	816	2551,8	0,00680
Stigmasterol	P5	651	0,69	798	798	2902,9	0,11426
Acetamida	P2	684	0,28	999	999	3038,8	0,12232

Fonte: O autor, 2022.

*TR¹: Tempo de retenção na primeira dimensão; TR²: Tempo de retenção da segunda dimensão; Similar: É o grau de comparação do espectro do analito com espectro da biblioteca; Reverso: Grau de comparação do espectro da biblioteca com o espectro do analito; LTPRI: Índice de retenção.

Conforme Tabela 16, além dos pesticidas citados, pode-se citar o isômero do endosulfan lactona, que também pertence a lista de substâncias banidas no Brasil.

Este OCP é investigado neste estudo e foi encontrado no trecho do Rio Pirapetinga na época de seca (Ponto 5). O analito endosulfan lactona foi detectado nas réplicas realizadas em laboratório com similaridade acima de 700 e concentração de 142 ng mL⁻¹ conforme equação de linearidade e Figura 34. O limite máximo permitido pela Resolução CONAMA 357 (BRASIL, 2005) é de 0,056 ng mL⁻¹ para o somatório dos isômeros alfa, beta e sulfato de endosulfan. Para os outros isômeros, não existem limites estipulados pela legislação. As informações ecológicas de toxicidade do padrão endosulfan lactona comercializado pela Sigma-Aldrich (SIGMA-ALDRICH, 2023) determinam que a concentração letal é de 1 a 10 µg mL⁻¹ para a espécie *Leuciscus idus* (carpa dourada) em uma exposição de 48 h.

Novas coletas foram realizadas em período chuvoso e puderam identificar novos analitos presente na matriz.

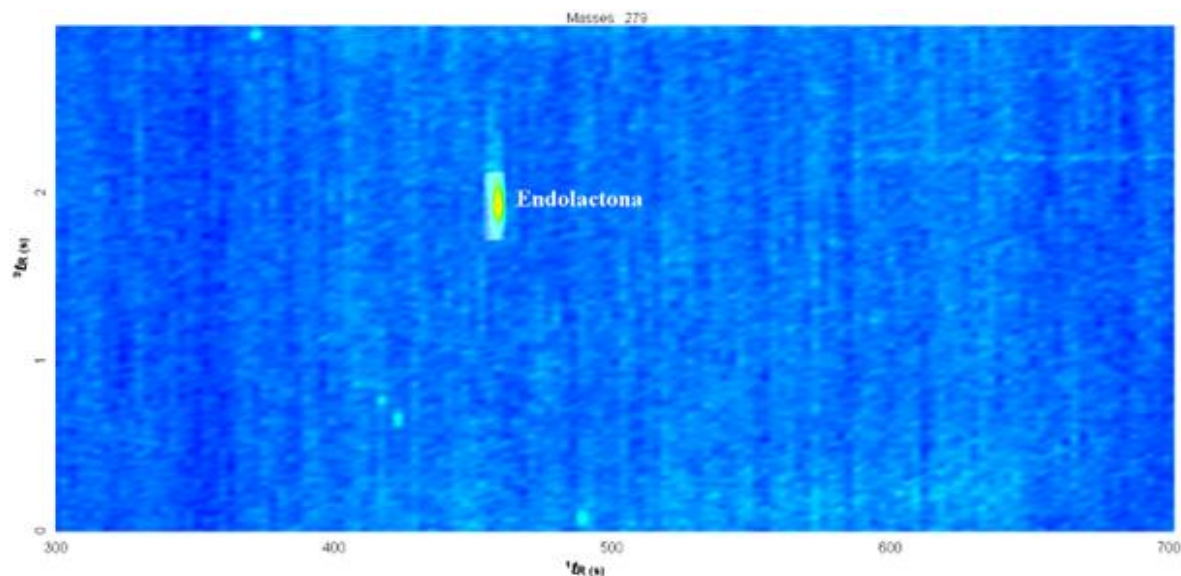


Figura 34 - Analito de endosulfan lactona encontrado na amostra de água do Pirapetinga do ponto 5. Fonte: O autor, 2022.

Vários outros medicamentos puderam ser listados apresentando substâncias para arritmia, analgésicos fortes como morfina, tratamento de alguns tipos de câncer, assim como para diabetes e mal de Parkinson, antidepressivos, entre outros conforme Tabela 17. Uma curiosidade está relacionada a detecção de timoquinona, que tem sido alvo de estudos no combate a COVID-19.

Inúmeros fármacos podem ser usadas de forma ilícita. Nove analitos foram identificados contendo substâncias usadas como drogas recreativas ou de design como MDPBP, catinona, fluorocatinona, álcool ter-amílico e também medicamentos estimulantes inibidoras de apetite a base de anfetamina e outros.

Tabela 17 – Analitos de outras possíveis substâncias presentes na água do Rio Pirapetinga (período chuvoso)

Analito	Local	TR1D s	TR2D S	Similar	Reverso	LTPRI	Area %
Fármacos							
Tocainida	P6	333	0,16	593	782	1664,1	0,01256
Noracymetadol	P4	339	0,06	499	710	1682,0	0,00444
Pincaínida	P6	360	0,52	598	737	1747,0	0,02625
Hexestrol	P6	363	0,32	745	792	1755,4	0,00319
Benzestrol	P3	369	0,46	668	718	1774,1	0,01860
Creatininina	P6	375	0,99	517	742	1793,9	0,13570
Timoquinona	P3	378	0,57	690	731	1801,9	0,03156
Glipizida	P1	402	0,80	566	813	1880,3	0,00717
Thiazesim	P6	408	0,22	622	725	1900,8	0,00078
Fosfosal	P3	408	0,51	461	729	1901,9	0,00263
Desmetildoxepina	P4	417	1,22	431	705	1937,8	0,00232
Metilfenidato	P5	420	1,01	408	720	1948,1	0,00002

Megestrol acetate	P5	429	2,25	718	741	1986,1	0,00329
Dimetotiazina	P5	456	0,17	619	906	2488,3	0,01056
Carbazol	P5	459	1,36	750	897	2084,5	0,00043
Paradrin	P5	477	0,29	647	811	2145,5	0,01403
Betametadol	P1	480	0,23	794	997	2156,4	0,14184
Fenfluramina	P4	480	0,23	624	792	2156,4	0,02676
Bamipina	P3	501	0,15	625	709	2238,1	0,02214
Deprenil	P2	516	0,13	463	822	2300,5	0,05563
Zolpidem	P6	522	0,99	635	737	2329,1	0,02510
Emimycin	P1	531	0,17	441	832	2363,3	0,00431
Benserazida	P5	648	0,23	506	716	2237,6	0,00819
Dimepheptanol	P3	663	0,96	690	779	2954,0	0,04432
<u>Cosméticos</u>							
Adipato de isopropila	P6	306	0,26	737	814	1582,6	0,00669
Benzofenona	P3	336	1,94	653	851	4978,6	0,00273
Citral	P3	345	0,03	569	710	1700,1	0,01039
Cinoxate	P6	486	0,96	872	876	2181,4	0,08535
<u>Pesticidas</u>							
Cyprodinil	P5	363	2,88	562	804	1763,3	0,00307
Lenacil	P6	381	0,99	486	804	1813,2	0,04567
Dinocape	P4	465	0,05	706	819	2100,2	0,00712
Fenpropimorfe	P4	492	1,93	453	756	2208,0	0,00510
Sarin	P4	513	0,01	534	916	1832,6	0,00063
Etofenproxi	P6	570	0,95	535	711	2528,9	0,00977
<u>Drogas</u>							
Álcool terc-amílico	P2	327	2,93	548	802	1654,3	0,00763
MDPBP	P3	333	1,79	838	885	1669,1	0,00178
Catinona	P3	354	0,35	668	887	1728,3	0,02728
N-etilanfetamina	P3	363	0,09	753	892	1754,8	0,00574
Pipradrol	P5	474	2,97	533	789	2144,3	0,04359
Fenmetrazina	P5	477	0,53	709	780	2146,4	0,01967
Fenproporex	P5	495	0,01	665	720	2212,5	0,04287
Octodrina	P4	504	0,00	682	977	2250,0	0,00159
Fluoroethcatinona	P6	606	0,28	451	827	2687,0	0,04028
<u>Outros</u>							
Dicloroetanol	P1	306	0,44	999	999	1583,2	0,00372
Catecolborano	P3	348	0,34	625	741	1710,1	0,00460
Dietil mercúrio	P4	423	1,95	565	743	1962,8	0,00060
Cloromelfoquina	P2	456	1,56	871	871	2075,2	0,00699
Tetrafluoreto de silício	P2	465	1,74	759	999	2106,4	0,00225
1,3-Dioxolano	P2	483	0,19	924	924	2130,6	0,27881
Disparlure	P3	498	0,40	704	704	2226,6	0,31836
Brometo de cianogênio	P4	573	0,35	389	927	2539,0	0,00188
Norflurane	P4	585	0,10	819	898	2587,9	0,00747
Furfural	P3	603	0,12	513	953	2672,0	0,02858

1,2 Benzisotiazol-3- amina	P2	612	2,20	664	733	2724,8	0,01219
Propilamina	P5	633	0,10	848	848	2814,8	0,16101

Fonte: O autor, 2022.

*TR¹: Tempo de retenção na primeira dimensão; TR²: Tempo de retenção da segunda dimensão; Similar: É o grau de comparação do espectro do analito com espectro da biblioteca; Reverso: Grau de comparação do espectro da biblioteca com o espectro do analito; LTPRI: Índice de retenção.

Outras substâncias da classe de pesticidas foram encontradas em ambos os períodos (Apêndice C e D). Ciprodinil é um fungicida pertencente ao grupo químico das anilino-pirimidinas e foi encontrado no Rio Pirapetinga junto a outros 4 pesticidas: lenacil (um herbicida de diazina para controle seletivo de ervas daninhas), dinocape (dinitrofenol fungicida e acaricida), fenpropimorfe (um fungicida sistêmico do grupo químico das morfolidinas), etofenproxi (éter difenílico), classificados conforme suas bulas. Todos estes pesticidas tem uso autorizado no Brasil pela ANVISA, exceto um metabólito denominado sarin e endosulfan, que foi encontrado no ponto 4 com concentração aproximada de 255 ng mL⁻¹. A concentração de endosulfan lactona foi equivalente a 1/4 da dose letal para a carpa dourada e indica a presença de sítios contaminados e/ou uso ilegal do produto na região. Outro organoclorado encontrado é o β-BHC na concentração de 40,7 ng mL⁻¹ no ponto P6 com estação chuvosa na área. Os limites do CONAMA 357 (BRASIL, 2005) para γ-HCH são de 0,02 ng mL⁻¹. Uma nota técnica da Anvisa (BRASIL, 2023) sobre o BHC determina que o isômero beta é mais relevante para toxicidade crônica enquanto que o isômero gama é para toxicidade aguda.

O ingrediente ativo sarin é um organofosforado extremamente venenoso usado como arma química por movimentos terroristas. Foi desenvolvida inicialmente para ser um inseticida e banido (GROB; HARVEY, 1953). Entretanto, seu espectro de massas apresenta pouca informação espectral que permita maior assertividade na etapa de identificação tentativa (Figura 35). Vale ressaltar que o Rio Pirapetinga está na região da Academia Militar das Agulhas Negras, portanto, a hipótese de presença desse composto não pode ser descartada.

Peak True - sample "Amostra P8:1", peak 154, at 387 , 0.770 sec , sec

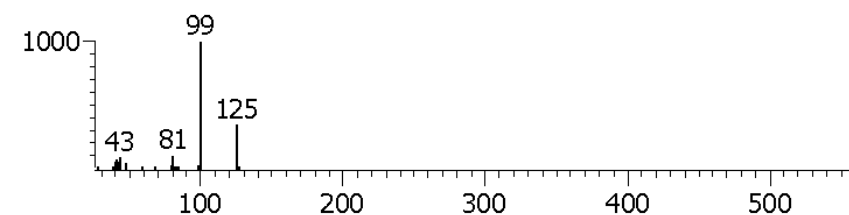
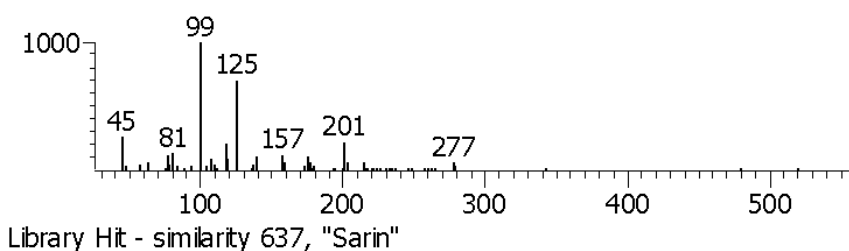


Figura 35 – Espectro de massas do composto Sarin.
Fonte: O autor, 2022.

O endossulfan comercial é uma substância cristalina marrom que consiste em dois isômeros (alfa e beta) na proporção de aproximadamente 70:30 conforme estipulado em Genebra (WHO, 1984) pela Organização Mundial da Saúde. Ao considerar os níveis de resíduos, a soma dos isômeros alfa e beta mais o metabólito de sulfato de endossulfan, que é semelhante em toxicidade ao composto original, deve ser considerada. O metabólito lactona indica um processo de hidrólise sofrido pelos isômeros comerciais seguido de processo de oxirredução conforme descrito no tópico 1.4, Figura 3. Casanova *et al.* (2021) avaliaram a degradação de endossulfan por cepas puras de vários microrganismos presentes no solo. Os isômeros α e β foram degradados em uma faixa de 76 % a 95 %. A produção de endossulfan lactona pelas cepas de *Bacillus*, assim como *Achromobacter spanius* e *Pseudomonas putida*, indicou que o endossulfan foi degradado pela via hidrolítica. Segundo Verma *et al.* (2011), os isômeros lactona e álcool tem uma degradabilidade mais acelerada do que os isômeros α e β . permanecendo menos tempo no ambiente. Nenhum analito comercial foi encontrado. Considerando também seu banimento desde 2009 no Estado do Rio de Janeiro, o residual encontrado possivelmente está relacionado ao acidente ambiental de novembro de 2008.

Nos trecho do Paraíba do Sul foram encontrados substâncias comuns com os do Rio Pirapetinga, mesmo no trecho a montante da foz nas amostras de 2021. Pode-se destacar a presença de binapacril e sarin que também foram encontrados sem a contribuição de seu afluente nos mesmos tempos de retenção. Porém outras

substâncias também foram identificadas por similaridade espectral com a biblioteca de espectros de massas NISTMS apenas no RPS. Os pesticidas atrazina, da família triazina e clomazona da isoxazolidinona foram tentativamente identificados no ponto 7, no bairro Monet em Resende, advindos a montante da região estudada assim como clorfenapir e são legalmente utilizados. A Piracarbolidia, um fungicida anilida, está na lista de proibição da ANVISA desde 2002 pela RDC 347, mas ainda permanece nas águas da região. A Figura 36 apresenta os espectros de substâncias encontradas na região, além do endosulfan.

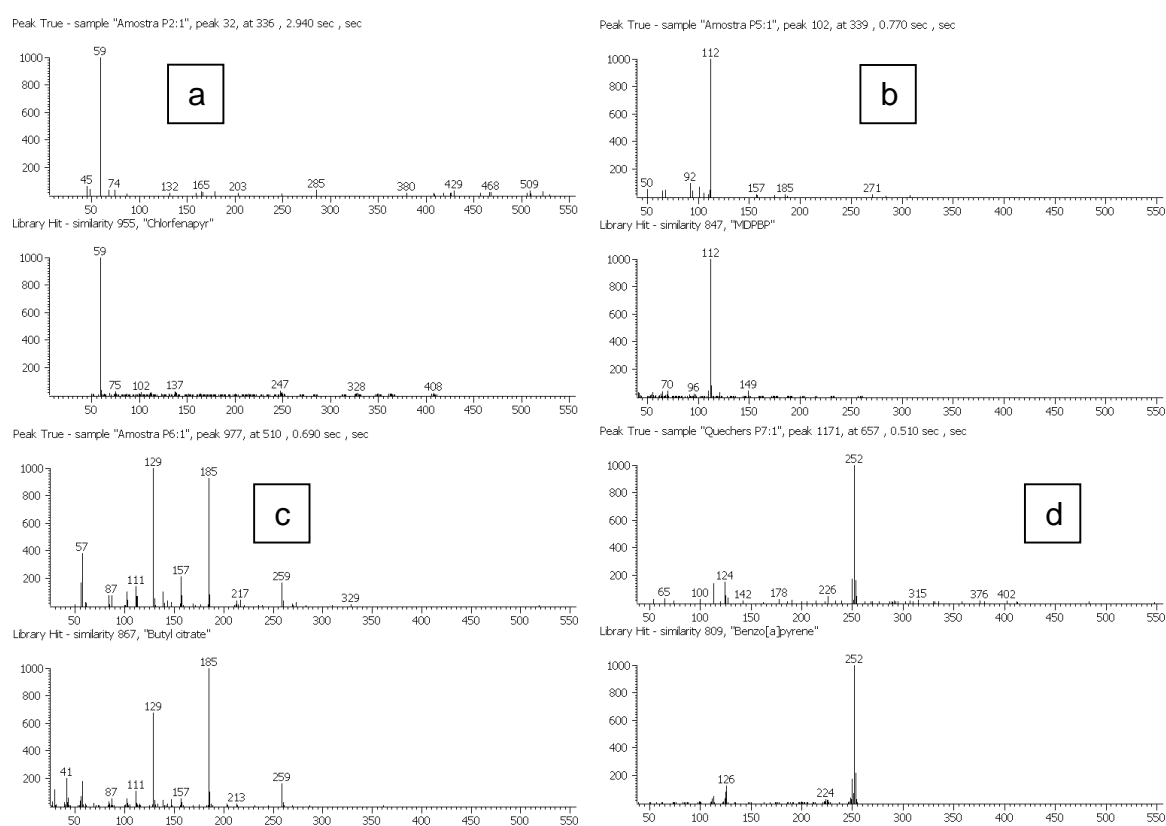


Figura 36 – Espectro de massa do Clorfenapir(a), MDPBP(b), Citrato de butila (c), Benzo(a)pireno (d) comparado com a biblioteca.
Fonte: O autor, 2022.

Mais compostos puderam ser encontrados na segunda amostragem. Drogas como metanfetamina, α -PBP, fenproporex e pipradrol também foram encontradas a montante da foz do Rio Pirapetinga. No ponto 8, no encontro do Paraíba do Sul e Pirapetinga não foram encontradas substâncias diferentes das citadas anteriormente conforme mostra as figuras no Apêndice E e F.

A possível presença destes compostos trazem muitos riscos à saúde humana, pois não se tem controle sobre as concentrações existentes na água captada e se o

serviço de abastecimento público é capaz de removê-los. Com as concentrações de endosulfan lactona encontradas na região, e sabendo que o composto é bioacumulativo em organismos como plantas, peixes, aves e até humanos, a possível presença deste composto nas águas tratadas deve ser avaliada. Souza *et al.* (2020) determinaram dezoito resíduos de OCPs no leite materno de mães da região oeste da Bahia, Brasil. Segundo o estudo, a presença de endosulfan aponta para antigas exposições que se acumularam no corpo e foram transferidos para o leite materno.

O sistema de tratamento adotado na região é o tratamento convencional. A etapa de clarificação é feita com floculadores, decantadores e filtros; a desinfecção é feita usando cloradores e, finalmente o polimento que consiste no ajuste de pH, correção do cloro residual e a fluoretação.

Segundo Westerhoff e colaboradores (2005), métodos convencionais de tratamento promovem a remoção de menos de 25 % da concentração da maioria dos interferentes endócrinos e, a presença de uma etapa de cloração, muito comum para desinfecção de águas no Brasil, pode promover uma redução de 20 a 90 % nos níveis de concentração ou potencializar formação de subprodutos mais tóxicos. Isso indica que não há segurança quanto a eficácia da remoção desses compostos na etapa de tratamento de água potável na região.

3.4.2 Amostra de sedimento

As primeiras 6 amostras de sedimento superficial do Rio Pirapetinga e duas no Rio Paraíba do Sul foram coletadas, armazenadas conforme descrito no tópico 2.7 e analisadas no dia seguinte. O método QuEChERS utilizado foi validado para 19 analitos incluindo os isômeros do endosulfan com recuperações conforme literatura.

Dentre 750 a 1300 picos foram encontrados nas amostras analisadas no período sem chuvas do mês de novembro assim como no período chuvoso de janeiro de 2022, tanto para o Rio Pirapetinga quanto para o Rio Paraíba do Sul.

Após as análises foi possível, através do diagrama de cores, identificar as classes químicas presentes nas amostras de sedimento (Figura 37).

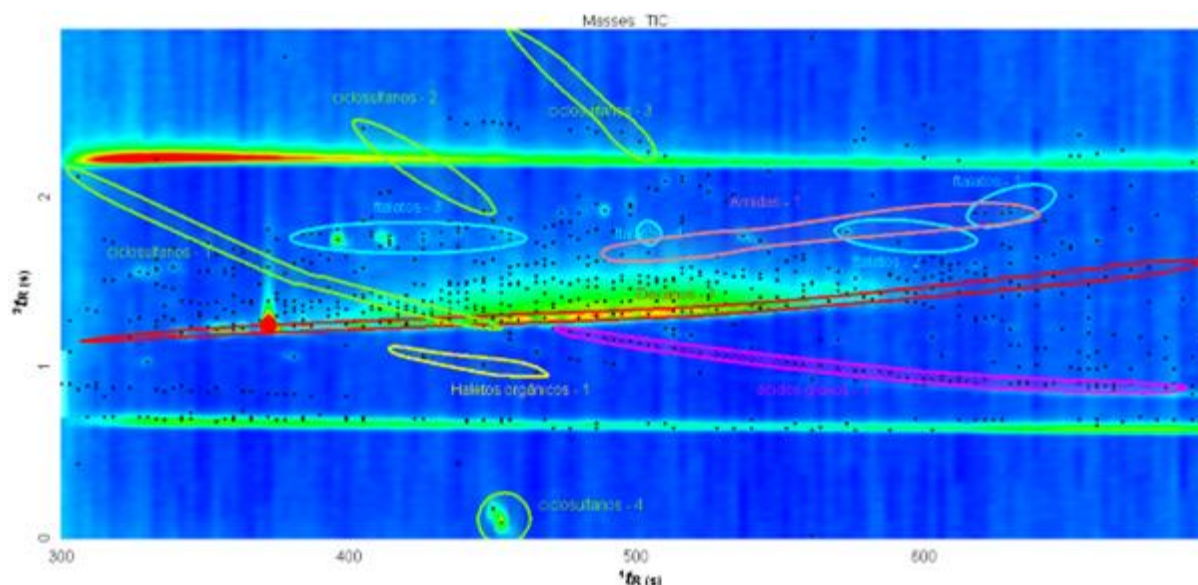


Figura 37 – Diagrama de cores das amostras de sedimento do Rio Pirapetinga, RJ.
Fonte: O autor, 2022.

Alcanos entre C₁₁ a C₂₀ puderam ser identificado pela coloração vermelha no espaço de separação do diagrama de cores. Assim como alguns ftalatos (azul) e ácidos graxos do C₅ ao C₁₀ (Roxo), esses compostos foram encontrados nas análises do solvente usado para limpeza da coluna em cada intervalo de injeção.

Os Amidas (rosa), ciclo sulfanos com 6 e 8 carbonos (verde) e haletos orgânicos com iodo (amarelo), foram encontrados em todas as amostras de água coletas, desde o Rio Pirapetinga ao Paraíba do Sul. Os ciclo sulfanos foram menos incidentes na amostra P2. A presença dos haletos no ponto P7 se mostra menos intensa enquanto que no P8 não foi possível detectá-los.

Alguns compostos tentativamente encontrados na matriz água foram detectados em sedimentos. Compostos não listados anteriormente podem ser vistos na Tabela 18.

Tabela 18 – Diferentes substâncias no sedimento do Rio Pirapetinga

Analito	Local	TR1D s	TR2D s	Similar	Reverso	LTPRI	Area %
<u>Fármacos</u>							
Emilcamato	P1	336	1,31	680	737	1676,7	0,00203
Felbamato	P2	363	1,89	700	804	1760,3	0,00123
Roflurane	P4	375	0,22	497	716	1791,6	0,00561
Amonafide	P5	387	1,38	751	917	1834,6	0,00763
Amantadina	P6	426	0,88	628	709	1969,9	0,00081
Etamifilina	P6	435	2,19	694	793	2007,3	0,00061
Camilofina	P2	438	0,68	596	924	2012,4	0,00086

Prilocaina	P1	444	1,35	641	814	2034,5	0,01821
Mefrusida	P2	456	1,46	822	956	2074,9	0,01265
Nortriptilina	P4	483	2,46	637	843	2175,8	0,00744
Vigabatrina	P6	498	1,32	619	741	2230,5	0,00163
Trimecaine	P1	612	2,22	722	769	2724,9	0,00127
Flurazepam	P3	624	2,21	643	813	2782,0	0,00174
<u>Drogas</u>							
bk-DMBDB	P3	300	0,25	793	940	1664,4	0,00154
Anfetaminil	P1	387	1,62	689	819	1835,4	0,00224
Terc-butil-etil-anfetamina	P2	426	0,12	705	957	1967,1	0,05120
Dimetilanfetamina	P3	459	0,11	721	855	2080,4	0,00729
MDPPP	P1	546	1,68	708	798	2432,0	0,00191
Fluoroanfetamina	P4	546	2,14	928	973	2433,9	0,00127
<u>Cosméticos</u>							
t-Butil-hidroquinona	P2	315	1,52	789	797	1613,7	0,00165
<u>Pesticidas</u>							
Fosmete	P3	429	2,14	439	703	1985,7	0,00097
<u>Outros</u>							
Fosfato de tributila	P2	333	1,49	815	844	1668,2	0,01173
Cianogênio	P3	345	0,82	751	999	1702,5	0,00220
Benzeno	P4	570	2,24	491	717	2534,3	0,00680
Benzo[a]Pireno	P6	681	0,44	581	803	3027,3	0,00083

Fonte: O autor, 2022.

*TR¹: Tempo de retenção na primeira dimensão; TR²: Tempo de retenção da segunda dimensão; Similar: É o grau de comparação do espectro do analito com espectro da biblioteca; Reverso: Grau de comparação do espectro da biblioteca com o espectro do analito; LTPRI: Índice de retenção.

Analitos de pesticidas também foram encontradas no sedimento do Rio Pirapetinga. O Binapacril foi encontrado com expressiva área de pico no ponto 5, mesmo local onde foi encontrado residual de endosulfan em água. Além do mesmo, a presença de Clorfenapir também foi tentativamente encontrado, mas com área de pico extremamente inferior. Outras substâncias perigosas encontradas em sedimento, diferentes das que foram listadas e além das drogas, são cianogênio, benzeno e benzo[a]pireno.

O cianogênio é gás liquefeito, sem coloração, odor de amônia, flutua e ferve em água, venenoso, produz nuvem de vapor visível e inflamável (CETESBb, 2021). Assim como o sarin, também é conhecido como agente de guerra química é um possível residual. Também foi encontrado o benzeno, um hidrocarboneto aromático (CETESBc, 2021), e benzo[a]pireno, hidrocarboneto aromático policíclico em sedimento do Rio Pirapetinga, porém apenas o benzo[a]pireno foi encontrado a

montante da foz no Rio Paraíba do Sul o que indica a presença deste material em locais diversos. Ambas as substâncias são reconhecidamente cancerígenas.

Na época de chuva, 7 diferentes substâncias foram listadas. Dentre elas está dicrotofós, pesticida banido pela ANVISA inibidor de organofosfato de acetilcolinesterase, MOPPP usado como estimulante, cloreto de paviloólo usado como insumo para a fabricação de fármacos e pesticidas e fármacos como foledrina, uma droga que estimula o sistema nervoso central, administrado na forma de colírio, etilefrina, pipazetate e mefloquina, medicamento usado no combate à malária, que pode ter sido administrado para enfermos de COVID-19 (National Library of Medicine, 2022).

É comprovado que tanto os fármacos quanto os desreguladores endócrinos podem acarretar diversos efeitos prejudiciais à fauna aquática, podendo propiciar diversos danos morfológicos, metabólicos e até alterações sexuais (SANTOS, 2011; BERGMAN *et al.*, 2012;). Bottoni, Caroli e Caracciolo (2010) citam que esses contaminantes, quando descartados no meio ambiente, podem causar toxicidade biológica, indução da resistência a antibióticos em bactérias patogênicas e genotoxicidade, que pode ser definida como a capacidade de algumas substâncias químicas produzirem alterações genéticas.

As tecnologias que se destacaram na remoção de micropoluentes correspondem à oxidação, tratamento por membranas e ultravioleta. Ressalta-se que para monitorar a presença de fármacos e hormônios nos recursos hídricos mostram-se necessárias a formulação e a implantação de leis que visem estabelecer parâmetros destes poluentes (RODRIGUES *et al.* 2018).

No trecho do RPS pode-se verificar a existência das algumas substâncias encontradas no Rio Pirapetinga, e outras não citadas são evidenciadas na Tabela 19.

Tabela 19 – Analitos de outras possíveis substâncias no sedimento do Rio Paraíba do Sul, em Resende, RJ.

Analito	Local	TR1D s	TR2D s	Similar	Reverso	LTPRI	Area %
<u>Fármacos</u>							
Adrenalina	P7	318	1,12	926	971	1621,6	0,04714
Tofenacin	P7	384	1,98	460	803	1826,6	0,00148
Fomepizol	P7	393	1,36	824	824	1854,5	0,03249
Clorgilina	P7	477	1,53	622	889	2150,1	0,08283
Noscapina	P7	483	2,13	529	720	2174,6	0,00101
Difenoxin	P7	489	2,67	851	971	2198,8	0,00260

Fenofibrato	P7	579	2,16	862	862	2571,5	0,00425
Sulpirida	P7	669	1,90	636	997	2982,9	0,00100
<u>Drogas</u>							
Psilocin	P7	336	1,31	680	737	1677,5	0,00203
Bemegrade	P8	348	0,06	692	750	1709,3	0,00529
<u>Pesticidas</u>							
Fenpropidin	P7	312	0,46	615	802	1601,4	0,00014
Piretrina II	P7	405	1,97	746	791	1896,6	0,00184
<u>Outros</u>							
Kronitex KP-140	P8	552	0,78	837	837	2453,3	0,00716

Fonte: O autor, 2022.

*TR¹: Tempo de retenção na primeira dimensão; TR²: Tempo de retenção da segunda dimensão; Similar: É o grau de comparação do espectro do analito com espectro da biblioteca; Reverso: Grau de comparação do espectro da biblioteca com o espectro do analito; LTPRI: Índice de retenção.

Outros fármacos e pesticidas foram encontrados. Substâncias encontradas no Rio Pirapetinga são também encontradas no ponto 7. Da classe dos pesticidas, foram encontradas novos analitos de pesticidas como o fenpropidin (piperidina) que não consta na lista da ANVISA e compostos de família piretrina, permitidos por ela.

Não foram detectadas concentrações acima dos limites de detecção dos analitos validados na metodologia proposta em nenhuma das amostras de sedimento analisadas nesse estudo em ambas as coletas.

Por vários anos, diversos pesquisadores tem estudado o comportamento destes compostos no sedimento e na água, principalmente os fármacos e seus efeitos. Os contaminantes emergentes são persistentes no ambiente, capazes de perturbar a fisiologia dos receptores-alvo e, portanto, são considerados contaminantes de preocupações ambientais nos últimos anos. As classes proeminentes incluem produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, surfactantes, plastificantes, pesticidas, retardadores de fogo e nanomateriais (ROUT *et al.*, 2021). Esses contaminantes emergentes foram detectados nas plantas de tratamento de água de diferentes países (PASCALE *et al.*, 2019; NGUMBA *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do método analítico para determinação rápida de metabolitos de endosulfan e outros pesticidas foi concluído. O método foi capaz de analisar todos os metabolitos encontrados no padrão à concentrações muito baixas na faixa de 0,39 a 17,96 ng mL⁻¹, exceto para o endosulfan álcool (173,74 ng mL⁻¹). O limite de detecção do isômero -diol foi maior em relação aos demais isômeros assim como muitas pesquisas envolvendo endosulfan. Devido a isso, as concentrações de endosulfan álcool nas matrizes só poderão ser encontradas a uma concentração superior à a 250 ng mL⁻¹. Na validação do método cromatográfico, o coeficiente de determinação do Beta BHC dentre os 25 analitos não foi superior a 99%, sendo aceitável pela ANVISA 99% e/ou INMETRO 90%. Apesar disso, O cálculo de homocedasticidade determinou que não existe diferença relevante nas variações da curva analítica.

Este novo método fast-GC×GC/TOFMS apresentou redução de três vezes no tempo de análise quando comparado ao método convencional e redução de 4 vezes no consumo de hélio. Fast-GC×GC/TOFMS ofereceu ganhos extraordinários no poder de separação quando comparado à cromatografia gasosa unidimensional convencional. O uso da detecção espectrométrica de massa de tempo de voo em combinação com sua capacidade de registrar espectros de massa de varredura completa permitiu a confirmação de identidade confiável e quantificação sem sobreposição dos compostos em relação a outros espectrômetros de massa. A métrica ATPT foi aplicada para demonstrar a evolução das separações cromatográficas para diferentes técnicas e condições analíticas. O valor ATPT de 25 ms.pico⁻¹ é três vezes inferior ao método analítico inicial. Essa diferença permitiu realizar a separação cromatográfica na abordagem rápida em 11,75 min.

O método de extração por SPE foi realizado e os resultados obtidos foram satisfatórios para dieldrin, endrin, endrin aldeído, endrin cetona, epóxido de heptacloro, metoxicloro, alfa, beta, delta e gama BHC, incluindo todos os metabolitos de endosulfan. O método QuEChERS obteve mais analitos validados entre 70 e 120% como os isômeros do endosulfan, assim como do BHC, epóxido de heptacloro, heptacloro, aldrin, clordanos, dieldrin, endrin, endrin cetona, DDD e DDE.

Endosulfan e outros metabólitos foram quantificados na matriz água nos pontos p4, p5 e p6. Foi detectado endosulfan lactona em concentração 142 ng mL^{-1} (P5) em estação seca e 255 ng mL^{-1} (P4) em estação chuvosa. A meia vida dos isômeros comerciais do endosulfan e pelos processos de transformação pelo qual passam para se tornar o isômero lactona, além dos pontos coletados serem a jusante do local do acidente, são indicativos da ainda presente contaminação no Rio Pirapetinga. Outro composto de OCP encontrado no p6 do mesmo rio é o β -BHC, com similaridade abaixo de 600 e concentração de $40,7 \text{ ng mL}^{-1}$, mas na mesmo tempo de retenção do analito em relação ao mix de padrões.

Na identificação tentativa dos demais picos detectados nas amostras de água e sedimento, Produtos altamente tóxicos foram listados pela NIST demonstrando a necessidade de avaliação dos produtos químicos hoje utilizados. Apenas os grupos de pesticidas, foi possível encontrar 19 analitos, sendo 7 deles banidos desde antes de 2008. Muitas outras substâncias presentes na água como fármacos, drogas, derivados de petróleo e resíduos industriais tóxicos, além dos próprios pesticidas alertam sobre a precariedade do tratamento necessário para sua remoção e os impactos ambientais causados.

Esse estudo diagnóstico para identificação tentativa de possíveis poluentes ambientais pode ser utilizado como base para aplicação de métodos de quantificação de compostos específicos já detectados, aumentando a assertividade de campanhas de monitoramento ambiental. Fármacos, pesticidas e outros compostos estão constantemente presentes na natureza não havendo limites regulados pela legislação para a maioria. Poluentes emergentes são um tema atual e estão sendo discutidos em muitos países. A necessidade de intervenção dos órgãos públicos, universidades e sociedade são de fundamental importância para a discussão das soluções contra esse poluentes que estão presente nas águas consumidas pelos municípios do estado do Rio de Janeiro.

Também é uma importante proposta para campanhas de monitoramentos dos rios brasileiros trazendo resultados inéditos e importantes sobre a situação dos recursos hídricos que são degradados diariamente por diversos poluentes.

REFERÊNCIAS

ABOLHASANI, M., ASADIKARAM, G., PAYDAR, P., FALLAH, H., AGHAEI-AFSHAR, M., MOAZED, V., AKBARI, H., MOGHADDAN, S. D., MORADI, A. Organochlorine and organophosphorous pesticides may induce colorectal cancer; A case-control study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 178, 168–177. 2019.

ADAHCHOUR, M., BRANDT, M., BAIER, H.U., VREULS, R.J.J., BATENBURG, A.M. BRINKMAN, U.A.T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a rapid-scanning quadrupole mass spectrometer: principles and applications. *Journal of Chromatography A*, 1067, p. 245–254. 2005.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). *Toxicological profile for endosulfan*. Atlanta, GA: US Department of health and human services, Public health services. 2015.

AGENCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). *Boletim de Monitoramento de Reservatório do Sistema Hidráulico do Rio Paraíba do Sul: Brasil*. Abril 2020. Disponível em: https://www.gov.br/ana/pt-br/sala-de-situacao/paraiba-do-sul/boletins/mensal/4-boletim_monitoramento_reservatorios_pb_sul_2020_abril.pdf. Acesso em 24 de abril de 22.

ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S., STAJNBAHER, D., SCHENCK, F. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. AOAC International*, 86, 412. 2003.

AKERBLOM, M. Extraction and Cleanup. *Analysis of Pesticides in Ground and Surface Water I*, 19–66. 1995.

ARIENZO, M., MASUCCIO, A.A., FERRARA, L. Evaluation of sediment contamination by heavy metals, organochlorinated pesticides, and polyaromatic hydrocarbons in the Berre Coastal Lagoon (Southeast France). *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 65, 396-406. 2013.

AWASTHI, N., SINGH, A. K., JAIN, R. K., KHANGAROT, B. S., KUMAR, A. Degradation and detoxification of endosulfan isomers by a defined co-culture of two *Bacillus* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62, 279–283. 2003.

BARCI, P.E.P., ALVES, L.S., AVELLAR, A.A.S., CENDON, L.R., SANTOS, P.J., STRINGHINI, F.M., PRESTES, O.D., ZANELLA, R. Modified QuEChERS Method for Multiresidue Determination of Pesticides in Pecan Nuts by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 13, 793–801, 2020.

BELARBI, S., VIVIER, M., ZAGHOUBANI, W., SLOOVERE, A. D., AGASSE-PEULON, V., & CARDINAEL, P. Comparison of new approach of GC-HRMS (Q-Orbitrap) to GC-MS/MS (triple-quadrupole) in analyzing the pesticide residues and contaminants in complex food matrices. *Food Chemistry*, 359, 129932. 2021.

BERENGUER-RICO, V., & WILMS, I. Heteroscedasticity testing after outlier removal. *Econometric Reviews*, 40, 51–85. 2020.

BERG, H., & TAM, N. T. Decreased use of pesticides for increased yields of rice and fish-options for sustainable food production in the Mekong Delta. *Science of The Total Environment*, 619-620, 319–327. 2018.

BERGMAN, Å.; HEINDEL, J.J.; JOBLING, S.; KIDD, K.A.; ZOELLER, R.T. *State of the science of endocrine disrupting chemicals*. Suíça: United Nations Environment Programme and the World Health Organization, 260, p. 2012.

BERNARDI, G., KEMMERICH, M., ADAIME, M.B., PRESTES, O.D., ZANELLA, R. Miniaturized QuEChERS method for determination of 97 pesticide residues in wine by ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*, 12, p. 2682-2692, 2020.

BEYGER, L., ORREGO, R., GUCHARDI, J., HOLDWAY, D. The acute and chronic effects of endosulfan pulse-exposure on *Jordanella floridae* (Florida flagfish) over one complete life-cycle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 71–78. 2012.

BONANSEA, R. I., AMÉ, M. V., WUNDERLIN, D. A. Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC–MS. A case study: Suquia River basin (Argentina). *Chemosphere*, 90, 1860–1869. 2013.

BOTTONI, P.; CAROLI, S.; CARACCILO, A.B. Pharmaceuticals as priority water contaminants. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 92, 3, p. 549-565. 2010.

BRASIL. (2002). Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução RE n.º 347*. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/rdc0347_16_12_2002.html. Acesso em: 16 de junho de 2020.

_____. (2003). Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução RE n.º 899*. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RE_899_2003_COMP.pdf/ff6fdc6b-3ad1-4d0f-9af2-3625422e6f4b. Acesso em: 16 de junho de 2020.

_____. (2005). *Resolução CONAMA 357*. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf. Acesso em: 24 de janeiro de 2023.

_____. (2010). *Resolução de Diretoria Colegiada RDC n.º 28*. Disponível em: http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/GSV/Agrotoxicos/lf_6_resolucao_RDC_28_de_2010.pdf. Acesso em: 02 de abril de 2020.

_____. (2017). *Ato n.º 45*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas. D.O. Ed. 113, Seção 1, p1.

_____. (2021). Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Listas de ingredientes ativos com uso autorizado e banidos no Brasil*. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2017/listas-de-ingredientes-ativos-com-uso-autorizado-e-banidos-no-brasil>. Acesso em 02 de dezembro de 2021.

_____. (2023). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Nota técnica sobre a reavaliação da toxicológica do ingrediente ativo lindano*. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/111215/117797/lindano.pdf/39f519f7-ee51-4fd8-9528-23c1826ce2be>. Acesso em: 24 de abril de 2023.

BRIGHENTI, V., LICATA, M., PEDRAZZI, T., MARAN, D., BERTELLI, D., PELLATI, F., & BENVENUTI, S. Development of a new method for the analysis of cannabinoids in honey by means of high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization-tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1597. 2019. P.179-186.

BRUNELLI, C., BICCHI, C., DI STILO, A., SALOMONE, A., VINCENTI, M. High-speed gas chromatography in doping control: Fast-GC and fast-GC/MS determination of β -adrenoceptor ligands and diuretics. *Journal of Separation Science*, 29, 2765–2771. 2006.

BUAH-KWOFIE, A., HUMPHRIES, M. S. The distribution of organochlorine pesticides in sediments from iSimangaliso Wetland Park: Ecological risks and implications for conservation in a biodiversity hotspot. *Environmental Pollution*, 229, 715–723. 2017.

_____. Validation of a modified QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in fatty biological tissues using two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1105, 85-92. 2019.

BUDZYŃSKA, E., GRABKA, M., KOPYRA, J., MAZIEJUK, M., SAFAEI, Z., FLISZKIEWICZ, B., PUTON, J. Ion Mobility Spectrometers and Electron Capture Detector – a comparison of detection capabilities. *Talanta*. 194, 1, 259-265. 2019.

CAJKA, T., HAJŠLOVÁ, J. Gas chromatography–high-resolution time-of-flight mass spectrometry in pesticide residue analysis: advantages and limitations. *Journal of Chromatography A*, 1058, 251–261. 2004.

ČAJKA, T., MAŠTOVSKÁ, K., LEHOTAY, S. J., & HAJŠLOVÁ, J. Use of automated direct sample introduction with analyte protectants in the GC–MS analysis of pesticide residues. *Journal of Separation Science*, 28, 1048–1060. 2005.

CAJKA, T., HAJŠLOVA, J., LACINA, O., MASTOVSKA, K., LEHOTAY, S. J. Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection–low-pressure gas chromatography–high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1186(1-2), 281–294. 2008.

CALDAS, S.S., GOLÇALVES, F.F., PRIMEL, E.G., PRESTES, O.D., MARTINS, M.L., ZANELLA, R. Principais Técnicas de Preparo de Amostra para a Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Água por Cromatografia Líquida com Detecção por Arranjo de Diodos e por Espectrometria de Massa. *Quim. Nova*, 34, 9, 1604-1617, 2011.

CARVALHO, C.E.V., TORRES, J.P.M. *The ecohydrology of the Paraíba do Sul river, Southeast Brazil*. McClain, The Ecohydrology of South American Rivers and Wetlands. The IAHS Series of Special Publications, Venice, Italy, pp. 179–191. 2002.

CARVALHO, J.J., JERONIMO, P.C.A., GONÇALVES, C., ALPENDURADA, M.F. Evaluation of a multiresidue method for measuring fourteen chemical groups of pesticides in water by use of LC-MS-MS. *Analytical Bioanalytical Chemistry*; 392:395-368. 2008.

CASADO, J., SANTILLO, D., JOHNSTON, P. Multi-residue analysis of pesticides in surface water by liquid chromatography quadrupole-Orbitrap high resolution tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1024, 1–17. 2018.

CASANOVA, A., CABRERA, S., DÍAZ-RUIZ, G., HERNÁNDEZ, S., WACHER, C., ZUBILLAGA, M., ORTÍZ, I. Evaluation of endosulfan degradation capacity by six pure strains isolated from a horticulture soil. *Folia Microbiologica*, 66, 973–981. 2021.

CBH-BPSI - Comitê Baixo Paraíba do Sul e Itabapoana. *NOTA À IMPRENSA – Fechamento da foz do Rio Paraíba do Sul*. Campos dos Goytacazes, 2019. Disponível em: <https://agevap.org.br/gtaoh/nota-cbhbaixo-05-2019-gtaoh.pdf>. Acesso em: 13 de março de 2023.

CETESBa - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Guia nacional de coleta e preservação de amostras. Brasília -DF. 2011. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2021/10/Guia-nacional-de-coleta-e-preservacao-de-amostras-2012.pdf>. Acesso em 27 de abril de 2023.

CETESBb - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. *Ficha de informação de segurança de produto químico - cianogênio*. Disponível em: https://licenciamento.cetesb.sp.gov.br/produtos/ficha_completa1.asp?consulta=CIANOG%CANIO. Acesso em: 02 de dezembro de 2021.

CETESBc - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. *Ficha de informação de segurança de produto químico - Benzeno*. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/05/Benzeno.pdf>. Acesso em: 02 de dezembro de 2021.

CHATTERJEE, N. S., UTTURE, S., BANERJEE, K., AHAMMED SHABEER, T. P., KAMBLE, N., MATHEW, S., ASHOK KUMAR, K. Multiresidue analysis of multiclass pesticides and polyaromatic hydrocarbons in fatty fish by gas chromatography tandem mass spectrometry and evaluation of matrix effect. *Food Chemistry*, 196, 1–8. 2016.

CHEN, E.C.M., CHEN, E.S. Electron affinities from gas chromatography electron capture detector and negative ion mass spectrometry responses and complementary methods. *Journal of Chromatography A*, 1573, 1–17. 2018.

CHERTA, L., BELTRAN, J., LÓPEZ, F., & HERNÁNDEZ, F. Application of Fast Gas Chromatography–Mass Spectrometry in Combination with the QuEChERS Method for

the Determination of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables. *Food Analytical Methods*, 6, 1170–1187. 2012.

CHOI, M., LEE, I.S., JUNG, R.H. Rapid determination of organochlorine pesticides in fish using selective pressurized liquid extraction and gas chromatography mass spectrometry. *Food Chem.*, 205, 1-8. 2016.

COMITE DE INTEGRAÇÃO DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO PARAÍBA DO SUL (CEIVAP). *Resumo Executivo do PIRH Paraíba do Sul*. 2021. Disponível em: http://18.229.168.129:8080/publicacoesArquivos/ceivap/arbq_pubMidia_Processo_030-2018_PF02.pdf. Acesso em: 06 de março de 2023.

_____. *Relatório de Situação Bacia do Paraíba do Sul*. 2019a. Disponível em: <https://www.ceivap.org.br/conteudo/relsituacao2019.pdf>. Acesso em: 06 de dezembro de 2022.

_____. *Revista Pelas Águas do Paraíba*. 2019b. Disponível em: <https://www.ceivap.org.br/downloads/revista11.pdf>. Acesso em: 09 de março de 2023.

CORTES, D.R., HITES, R.A. Detection of statistically significant trends in atmospheric concentrations of semivolatile compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 2826-2829. 2000.

CHUI, Q. S. H., ZUCCHINI, R. R., & LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama. *Química Nova*, 24, 374–380.

DALLÜGE, J., BEENS, J., BRINKMAN, U. A. T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*, 1000, 69–108. 2003.

DALLÜGE, J., VAN RIJN, M., BEENS, J., VREULS, R. J. BRINKMAN, U. A. T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection applied to the determination of pesticides in food extracts. *Journal of Chromatography A*, 965(1-2), 207–217. 2002.

DAR, S. A., YOUSUF, A. R., BALKHI, M. U., GANAI, F. A., BHAT, F. A. Assessment of endosulfan induced genotoxicity and mutagenicity manifested by oxidative stress pathways in freshwater cyprinid fish crucian carp (*Carassius carassius* L.). *Chemosphere*, 120, 273–283. 2015.

DEMANBORO, A.C. Gestão ambiental e sustentabilidade na macrometrópole paulista - Bacia do Rio Paraíba do Sul. *Revista Sociedade e Natureza*, 27(3). 2015.

DEI CAS, M., CASAGNI, E., ARNOLDI, S., GAMBARO, V., RODA, G. Screening of new psychoactive substances (NPS) by gas chromatography/time of flight mass spectrometry (GC/MS-TOF) and application to 63 cases of judicial seizure. *Forensic Science International: Synergy*, 1, 71-78. 2019.

DOLLIMORE L, SCHIMPF W. Obsolete pesticide stocks - the past 25 years, lessons learned and observations for the future. *Outlooks on Pest Management*, 24, 251–256. 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA SOLOS). Manual de Métodos de Análise de Solo. 3ª Ed. Brasília -DF. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/172262/1/Pt-1-Cap-1-Preparo-de-amostras.pdf>. Acesso em: 29 de abril de 2023.

ELBASHIR, A. A., ABOUL-ENEIN, H. Y. Application of gas and liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry in pesticides: Multiresidue analysis. *Biomedical Chromatography*, 32, 4038. 2017.

FANG, Y., NIE, Z., YANG, J., DIE, Q., TIAN, Y., LIU, F., HE, J., WANG, J., HUANG, Q. Spatial distribution of and seasonal variations in endosulfan concentrations in soil, air, and biota around a contaminated site. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161, 402–408. 2018.

FARRAPEIRA, R.O., ANDRADE, Y.B., SCHENA, T., SCHNEIDER, J.K., VON MÜHLEN, C., BJERK, T.R., KRAUSE, L.C., CARAMAO, E.B. Characterization by Fast-GC × GC/TOFMS of the Acidic/Basic/Neutral Fractions of Bio-Oils from Fast Pyrolysis of Green Coconut Fibers. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 61, p. 9567-9574. 2022.

FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (FIPERJ). *Relatório de Visita e Avaliação do Acidente Ambiental no Rio Paraíba do Sul: trecho entre São Fidélis e São João da Barra*. 2008. Disponível em: <https://docplayer.com.br/13868756-Relatorio-de-visita-e-avaliacao-do-acidente-ambiental-no-rio-paraiba-do-sul-trecho-entre-sao-fidelis-e-sao-joao-da-barra.html>. Acesso em 21 de março de 2019.

GAGO-FERRERO, P., BOROVA, V., DASENAKI, M. E., THOMAIDIS, NIKOLAOS S. Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 4287–4297. 2015.

GAGO-FERRERO, P., KRETTEK, A., FISCHER, S., WIBERG, K., AHRENS, L. Suspect Screening and Regulatory Databases: A Powerful Combination to Identify Emerging Micropollutants. *Environmental Science & Technology*, 52, 6881–6894. 2018.

GARCIA, C.V. GOTAH, A. Application of QuEChERS for determining xenobiotics in foods of animal origin. *J. Anal. Methods Chem.*, 1–13. 2017.

GERMAN FEDERAL ENVIRONMENT AGENCY, UMWELTBUNDESAMT - GFEA-U. *Endosulfan. Draft Dossier prepared in support of a proposal of endosulfan to be considered as a candidate for inclusion in the CLRTAP protocol on persistent organic pollutants*. Berlin. 2007.

GIOCASTRO, B., PIPARO, M., TRANCHIDA, P. Q., & MONDELLO, L. Cryogenic modulation fast GC × GC-MS using a 10 m microbore column combination: Concept, method optimization, and application. *Journal of Separation Science*, 41, 1112–1117. 2018.

GLINSKI, D. A., PURUCKER, S. T., VAN METER, R. J., BLACK, M. C., HENDERSON, W. M. Analysis of pesticides in surface water, stemflow, and throughfall in an agricultural area in South Georgia, USA. *Chemosphere*, 209, 496–507. 2018.

GOOGLE. Google Earth website. Disponível em: [Http://earth.google.com/](http://earth.google.com/). 2020.

GÓMEZ, M. J., HERRERA, S., SOLÉ, D., GARCÍA-CALVO, E., FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Automatic Searching and Evaluation of Priority and Emerging Contaminants in Wastewater and River Water by Stir Bar Sorptive Extraction followed by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography-Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 83, 2638–2647. 2011.

GÓMEZ-RAMOS, M. M., FERRER, C., MALATO, O., AGÜERA, A., FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in fruit and vegetables: Screening and quantitative studies. *Journal of Chromatography A*, 1287, 24–37. 2013.

GOON, A., KHAN, Z., OULKAR, D., SHINDE, R., GAIKWAD, S., BANERJEE, K. A simultaneous screening and quantitative method for the multiresidue analysis of pesticides in spices using ultra-high-performance liquid chromatography-high resolution (Orbitrap) mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1532, 105–111. 2018.

GREVE, P.A., WIT. S.L. Endosulfan in the Rhine River. *Journal Water Pollution Control Federation*, 43, 12, 2338-2348. 1971.

GROB D, HARVEY AM. The effects and treatment of nerve gas poisoning. *Am J Med*, 14:52-63.1953.

HERNÁNDEZ, F., PITARCH, E., SERRANO, R., GASPAR, J.V., OLEA, N. Multiresidue Determination of Endosulfan and Metabolic Derivatives in Human Adipose Tissue Using Automated Liquid Chromatographic Cleanup and Gas Chromatographic Analysis. *Journal of Analytical Toxicology*, 26, 2, 94–103, 2002.

HOFFMAN, D.J., RATTNER, B.A., BURTON JR., G.A., CAIRNS JR. *Handbook of Ecotoxicology*. Second Edition. Lewis Publishers. 314-376. 2003.

HOH, E., DODDER, N.G., LEHOTAY, S.J., PANGALLO, K.C., REDDY, C.M., MARUYA, K.A. Nontargeted Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography/Time-of-Flight Mass Spectrometry Method and Software for Inventorying Persistent and Bioaccumulative Contaminants in Marine Environments. *Environ. Sci. Technol.*, 46, 8001. 2012.

HONG, S.H., SHIM, W.J., HAN, G.M., HA, S.Y., JANG, M., RANI, M., HONG, S., YEO, G.Y. Levels and profiles of persistent organic pollutants in resident and migratory birds

from an urbanized coastal region of South Korea. *Sci. Total Environ.*, 470-471, 1463-1470. 2014.

HUYTEN, F. H., RIJNDERS, G. W. A. Some rapid identification methods in gas chromatography. *Fresenius' Zeitschrift For Analytische Chemie*, 205(1), 244–262. 1964.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). *Relatório de Acidentes Ambientais 2008. Diretoria de Proteção Ambiental – DIPRO, Coordenação Geral de Emergências Ambientais – CGEMA, Brasília. Mai. 2009.*

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*. DOQ-CGCRE-008, 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH); *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION (ISO/IEC 17025); *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*, 1999.

JABALI, Y., MILLET, M., EL-HOZ, M. Optimization of a DI-SPME-GC–MS/MS method for multi-residue analysis of pesticides in waters. *Microchemical Journal*, 147, Pages 83-92. 2019.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fase sólidas. *Scientia Chromatographica*, 2, 13-25, 2010.

KAFILZADEH, F. Assessment of organochlorine pesticide residues in water, sediments and fish from Lake Tashk, Iran. *Arch. Life Sci*, 9, 107-111. 2015.

KAHN, J. R., VÁSQUEZ, W. F., & DE REZENDE, C. E. Choice modeling of system-wide or large scale environmental change in a developing country context: Lessons from the Paraíba do Sul River. *Science of The Total Environment*, 598, 488–496. 2017.

KIDA, M., ZIEMBOWICZ, S., & KOSZELNIK, P. Removal of organochlorine pesticides (OCPs) from aqueous solutions using hydrogen peroxide, ultrasonic waves, and a hybrid process. *Separation and Purification Technology*, 192, 457–464. 2018.

KOWAL, S., BALSAA, P., WERRES, F., SCHMIDT, T.C. Determination of the polar pesticide degradation product N,N-dimethylsulfamide in aqueous matrices by UPLC-MS/MS. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 395, 1787-1794. 2009.

KOWALSKI, J., MISSELWITZ, M., THOMAS, J., COCHRAN, J. *Developing New Methods for Pesticides in Dietary Supplements Advantages of the QuEChERS Approach*. Application Note PHAN1242A, Restek Corporation, 2010.

LARA-GONZALO, A., SÁNCHEZ-URÍA, J.E., SEGOVIA-GARCÍA, E., SANZ-MEDEL, A. Selected ion storage versus tandem MS/MS for organochlorine pesticides

determination in drinking waters with SPME and GC-MS. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 92, 856–867. 2012.

LEADPRATHOM, N., PARKPIAN, P., SATAYAVIVAD, J., DELAUNE, R.D., JUGSUJINDA, A. Transport and deposition of organochlorine pesticides from farmland to estuary under tropical regime and their potential risk to aquatic biota. *J. Environ. Sci. Health Part B*, 44, 249-261. 2009.

LEHOTAY, S.J., MASTOVSKA, K., LIGHTFIELD, A.R. Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables. *AOAC Int.*, 88, 615. 2005.

LEHOTAY, S.J., SON, K.A., KWON, H., KOESUKWIWAT, U., FU, W., MASTOVSKA, K., HOH, E., LEEPIPATPIBOON, N. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A*, 1217, 2548–2560. 2010.

LIORNT-MARTINEZ, E.J., ORTEGA-BARRALES, P., FERNANDEZ-DE CORDOVA, M.L., RUIZMEDINA, A. Trends in flow-based analytical methods applied to pesticide detection: a review. *Anal. Chim. Acta*, 684, 30–39. 2011.

LUCERO, P. A., FERRARI, M. M., ORDEN, A. A., CAÑAS, I., NASSETTA, M., KURINA-SANZ, M. Treatment of endosulfan contaminated water with in vitro plant cell cultures. *Journal of Hazardous Materials*, 305, 149–155. 2016.

MAGNI, P. A., PAZZI, M., VINCENTI, M., CONVERSO, V., & DADOUR, I. R. Development and Validation of a Method for the Detection of α - and β -Endosulfan (Organochlorine Insecticide) in *Calliphora vomitoria* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 55(1), 51–58. 2017.

MARENGO, J. A. ALVES, L. M. Tendências Hidrológicas da Bacia do Rio Paraíba do Sul. *Revista Brasileira de Meteorologia*. São Paulo: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), 20, 2. 215-226. 2005.

MASTOVSKA, K., DORWEILER, K.J., LEHOTAY, S.J., WEGSCHEID, J.S., SZPYLKA, K.A. Pesticide multiresidue analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 5959–5972. 2010.

MATAMOROS, V., JOVER, E., BAYONA, J. M. Part-per-Trillion Determination of Pharmaceuticals, Pesticides, and Related Organic Contaminants in River Water by Solid-Phase Extraction Followed by Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 82(2), 699–706. 2010.

MAZZA, F.C. WEINSCHTZ, R., KASKANTZIS, G. *Contaminação do Rio Paraíba do Sul por endossulfan: avaliação dos modelos matemáticos de Mackay e dinâmico de Fick*. Dissertação (mestrado profissional) – Universidade Federal do Paraná, SENAI - PR, Universität Stuttgart, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial. 2011.

MEGHESAN-BREJA, A., MARUTOIU, C., CIMPOIU, C. Multi-residues Analysis for 88 Pesticides and Metabolites from Soil by Gas Chromatography-time - of - Flight Mass Spectrometry. *Rev. Chim. (Bucharest)*, 66, 1. 2015.

MEGHESAN-BREJA, A., MORAR, F. *Multiresidue Analysis of 70 Pesticides from Soil by Gas Chromatography–Time-Of-Flight Mass Spectrometry GC TOF – MS*. The 6th edition of the Interdisciplinarity in Engineering International Conference “Petru Maior” University of Tîrgu Mureş, Romania, 2012.

MENEZES, R. G., QADIR, T. F., MOIN, A., FATIMA, H., HUSSAIN, S. A., MADADIN, M., ... SENTHILKUMARAN, S. Endosulfan poisoning: An overview. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 51, 27–33, 2017.

MILESI, M. M., VARAYOUD, J., RAMOS, J. G., LUQUE, E. H. Uterine ER α epigenetic modifications are induced by the endocrine disruptor endosulfan in female rats with impaired fertility. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 454, 1–11. 2017.

MISSELWITZ, M., COCHRAN, J., KOWALSKI, J. Evaluation of Dispersive and Cartridge Solid Phase Extraction (SPE) Cleanups for Multiresidue Pesticides in QuEChERS Extracts of Finished Tobacco Using GCxGC-TOFMS. *Food Safety Applications*. Innovative Chromatography Solutions. 2013.

MOL, H.G.J., HENDRIKS, P.J.M., JANSSEN, H.G.CRAMERS, C.A., BRINKMAN, U.A.Th. Large Volume Injection in Capillary GC Using PTV Injectors: Comparison of Inertness of Packing Materials. *GL Sciences*, 18, 1995. Disponível em: <https://www.glsciences.com.cn/uploads/soft/190725/1-1ZH5135452.pdf>. Acesso em: 24 de abr. 2023

MONDAL, R., MUKHERJEE, A., BISWAS, S., KOLE, R. K. GC-MS/MS determination and ecological risk assessment of pesticides in aquatic system: A case study in Hooghly River basin in West Bengal, India. *Chemosphere*, 206, 217–230. 2018.

MOON, H.B., KIM, H.S., CHOI, M., CHOI, H.G. Human health risk of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides resulting from seafood consumption in South Korea, 2005 e 2007. *Food Chem. Toxicol.*, 47, 1819-1825. 2009.

MONTGOMERY, D.C., RUNGER, G.C. *Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros*, 2 ed. Rio de Janeiro. LTC. 2003.

MURRAY, D., WESSELING, C., KEIFER, M., CORRIOLS, M., HENAO, S. Surveillance of Pesticide-related Illness in the Developing World: Putting the Data to Work. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 8, 243–248. 2002.

MUSCALU, A. M., & GÓRECKI, T. Comprehensive two-dimensional gas chromatography in environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 106, 225–245. 2018.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 11 de dezembro de 2022.

NAWAZ, A., RAZPOTNIK, A., ROUIMI, P., DE SOUSA, G., CRAVEDI, J. P., RAHMANI, R. Cellular impact of combinations of endosulfan, atrazine, and chlorpyrifos on human primary hepatocytes and HepaRG cells after short and chronic exposures. *Cell Biology and Toxicology*, 30, 17–29. 2014.

NEBEKER, A. V., MCCRADY, J. K., MSHAR, R., MCAULIFFE, C. K. Relative sensitivity of *Daphnia Magna*, rainbow trout and fathead minnows to endosulfan. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2, 69–72. 1983.

NGUMBA, E., GACHANJA, A., NYIRENDA, J., MALDONADO, J., TUHKANEN, T. Occurrence of antibiotics and antiretroviral drugs in source-separated urine, groundwater, surface water and wastewater in the peri-urban area of Chunga in Lusaka, Zambia. *African Journals Online*, 46. 2020.

OCHIAI, N., IEDA, T., SASAMOTO, K., TAKAZAWA, Y., HASHIMOTO, S., FUSHIMI, A., TANABE, K. Stir bar sorptive extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry for ultra-trace analysis of organochlorine pesticides in river water. *Journal of Chromatography A*, 1218, 6851–6860. 2011.

OLIVEIRA, M., FRIHLING, B.E.F., VELASQUES, J., FILHO, F.J.C.M., CAVALHERI, P.S., MIGLIOLO, L. Pharmaceuticals residues and xenobiotics contaminants: Occurrence, analytical techniques and sustainable alternatives for wastewater treatment. *Science of Total Environment*, 705, 135568. 2020.

OVALLE, A. R. C., SILVA, C. F., REZENDE, C. E., GATTS, C. E. N., SUZUKI, M. S., AND FIGUEIREDO, R. O. Long-term trends in hydrochemistry in the Paraíba do Sul River, southeastern Brazil. *J. Hydrol.*, 481, 191–203. 2013.

PASCALE, R., BIANCO, G., COVIELLO, D., LAFIOSCA, M.C., MASI, S., MANCINI, I.M., ..., CANIANI, D. Validation of a liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method for the determination of drugs in wastewater using a three-phase solvent system. *Journal of Separation Science*, 43, 886-895. 2019.

PICHON, V. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *Journal of Chromatography A*, 885, 195–215. 2000.

PICÓ Y, FERNANDEZ M, RUIZ MJ, FONT G. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70:117-131. 2007.

PILLI, S. R., BANERJEE, T., MOHANTY, K. Ionic Liquids as Green Solvents for the Extraction of Endosulfan from Aqueous Solution: A Quantum Chemical Approach. *Chemical Product and Process Modeling*, 8, 1–14. 2013.

PIRSAHEB, M., FATTAHI, N., AMIRIAN, F., SHARAFI, K. Determination of Diazinon, Phosalone and Endosulfan in Raw Milk using Continuous Sample Drop Flow Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatography–Ultraviolet Detection. *Journal of Analytical Chemistry*, 74, 114–120. 2019.

POLLO, B. J., TEIXEIRA, C. A., BELINATO, J. R., FURLAN, M. F., CRISTINA DE MATOS CUNHA, I., VAZ, C. R., ... AUGUSTO, F. Chemometrics, Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography And “Omics” Sciences: Basic Tools And Recent Applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116111. 2020.

PORTER, S. N., HUMPHRIES, M. S., BUAH-KWOFIE, A., SCHLEYER, M. H. Accumulation of organochlorine pesticides in reef organisms from marginal coral reefs in South Africa and links with coastal groundwater. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 295–305. 2018.

QUEIROZ, S.C.N., FERRACINI, V.L., ROSA, M.A. Validação de Método Multirresíduo para Determinação de Pesticidas em Alimentos Empregando QuEChERS e UPLC-MS/MS. *Quim. Nova*, 35, 1, 185-192. 2012.

RASHID, A. NAWAZ, S. BARKER, H. AHMAD, I. ASHRAF, M. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, 1217, 2933–2939. 2010.

REDDY MUDIAM, M. K., CH, R., CHAUHAN, A., MANICKAM, N., JAIN, R., MURTHY, R. C. Optimization of UA-DLLME by experimental design methodologies for the simultaneous determination of endosulfan and its metabolites in soil and urine samples by GC–MS. *Analytical Methods*, 4, 3855. 2012.

RESENDE. *Ação Civil Pública com pedido de liminar*. Vara Cível da Comarca de Resende – RJ. 2008. Disponível em: <https://pge.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MTIyNw%2C%2C>. Acesso em: 12 de março de 2019.

_____. *Relatório de Esgotamento Sanitário Municipal*. Atlas Esgoto. Despoluição de Bacias Hidrográficas. 2017. Disponível em: https://portal1.snirh.gov.br/arquivos/Atlas_Esgoto/Rio_de_Janeiro/Relatorio_Geral/Resende.pdf. Acesso em: 06 de março de 2023.

_____. *Plano Municipal de gestão integrada de resíduos sólidos – PMGIRS*. 2017. Disponível em: http://www.sigaceivap.org.br:8080/publicacoesArquivos/ceivap/arq_pubMidia_Processo_148-2017_CM.pdf. Acesso em: 02 de abril de 2020.

RIBANI, M., BOTTOLI, C.B.G., COLLINS, C.H., JARDIM, I.C.S.F. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Quim. Nova*, 27, 5, 771-780, 2004.

RIZZETTI, T.M., KEMMERICH, M., MARTINS, M.L., PRESTES, O.D., ADAIME, M.B., ZANELLA, R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC–MS/MS. *Food Chem.*, 196, 25–33. 2016.

ROBINSON, E.M., JIA, M., TRUMBLE, S.J., USENKO, S. Selective pressurized liquid extraction technique for halogenated organic pollutants in marine mammal blubber: a lipid-rich matrix. *J. Chromatogr. A*, 1385, 111-115. 2015.

RODRIGUES, E.T., PARDAL, M.Â., SALGUEIRO-GONZÁLEZ, N., MUNIATEGUI-LORENZO, S., ALPENDURADA, M.F. A single-step pesticide extraction and clean-up multi-residue analytical method by selective pressurized liquid extraction followed by on-line solid phase extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for complex matrices. *Journal of Chromatography A*, 1452, 10–17. 2016.

RODRIGUES, J.S., CORDEIRO, J., CALAZANS, G.M., CORDEIRO, J.L., GIMARÃES, J.C.S. Presença de fármacos e hormônios na água: uma análise cienciométrica. *Research, Society and Development*, 7, 6, 776185. 2018.

ROUT, P.R., ZHANG, T.C., BHUNIA, P., SURAMPALLI, R.Y. Treatment technologies for emerging contaminants in wastewater treatment plants: A review. *Science of Total Environmental*, 753, 141990. 2021.

SAITO-SHIDA, S., HAMASAKA, T., NEMOTO, S., AKIYAMA, H. Multiresidue determination of pesticides in tea by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry: Comparison between Orbitrap and time-of-flight mass analyzers. *Food Chemistry*, 256, 140–148. 2018.

SANGSTER, J. Octanol–Water partition coefficients of simple organic compounds. *J. Phys. Chem.* 18, 1111. 1989.

SANTOS, E.P.C.C. (2011) *Remoção de etinilestradiol no tratamento de água para consumo humano: estudo em escala piloto*. 150p. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SCHENA, T., BJERK, T. R., VON MÜHLEN, C., & CARAMÃO, E. B. Influence of acquisition rate on performance of fast comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry for coconut fiber bio-oil characterization. *Talanta*, 12.118. 2020.

SCHMIDT, W. F., BILBOULIAN, S., RICE, C. P., FETTINGER, J. C., MCCONNELL, L. L., HAPEMAN, C. J. Thermodynamic, Spectroscopic, and Computational Evidence for the Irreversible Conversion of β - to α -Endosulfan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5372–5376. 2001.

SCHYMANSKI, E. L., SINGER, H. P., SLOBODNIK, J., IPOLYI, I. M., OSWALD, P., KRAUSS, M., HOLLENDER, J. Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 6237–6255. 2015.

SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE (SEA), INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE - INEA. *Laudo técnico sobre os impactos na ictiofauna e no*

Abastecimento público provocado pelo Acidente ambiental ocorrido na indústria Servatis S.A. 2009. Disponível em: http://www.inea.rj.gov.br/downloads/Acidente_Servatis_Laudo_Impacto_Ictiofauna_2_2_12_08.pdf. Acesso em: 05 de outubro de 2018.

SHABIR, G.A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A*, 987, 1–2, 14, 57-66. 2003.

SHAH, V.P., MIDHA, K.K., FINDLAY, J.W., HILL, H.M., HULSE, J.D., MCGILVERAY, I.J., MCKAY, G., MILLER, K.J., PATNAIK, R.N., POWELL, M.L., TONELLI, A., VISWANATHAN, C.T., YACOBI, A. Bioanalytical method validation—a revisit with a decade of progress, *Pharm. Res.*, 17, 1551–1557. 2000.

SHARMA N, DEB R, SAMTANI R. Level of endosulfan among women in Talwandi Sabo Block of Southern Punjab, India. *Indian J Public Health*, 2019; 63, 83-5. 2019.

SHARMA, D., NAGPAL, A., PAKADE, Y.B., KATNORIA, J.K. Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: a review. *Talanta*, 82, 1077–1089. 2010.

SIGMA-ALDRICH. *Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico*. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/sds/sial/36675>. Acesso em: 24 de abril de 2023.

SIN, D. W., WONG, Y.L., CHENG, E. C., LO, M., HO, C., MOK, C., WONG, S. S1 certification of alpha-endosulfan, beta-endosulfan, and endosulfan sulfate in a candidate certified reference material (organochlorine pesticides in tea) by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407, 3009–3021. 2015.

SINGH, M., SINGH, D. K. Biodegradation of Endosulfan in Broth Medium and in Soil Microcosm by *Klebsiella* sp. M3. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92, 237–242. 2014.

SOUZA, R.C., PORTELLA, R.B., ALMEIDA, P.V.N.B, PINTO, C.O., GUBERT, P., SILVA, J.D.S., NAKAMURA, T.C., REGO, E.L. Human milk contamination by nine organochlorine pesticide residues (OCPs). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 55, 530-538, 2020.

STAN, H. Application of Capillary Gas Chromatography with Mass Selective Detection to Pesticide Residue Analysis. *Journal of Chromatography*, 467, 85-89. 1989.

STRAUCH, C.E. *Acidentes ambientais com produtos perigosos no Rio Paraíba do Sul*. Instituto Estadual do Ambiente – INEA. 2010.

SYED, J. H., ALAMDAR, A., MOHAMMAD, A., AHAD, K., SHABIR, Z., AHMED, H., ALI, S.M., SANI, S.G.A.S., BOKHARI, H., GALLAGHER, K.D., AHMAD, I., EQANI, S.

A. M. A. S. Pesticide residues in fruits and vegetables from Pakistan: a review of the occurrence and associated human health risks. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 13367–13393. 2014.

TARGA, M.S., BATISTA, G.T. Benefits and legacy of the water crisis in Brazil. *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 10. 2015.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; FAJGELJ, A.; WILLETTS, P.; WOOD, R. Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. *Pure Appl. Chem.* 71, 337. 1999.

THOMPSON, M., ELLISON, S. L. R., WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74, 835–855. 2002.

ULČNIK, A., CIGIĆ, I. K., POHLEVEN, F. Degradation of lindane and endosulfan by fungi, fungal and bacterial laccases. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 2239–2247. 2013.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. *Note to reader. Endosulfan Readers Guide*. November 16. EPA-HQ-OPP-2002-0262-0057. 2007.

VAN DEN DOOL H., KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 11, 463–471. 1963.

VAN DER LEE, M.K., VAN DER WEG, G., TRAAG, W.A., MOL, H.G.J. Qualitative screening and quantitative determination of pesticides and contaminants in animal feed using comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1186, 325–339. 2008.

VARSAMIS, D.G., TOULOUPAKIS, E., MORLACCHI, P., GHANOTAKIS, D.F., GIARDI, M.T., CULLEN, D.C. Development of a photosystem II-based optical microfluidic sensor for herbicide detection. *Talanta*, 77, 1, 19, 42-47. 2008.

VASSILAKIS, I., TSIPI, D., SCOULLOS, M. Determination of a variety of chemical classes of pesticides in surface and ground waters by off-line solid-phase extraction, gas chromatography with electron-capture and nitrogen–phosphorus detection, and high-performance liquid chromatography with post column derivatization and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 823, 49–58. 1998.

VERMA, A., ALI, D., FAROOQ, M., PANT, A. B., RAY, R. S., HANS, R. K. Expression and inducibility of endosulfan metabolizing gene in *Rhodococcus* strain isolated from earthworm gut microflora for its application in bioremediation. *Bioresource Technology*, 102, 2979–2984. 2011.

VIJGEN, J., ALIYEVA, G., WEBER, R. The Forum of the International HCH and Pesticides Association—a platform for international cooperation. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2081–2086. 2013.

VON MÜHLEN, C., MANGELLI, L.N.R., MARRIOTT, P.J. Average theoretical peak time as a metric to analytical speed in one dimensional and multidimensional gas chromatographic separations. *Journal of Chromatography A*, 1667- 462887. 2022.

VON MÜHLEN, C., MARRIOTT, P.J. Transferência de métodos cromatográficos monodimensionais para cromatografia gasosa bidimensional abrangente e boas práticas para controle de qualidade experimental. *Scientia Chromatographica*, 8. 2016.

VON MÜHLEN, C., KHUMMUENG, W., ZINI, C.A., CARAMÃO, E.B, MARRIOTT, P.J. Detector technologies for comprehensive two-dimensional gas chromatography. Review. *Journal of Separation Science*, 29, 1909-1921. 2006.

VON MÜHLEN, C., ZINI, C.A., CARAMÃO, E.B. Nomenclatura na língua portuguesa em cromatografia multidimensional abrangente. *Química Nova*, 30, 682-687. 2007.

WALSE, S. S., SCOTT, G. I., FERRY, J. L. Stereoselective degradation of aqueous endosulfan in modular estuarine mesocosms: formation of endosulfan γ -hydroxycarboxylate. *J. Environ. Monit.*, 5, 373–379. 2003.

WESTERHOFF, P., YOON, Y., SNYDER, S., WERT, E. Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. *Environmental Science & Technology*, 39, 6649–6663. 2005.

WITCZAK, A., POHORYŁO, A., ABDEL-GAWAD, H. Endocrine-Disrupting Organochlorine Pesticides in Human Breast Milk: Changes during Lactation. *Nutrients*, 13, 229. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Endosulfan*. Environmental Health Criteria 40. ISBN 9241541806.

WILDE, M. J., ZHAO, B., CORDELL, R. L., IBRAHIM, W., SINGAPURI, A., GREENING, N. J., ... FREE, R. C. Automating and extending comprehensive two-dimensional gas chromatography data processing by interfacing open-source and commercial software. *Analytical Chemistry*, 1-10, 2020.

WHITE, HALBERT. A. Heteroskedasticity -Consistent Covariance Matrix and a Direct Test For Heteroskedasticity. *Econometrica*, 48, 721-746.1980.

WOODING, M., ROHWER, E. R., NAUDÉ, Y. Comparison of a disposable sorptive sampler with thermal desorption in a gas chromatographic inlet, or in a dedicated thermal desorber, to conventional stir bar sorptive extraction-thermal desorption for the determination of micropollutants in water. *Analytica Chimica Acta*, 984, 107–115. 2017.

XIA, D., GAO, L., ZHENG, M., TIAN, Q., HUANG, H., QIAO, L. A Novel Method for Profiling and Quantifying Short- and Medium-Chain Chlorinated Paraffins in Environmental Samples Using Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography–Electron Capture Negative Ionization High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 50, 7601–7609. 2016.

YADAV, A., ALAM, F., KOTHARI, N.S., GAHLOT, R.K. Suicidal Endosulphan Poisoning in a Pregnant Woman A Case Report. *J Indian Acad Forensic Med.*, 35, 2, 187-188. 2013.

YADLA M, YANALA SR, PARVITHINA S, CHENNU KK, ANNAPINDI N, VISHNUBHOTLA S. Acute kidney injury in endosulfan poisoning. *Saudi J Kidney Dis Transpl.*, 24, 592-593. 2013.

Yi, F., DeLisio, J. B., Zachariah, M. R., & LaVan, D. A. Nanocalorimetry-Coupled Time-of-Flight Mass Spectrometry: Identifying Evolved Species during High-Rate Thermal Measurements. *Analytical Chemistry*, 87, 9740–9744. 2015.

YOSHIMURA, K., WAKI, H., OHASHI, S. Ion-Exchanger Colorimetry – I, Micro Determination of Chromium, Iron, Copper and Cobalt in Water. *Talanta*, 23, 449-454. 1976.

ZHAO, P., ZHAO, J., LEI, S., GUO, X., ZHAO, L. Simultaneous enantiomeric analysis of eight pesticides in soils and river sediments by chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, 204, 210–219. 2018.

ZROSTLÍKOVÁ, J., HAJŠLOVÁ, J., ČAJKA, T. Evaluation of two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry for the determination of multiple pesticide residues in fruit. *Journal of Chromatography A*, 1019, 173–186. 2003.

APÊNDICE A - Script do R para análises estatísticas das curvas analíticas.

```

setwd('d:\\doutorado/carim/Rstudio')
tofms=read.csv("B-BHC.csv",header=T,sep=",",dec = ".") #separado por virgula e nao ponto e
virgula!
summary(tofms)
dim(tofms)
names(tofms)
View(tofms)
tofms[c(5:12),c(1:4)]

z=plot(tofms[c(5:12),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:12),c(1:4)]$A1, xlab = "Concentração",ylab = "1°
ensaio",col="blue",pch=3)
regressão=lm(A1~Cx,data=tofms[c(5:12),c(1:4)])
regressão
summary(regressão)
grid(z) #aplicando grid ao gráfico
abline(regressão, col=4)
cor(tofms[c(5:9),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:9),c(1:4)]$A1)^2 #anotar respostas

z=plot(tofms[c(5:12),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:12),c(1:4)]$A2, xlab = "Concentração",ylab = "2°
ensaio",col="green",pch=2)
regressão=lm(A2~Cx,data=tofms[c(5:12),c(1:4)])
regressão
summary(regressão)
grid(z) #aplicando grid ao gráfico
abline(regressão, col=3)
cor(tofms[c(5:9),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:9),c(1:4)]$A2)^2 #anotar respostas

z=plot(tofms[c(5:12),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:12),c(1:4)]$A3, xlab = "Concentração",ylab = "3°
ensaio",col="red",pch=1)
regressão=lm(A3~Cx,data=tofms[c(5:12),c(1:4)])
regressão
summary(regressão)
grid(z) #aplicando grid ao gráfico
abline(regressão, col=2)
cor(tofms[c(5:9),c(1:4)]$Cx,tofms[c(5:9),c(1:4)]$A3)^2 #anotar respostas

t(tofms)
x=t(tofms)
y = x[c(2:4),c(1:14)]

```

```

summary(y)
boxplot(y)
var(y)#os valores sao 1,1 2,2 3,3 e etc.
v=var(y)
v^0.5

x = c(266.71,175.37,141.41) #coef. angular
y= c(1110.7,669.85,1200.5) #coef. linear
z= c(0.9273,0.9937,0.9036) #regressão
mean(x)
mean(y)
mean(z)

x = c(266.71,175.37,141.41,mean(x)) #coef. angular+média
y= c(1110.7,669.85,1200.5,mean(y)) #coef. linear+média
z= c(0.9273,0.9937,0.9036,mean(z)) #regressão+média

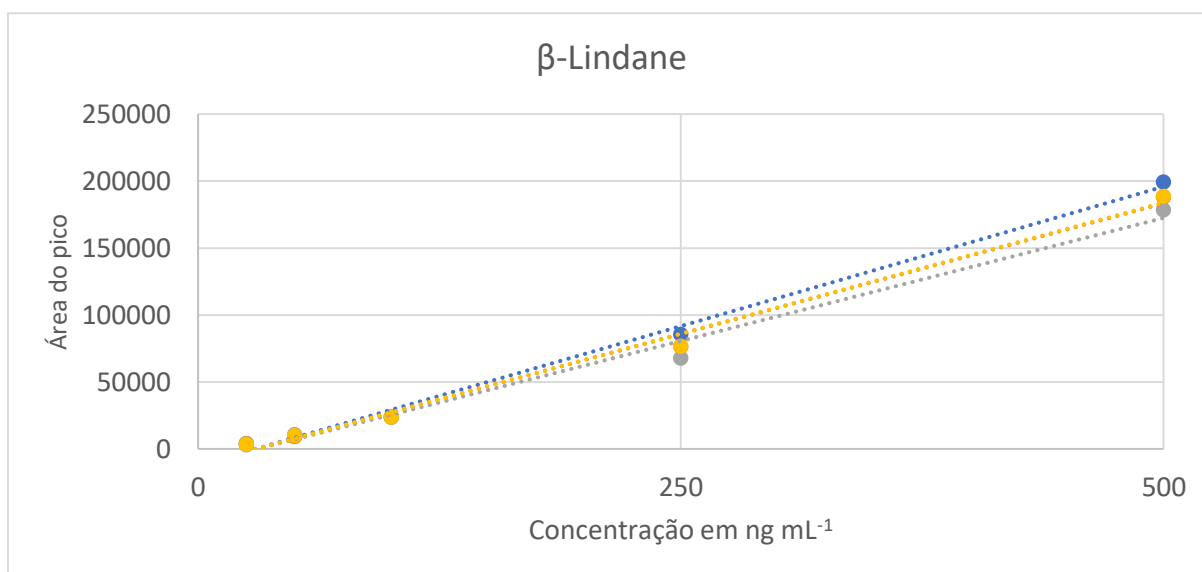
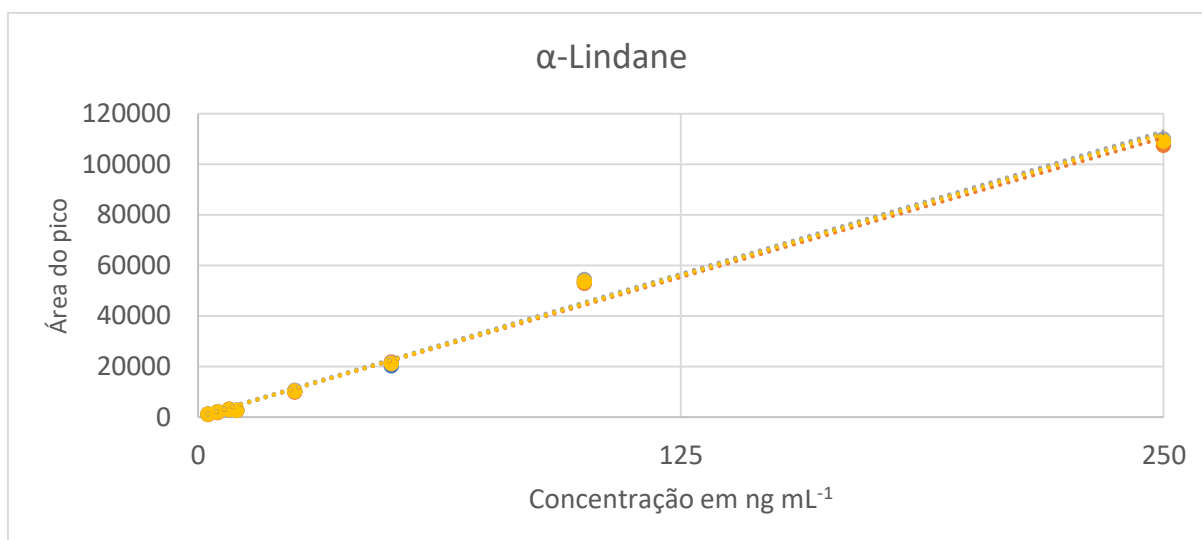
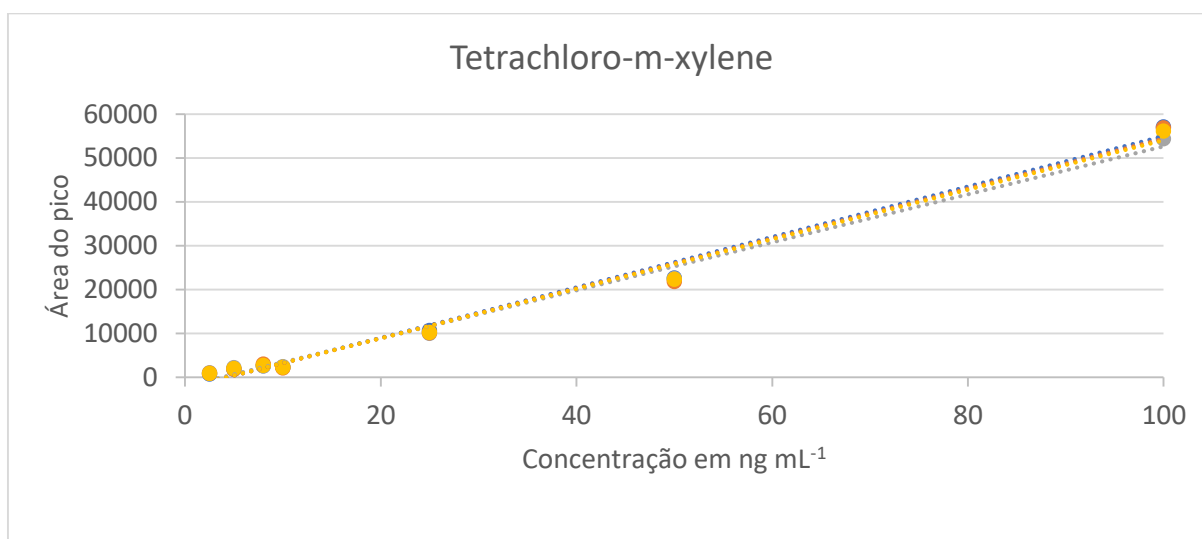
mean(x)
var(y)^0.5
sd = var(y)^0.5
mean(z)

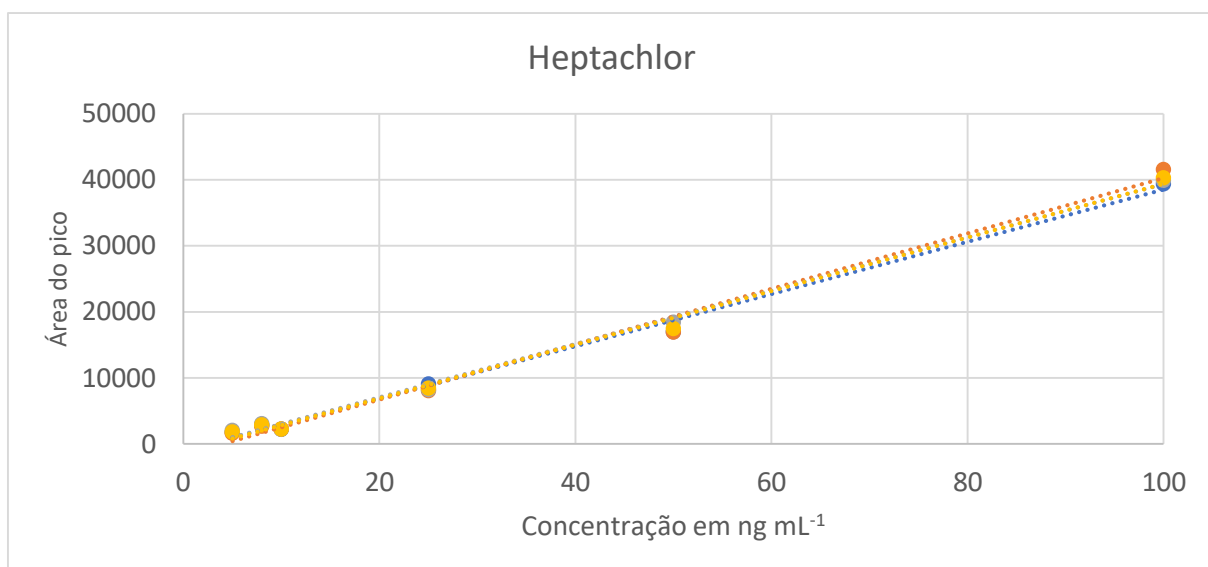
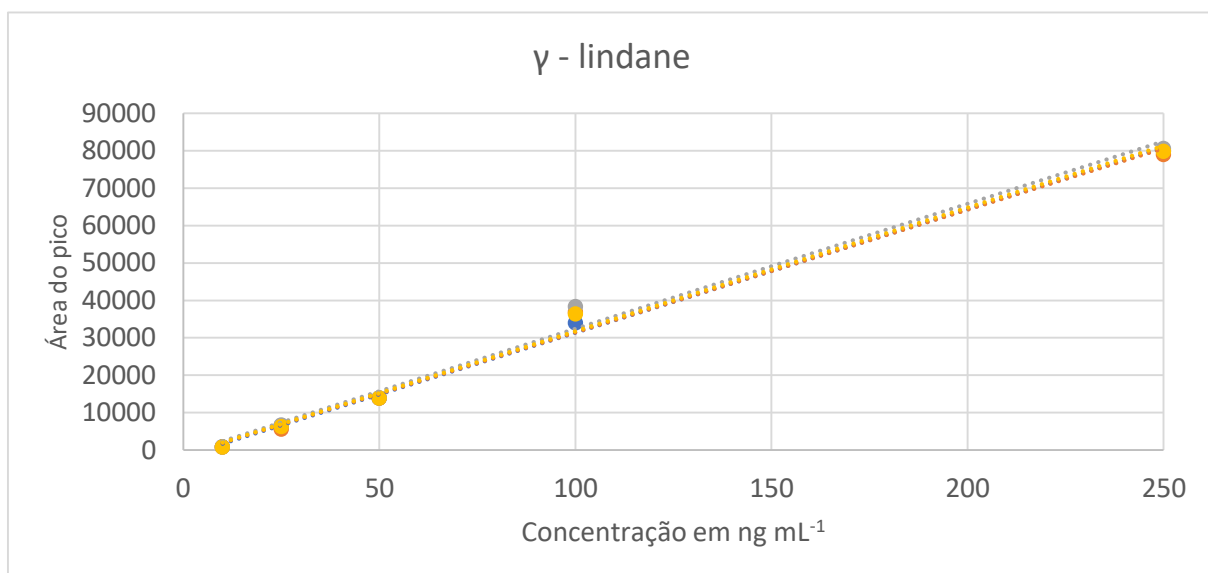
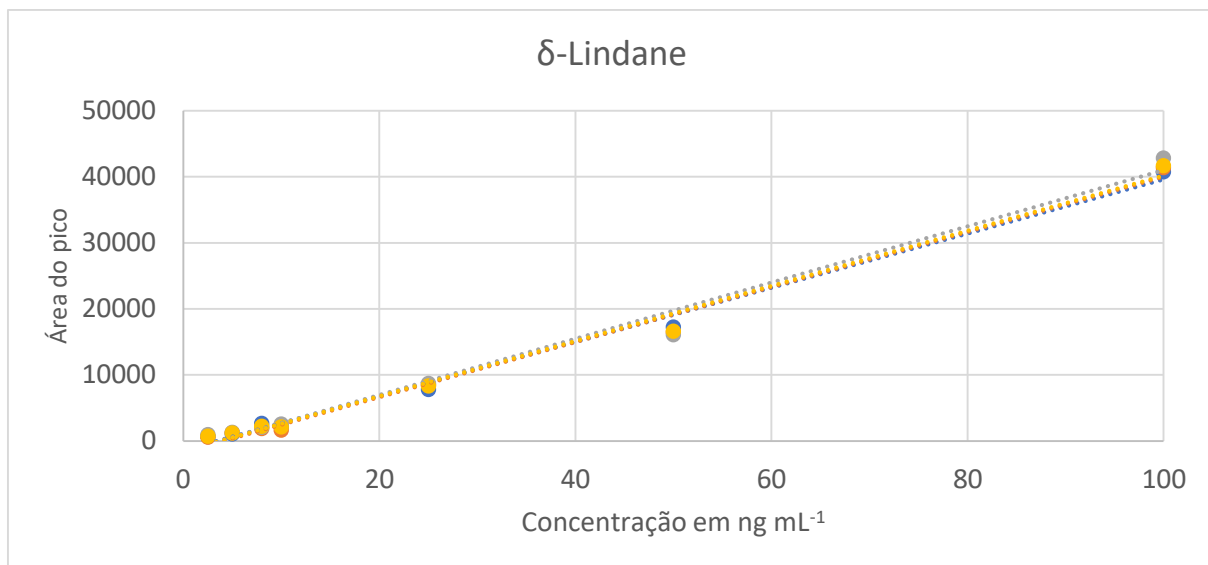
3.3*sd(y)/mean(x)
10*sd(y)/mean(x)

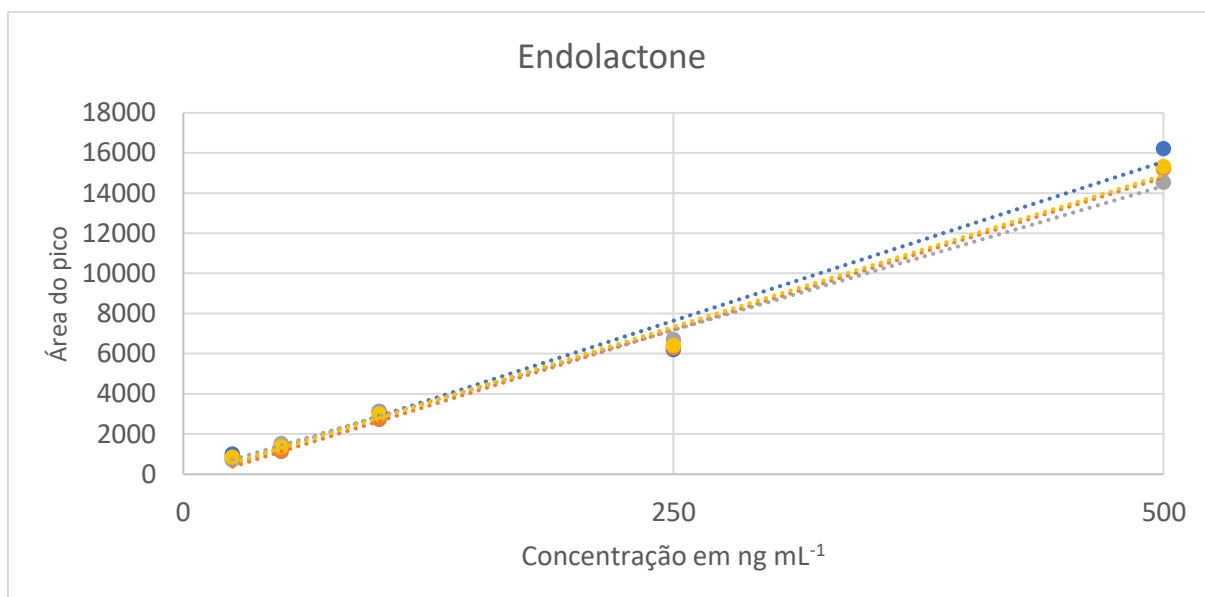
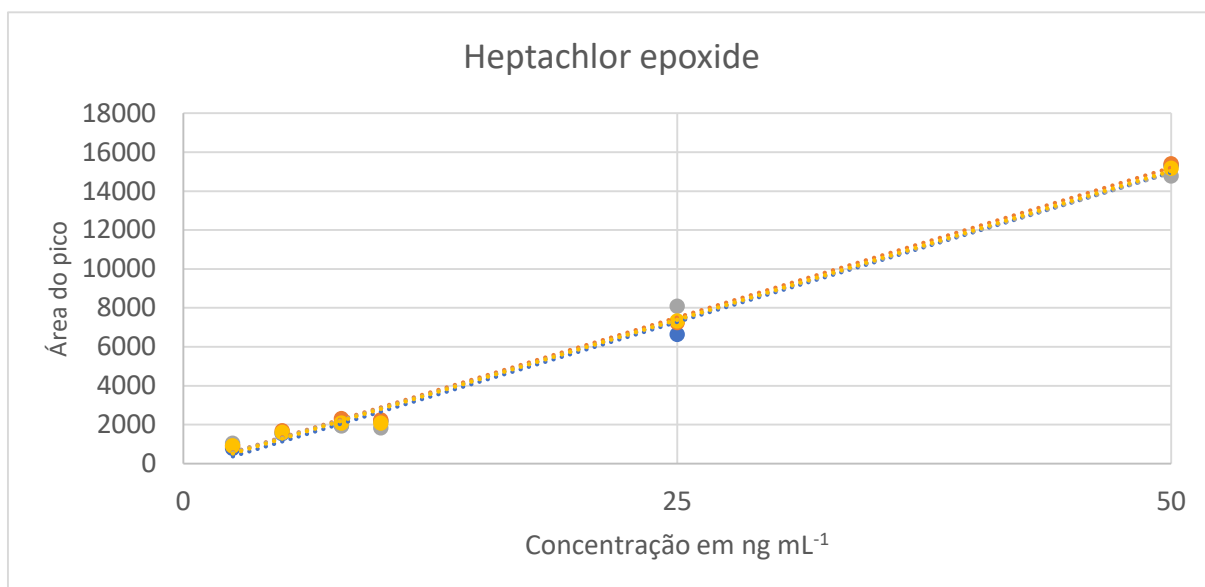
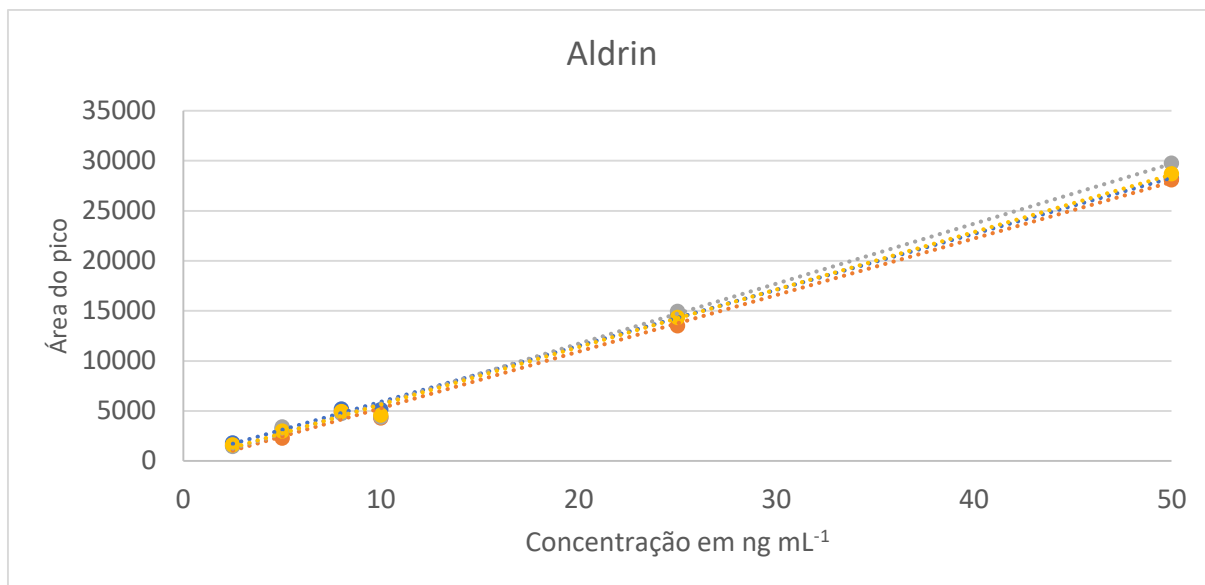
require(factoextra)
require(FactoMineR)
require(corrplot)
require(openair)
require(Boruta)

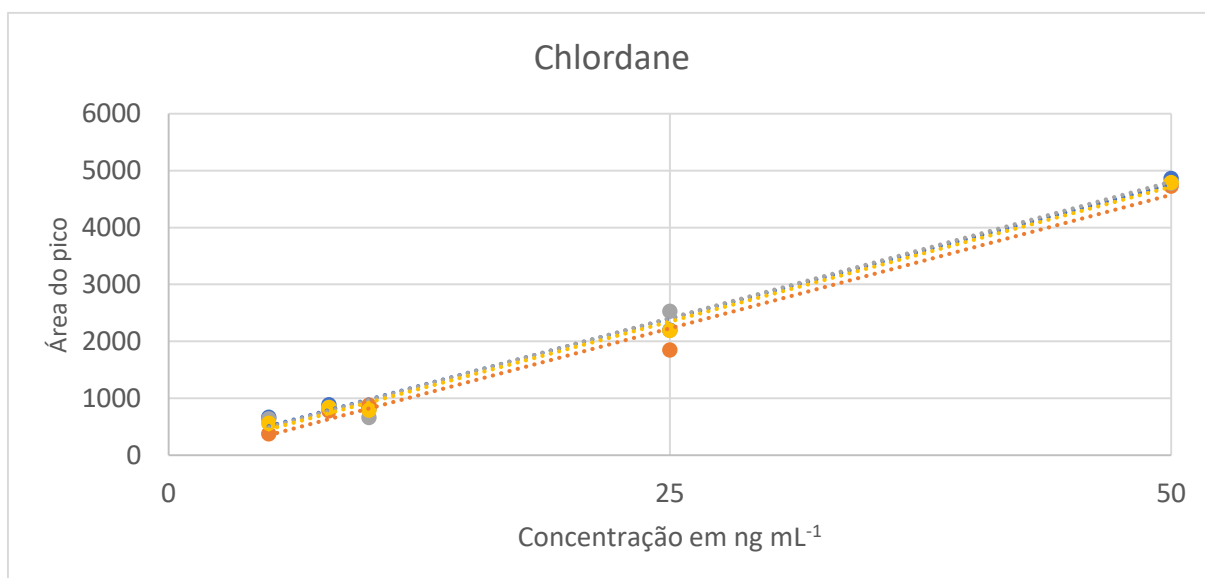
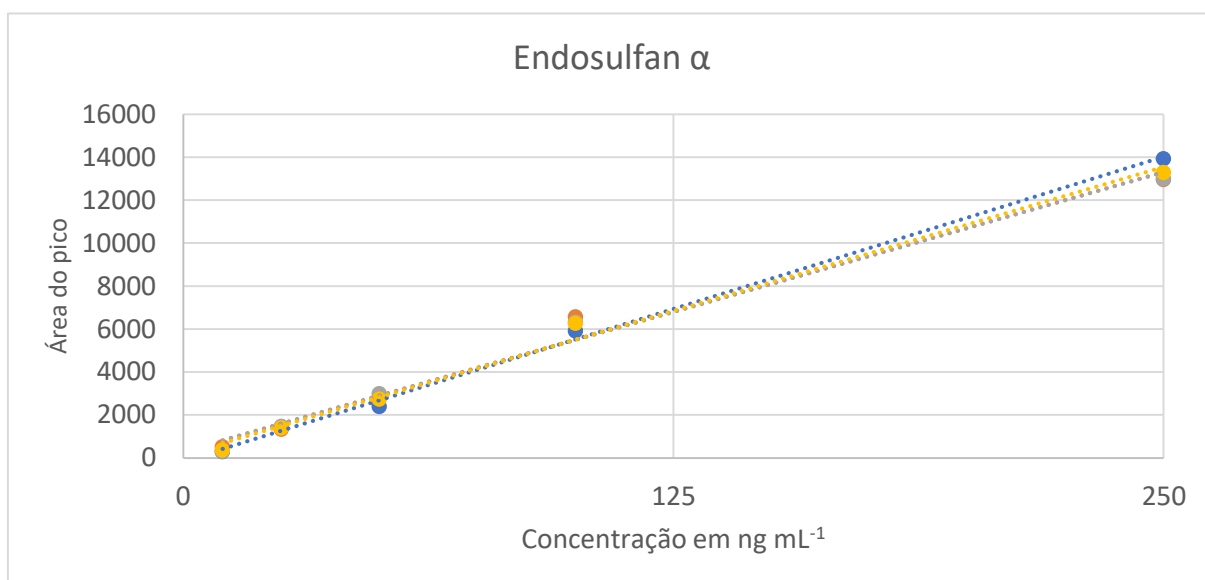
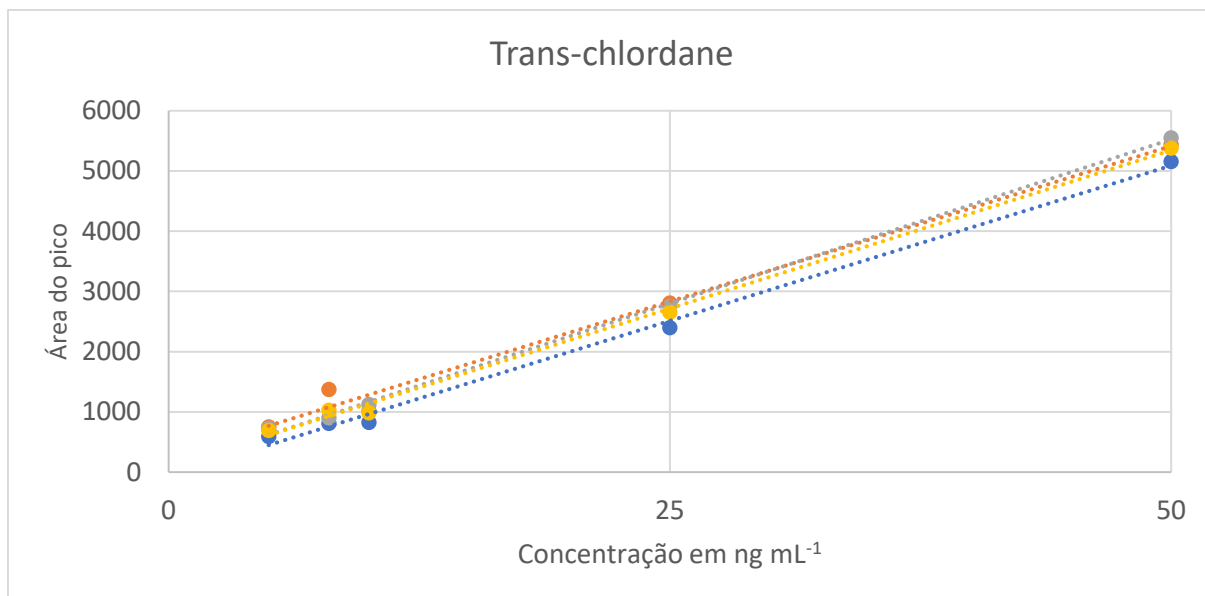
graficos=tofms[2:4]
pairs(graficos)
tofms[c(2:4),c(2:4)]
b=tofms[c(2:4),c(2:4)]
M<-cor(b)
head(round(M,5))
corPlot(b)
corPlot(b, dendrogram = TRUE)

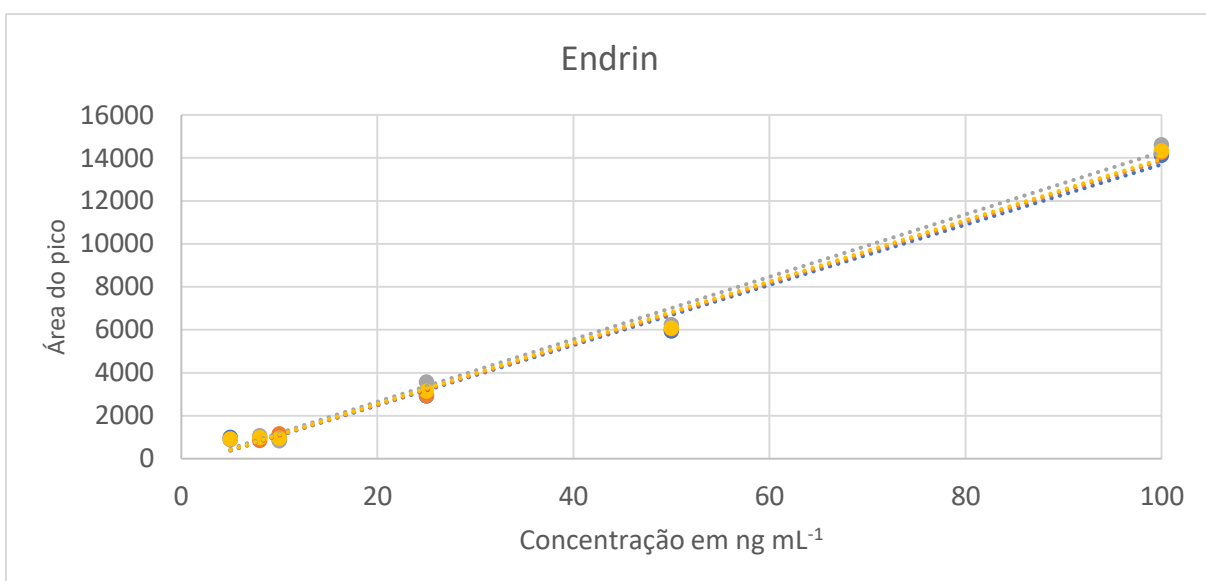
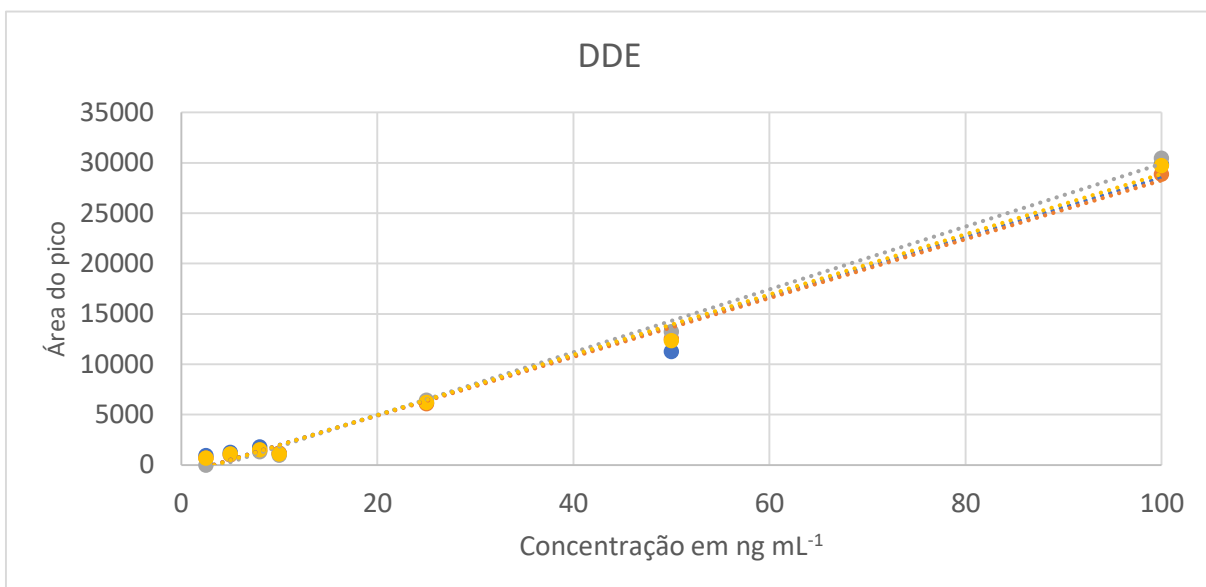
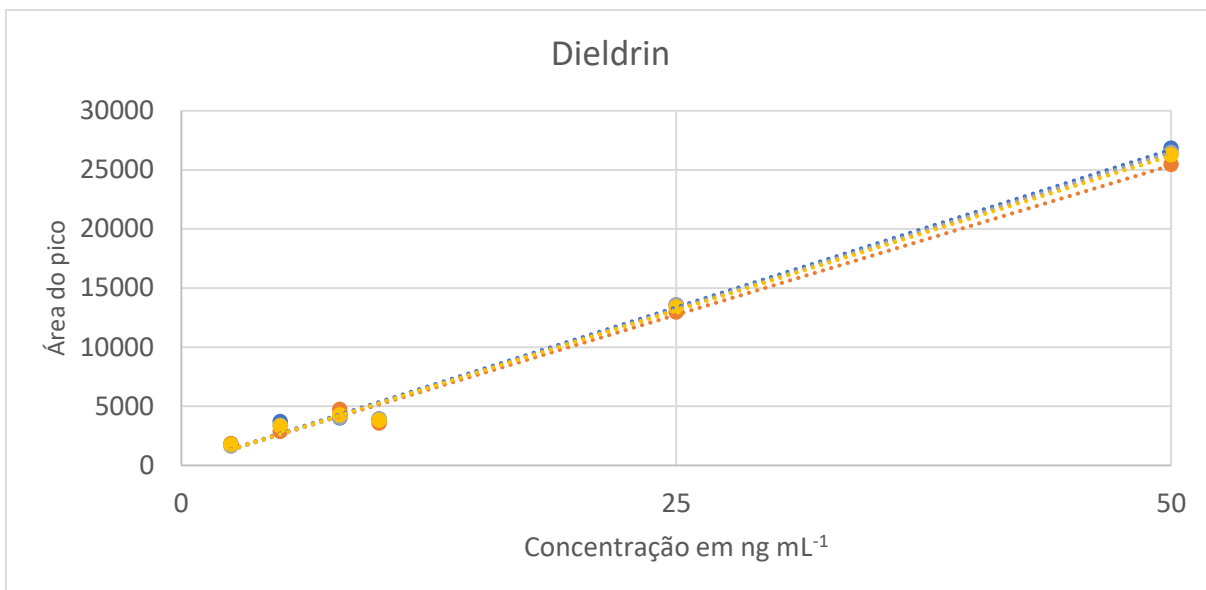
```

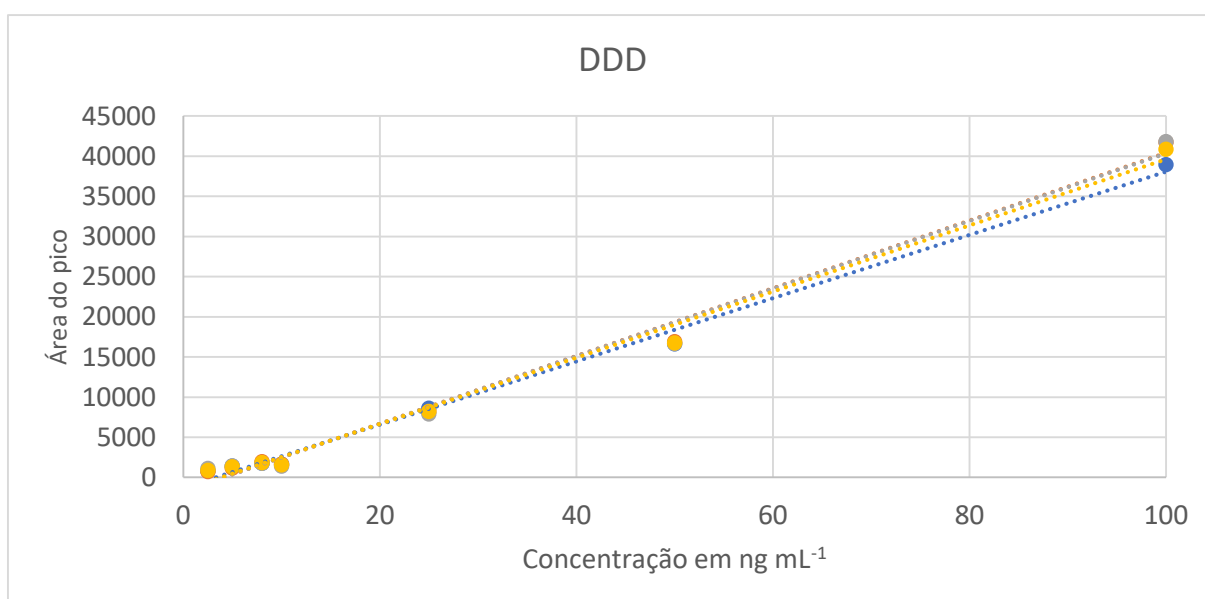
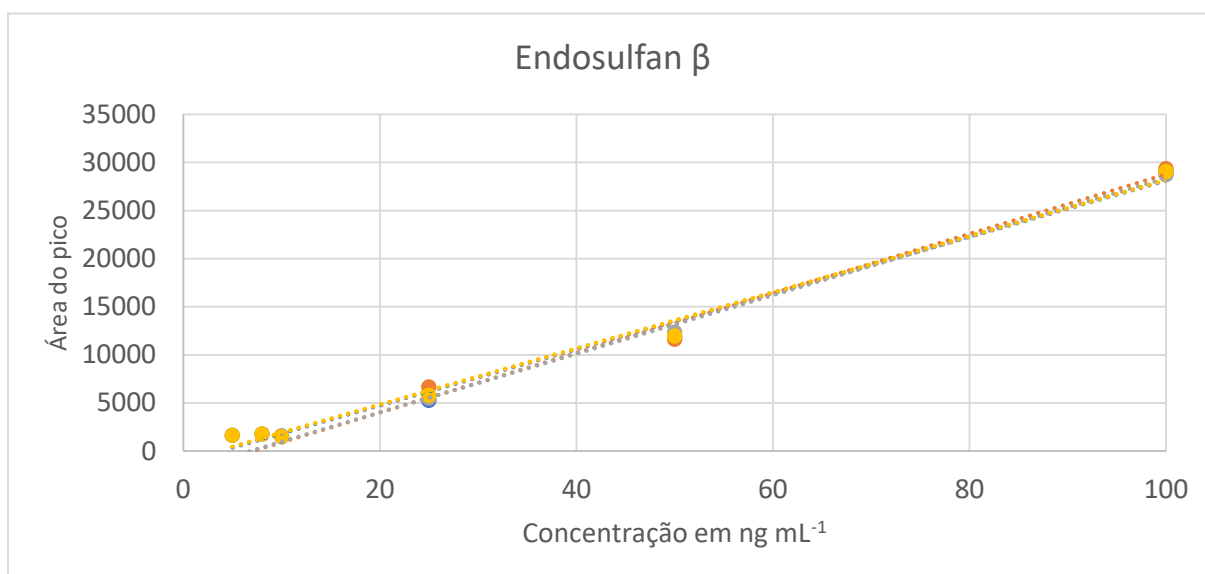
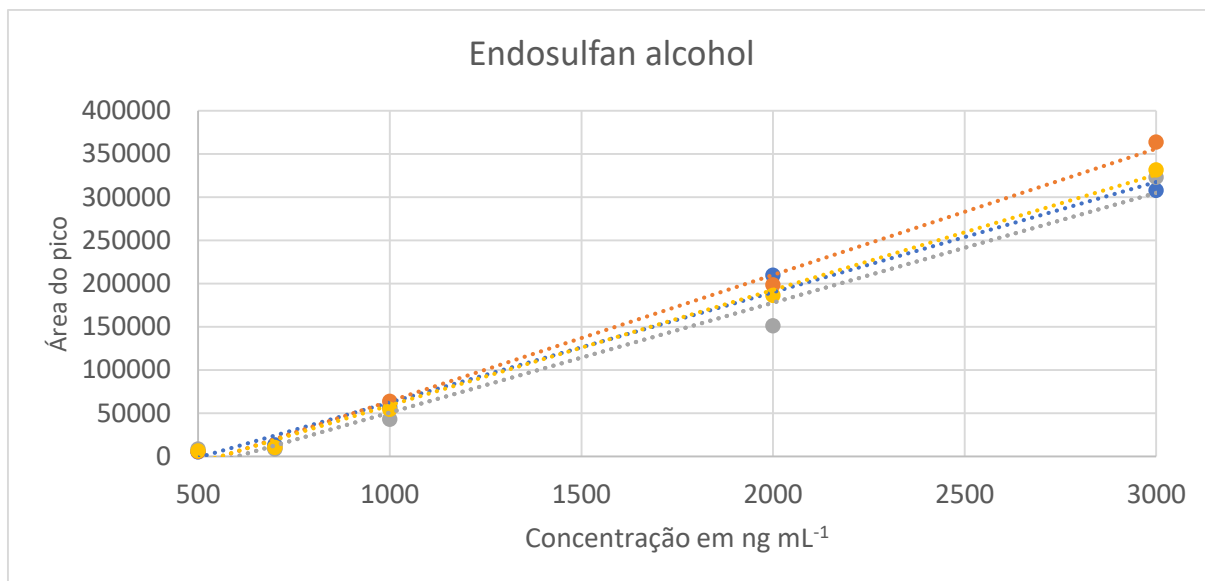

APÊNDICE B - Gráficos das curvas analíticas de todos os metabólitos

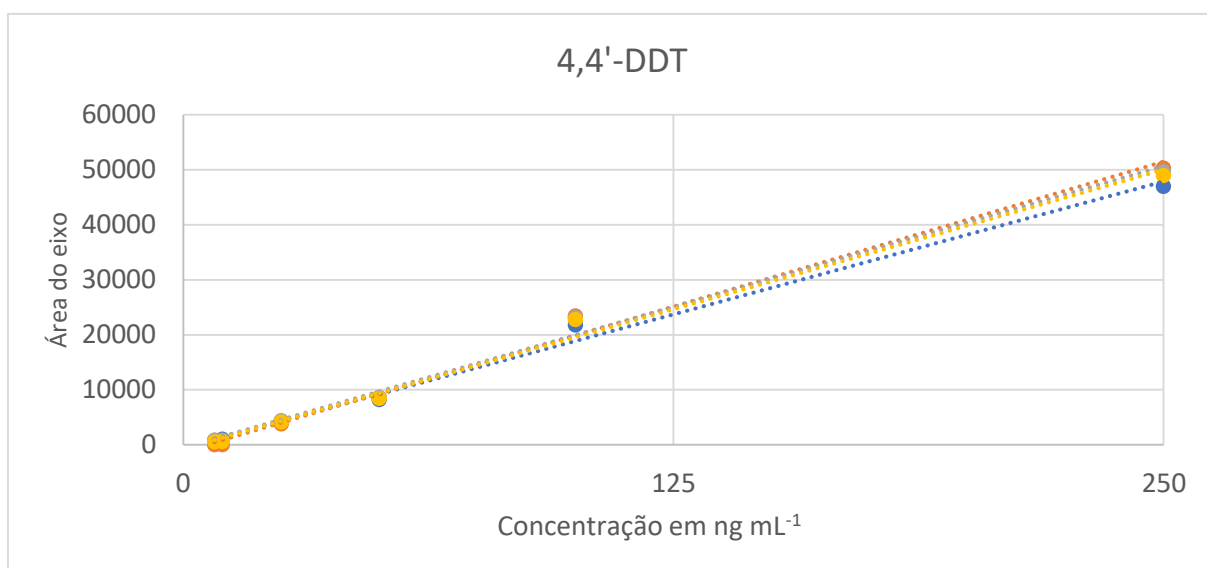
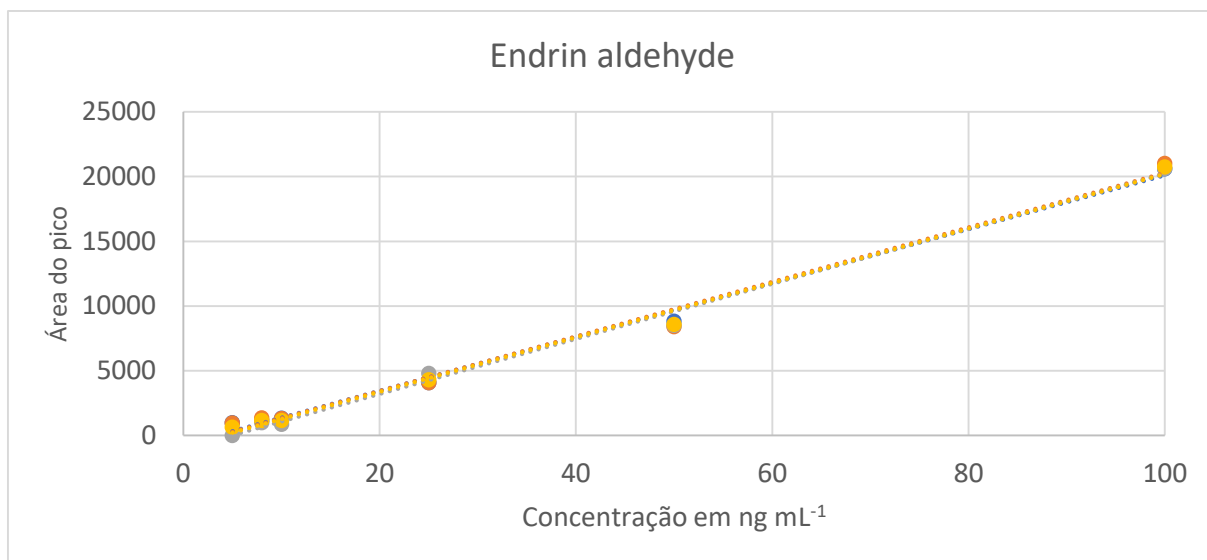


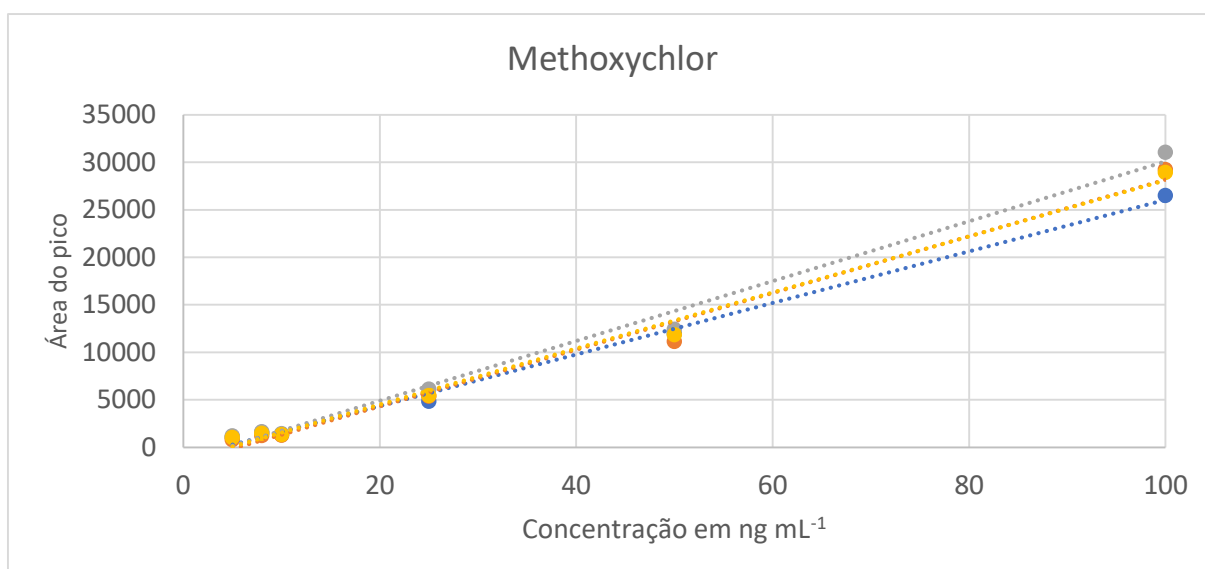
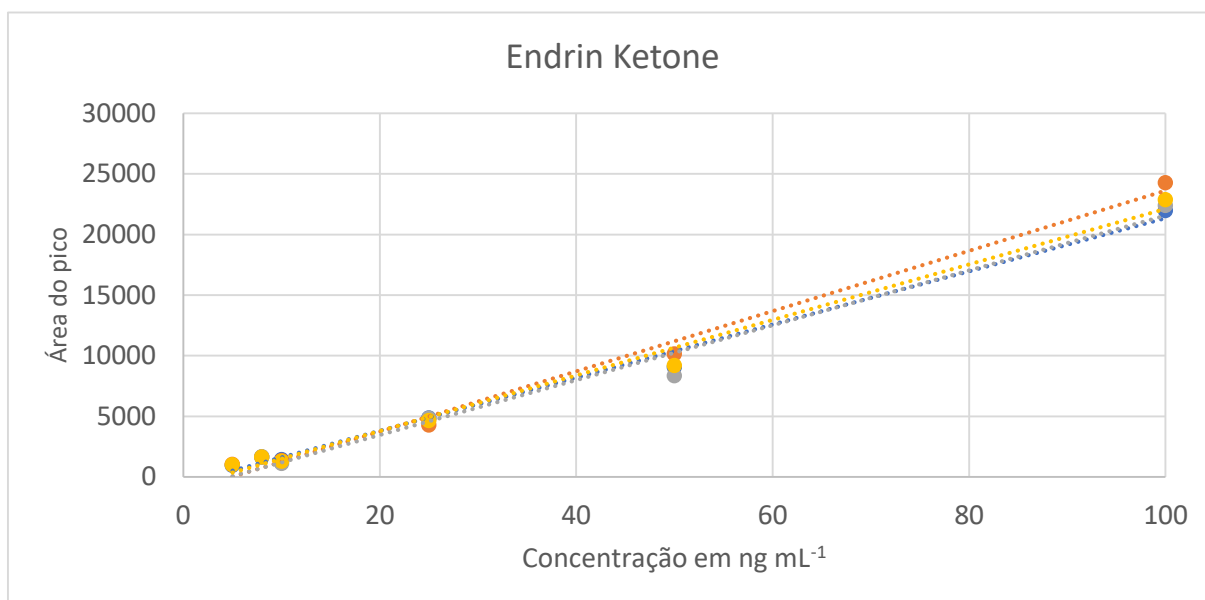
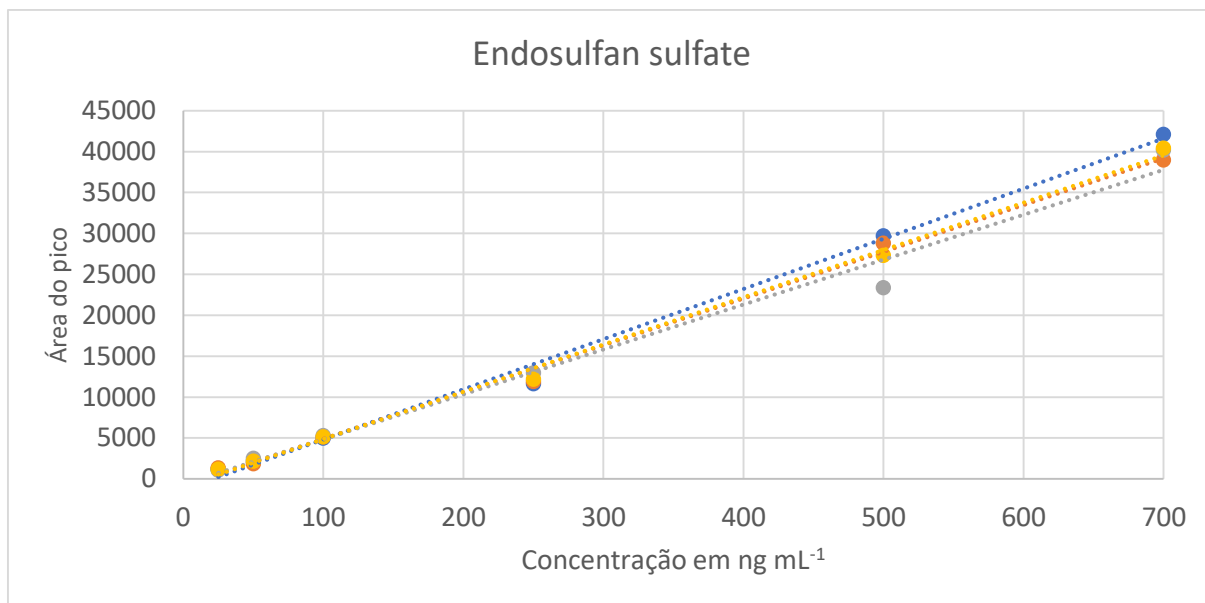


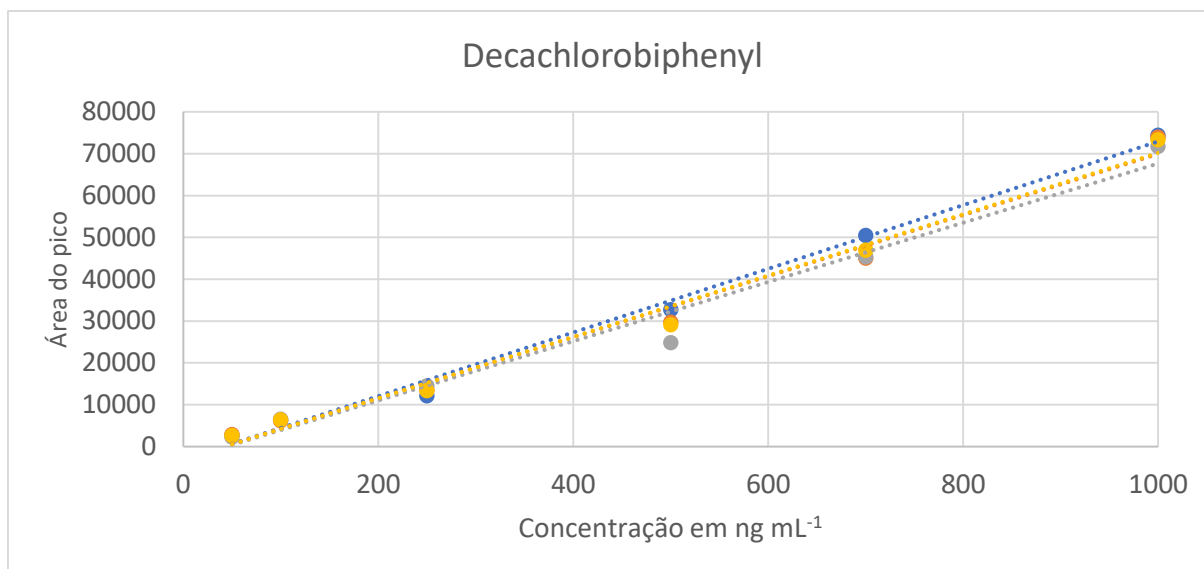










APÊNDICE C- Tabela com compostos encontrados nos rios em época sem chuvas


#	Analito	Local	TR1D	TR2D	Similar	Reverso	Massa	Area	Índice
			s	s			M/Z	%	Retenç.
1	bk-DMBDB	P3	300	0,25	793	940	86	0,00154	1564,4
2	Oxeladin	P8	300	1,33	902	999	86	0,00094	1567,7
3	Dicloroetanol	P1	306	0,44	999	999	49	0,00372	1583,2
4	Ledol	P3	309	0,26	709	715	59	0,00416	1591,7
5	Etilparaben	P1	312	0,28	715	842	121	0,18211	1601,2
6	Cloreto de propionilo	P7	312	0,44	628	951	179	0,00934	1601,3
7	Fenoxetanol	P7	312	2,63	799	878	94	0,00430	1608,0
8	Betaina	P4	315	0,04	831	831	58	0,02701	1609,2
9	Tegafur	P3	315	0,04	837	837	71	0,02916	1609,2
10	Butirato de vinila	P5	315	0,06	999	999	71	0,02865	1609,3
11	t-Butil-hidroquinona	P2	315	1,52	789	797	151	0,00165	1613,7
12	Dicrotofós	P8	315	1,63	608	757	127	0,00549	1614,0
13	Adrenalina	P8	318	1,12	926	971	58	0,04714	1621,6
14	Dietiltoluamida	P3	321	0,59	739	840	119	0,00456	1629,1
15	Fenol	P6	321	2,61	772	772	94	0,00280	1635,2
16	Atomoxetina	P8	324	2,06	603	756	148	0,00060	1642,6
17	Fosfato de tributila	P2	333	1,49	815	844	99	0,01173	1668,2
18	MDPBP	P3	333	1,79	838	885	112	0,00178	1669,1
19	Emilcamato	P1	336	1,31	680	737	73	0,00203	1676,7
20	Psilocin	P7	336	1,56	475	775	204	0,00112	1677,5
21	Benzofenona	P3	336	1,94	653	851	105	0,00273	1678,6
22	Citronelol	P6	339	0,46	803	891	83	0,01300	1683,2
23	Bayer 28,589	P7	339	1,48	675	700	236	0,00432	1686,3
24	Cianogênio	P3	345	0,82	751	999	52	0,00220	1702,5
25	Bemegrade	P8	348	0,06	692	750	73	0,00529	1709,3
26	Decanol	P1	348	0,06	758	758	55	0,20146	1709,6
27	Neoisolongifolene	P3	348	0,24	738	764	203	0,00302	1709,8
28	Ácido acetilsalicílico	P4	348	0,34	821	874	120	0,00220	1710,1
29	Meta / Anfetamina	P3	360	0,06	681	792	45	0,00293	1745,7
30	Monobenzona	P2	360	0,07	744	951	91	0,00586	1745,7
31	N-etilamfetamina	P3	363	0,09	753	892	72	0,00574	1754,8
32	Hexestrol	P6	363	0,32	745	792	135	0,00319	1755,4
33	Felbamato	P2	363	1,89	700	804	104	0,00123	1760,3
34	Triperóxido de triacetona	P4	366	1,4	620	762	58	0,00158	1767,9
35	Propamocarb	P6	372	0,09	692	726	58	0,00500	1782,1
36	Benzedrex	P8	372	0,09	611	810	58	0,00612	1782,1
37	Dimetazona/Clomazona	P7	372	1,07	683	794	125	0,01059	1785,1

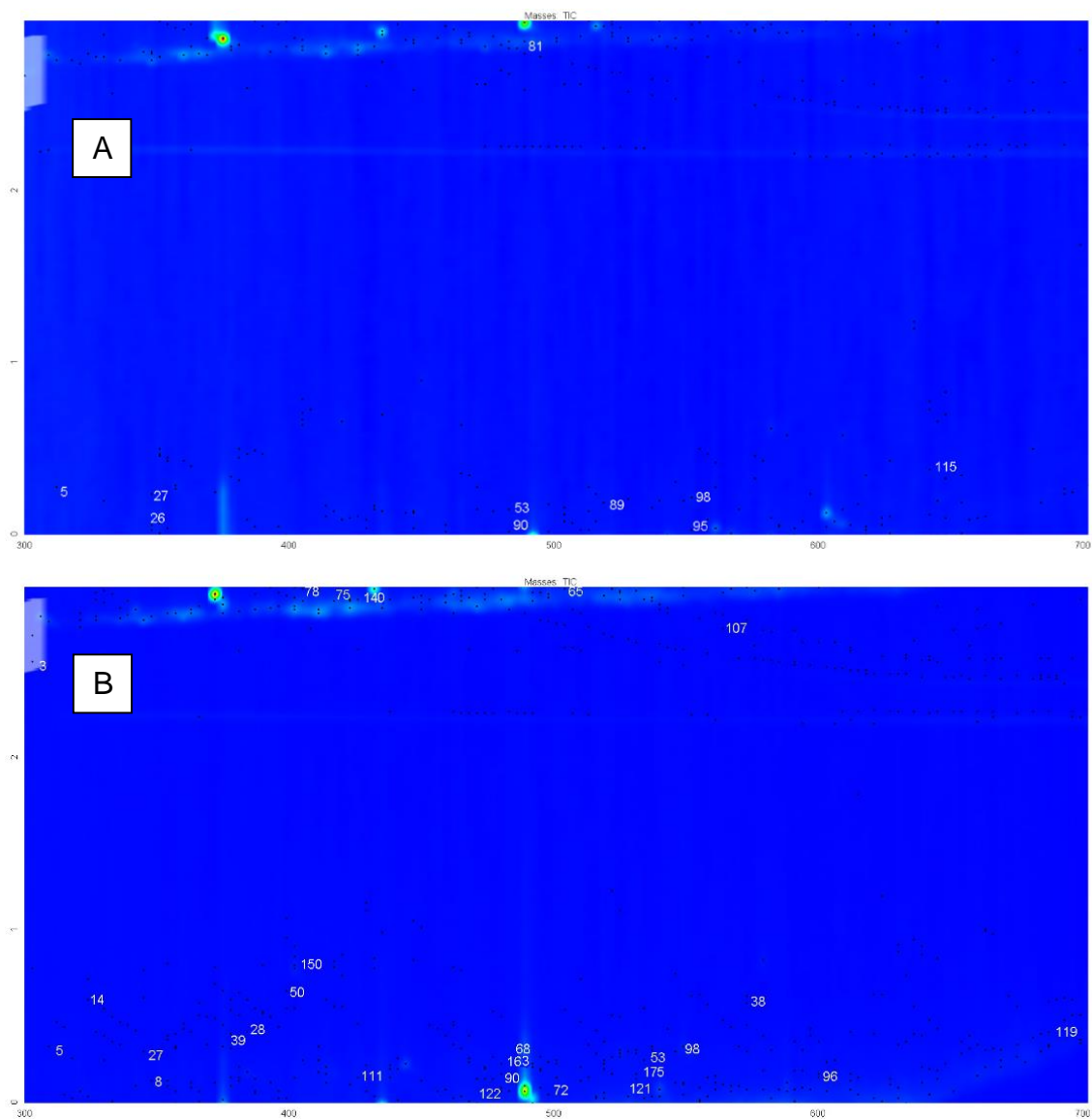
38	Atenolol	P5	378	0,12	793	936	72	0,01292	1800,4
39	Nilidrin	P3	378	0,33	638	833	176	0,00712	1801,1
40	Atrazina	P7	378	0,88	655	731	200	0,00319	1802,9
41	Tofenacin	P7	384	1,98	460	803	124	0,00148	1826,6
42	Ácido pícrico	P6	387	0,49	625	808	229	0,00239	1831,6
43	Sarin	P7	387	0,78	602	956	99	0,05177	1832,6
44	Amonafide	P5	387	1,38	751	917	58	0,00763	1834,6
45	Anfetaminil	P1	387	1,62	689	819	132	0,00224	1835,4
46	Fomepizol	P7	393	1,36	824	824	82	0,03249	1854,5
47	Ácido Oleico	P4	396	0,07	736	736	60	0,02443	1860,3
48	Benzphetamine	P3	396	0,94	544	771	149	0,00279	1863,1
49	Bensulida	P3	396	0,98	583	818	77	0,00706	1863,3
50	Galaxolida	P3	399	0,59	646	763	243	0,00284	1872,0
51	Piretrina II	P7	405	1,97	746	791	74	0,00184	1896,6
52	Binapacril	P3	405	2,74	660	744	121	0,00106	1898,8
53	Sotalol	P5	411	0,12	999	999	72	0,00526	1911,5
54	Metacrilamida	P4	414	0,58	747	956	85	0,00749	1924,4
55	Dietil mercurio	P4	423	1,95	565	743	205	0,00060	1962,8
56	terc-butil-etil-anfetamina	P2	426	0,12	705	957	72	0,05120	1967,1
57	Amantadina	P6	426	0,88	628	709	94	0,00081	1969,9
58	Triantereno	P3	426	2,9	615	727	253	0,00173	1977,4
59	Cafeína	P4	429	1,26	722	767	194	0,00856	1982,4
60	Alprenolol	P1	429	1,39	722	999	72	0,00452	1982,9
61	Fosmete	P3	429	2,14	439	703	104	0,00097	1985,7
62	Piracabolida	P7	432	1,83	702	754	125	0,00824	1995,7
63	Etamifilina	P6	435	2,19	694	793	121	0,00061	2007,3
64	Camilofina	P2	438	0,68	596	924	281	0,00086	2012,4
65	Pirrolidina	P2	438	2,9	657	781	54	0,01199	2019,6
66	Metil-lamina	P3	441	2,88	731	794	70	0,04331	2029,6
67	Prilocaina	P1	444	1,35	641	814	86	0,01821	2034,5
68	Topotecan	P6	450	0,1	572	925	58	0,00778	2050,3
69	Mefrusida	P2	456	1,46	822	956	85	0,01265	2074,9
70	Cloromelfoquina	P2	456	1,56	871	871	84	0,00699	2075,2
71	Isoxazol	P3	459	0,02	722	888	68	0,01336	2080,0
72	Betazol	P4	459	0,06	756	960	82	0,01700	2080,2
73	Dimetilanfetamina	P3	459	0,11	721	855	72	0,00729	2080,4
74	Endosulfan lactona	P5	459	1,77	838	846	239	0,00780	2085,9
75	Tetrafluoreto de silício	P2	465	1,74	759	999	85	0,00225	2106,4
76	1,3-Dioxolano	P7	471	2,27	692	996	73	0,00390	2130,6
77	Pantolactona	P8	474	0,21	621	776	96	0,00466	2134,1
78	Guanidina	P5	474	2,96	806	999	59	0,00239	2144,4
79	Noscapina	P7	483	2,13	529	720	220	0,00101	2174,6
80	Nortriptilina	P4	483	2,46	637	843	202	0,00744	2175,8
81	Metil dodecanol	P1	489	2,87	837	837	69	0,94005	2199,6
82	Amitriptilina	P3	498	0,17	612	757	58	0,00990	2225,7
83	Vigabatrina	P6	498	1,32	619	741	154	0,00163	2230,5
84	Benserazida	P8	501	0,03	744	946	60	0,00745	2237,6
85	Benzofurano	P5	501	1,05	876	876	118	0,01035	2241,9
86	Citrato de butila	P3	504	1,68	819	819	185	0,00288	2289,7
87	2-Aminofenol	P4	510	2,62	658	747	73	0,01854	2285,9
88	Benzo[a]antraceno	P5	516	2,6	791	899	253	0,00187	2310,9
89	Acrilato de dodecila	P1	519	0,19	772	772	55	0,16846	2313,3
90	Meglumina	P6	534	0,09	936	989	74	0,00633	2375,3
91	bk-MDDMA	P3	534	0,2	719	950	72	0,01592	2375,8
92	Succinimida	P4	537	0,44	741	769	99	0,00683	2389,3
93	MDPPP	P1	546	1,68	708	798	98	0,00191	2432,0
94	Fluoroanfetamina	P4	546	2,14	928	973	109	0,00127	2433,9
95	Sulfeto de carbonila	P1	552	0,03	904	999	60	0,04823	2450,0
96	Urea	P5	552	0,04	999	999	60	0,13695	2237,6
97	Glicidol	P5	552	0,05	999	999	45	0,03424	2450,2
98	Octadecanal	P1	552	0,22	915	919	82	0,06725	2450,8
99	Kronitex KP-140	P8	552	0,78	837	837	125	0,00716	2453,3
100	Laurato de Isoamila	P3	555	2,99	684	704	54	0,01709	2474,9
101	Dimetotiazina	P7	561	0,2	606	948	72	0,00768	2488,3
102	Etclorvinol	P2	564	0,17	679	758	115	0,00931	2500,8
103	Benzeno	P4	570	2,24	491	717	78	0,00152	2534,3
104	Di-hidroxi-acetona	P2	576	0,45	781	816	72	0,00680	2551,8
105	Fenofibrato	P7	579	2,16	862	862	139	0,00425	2571,5
106	Imidazol	P4	600	0,25	747	776	82	0,00759	2658,3
107	Glicina	P6	603	2,63	999	999	75	0,01275	2683,9
108	1,2-Benzisothiazol-3-amine	P2	612	2,2	664	733	207	0,01219	2724,8
109	Trimecaína	P1	612	2,22	722	769	78	0,00127	2724,9
110	Silanol	P2	618	2,59	931	959	75	0,02662	2755,3
111	Betaxolol	P5	621	0,53	614	937	72	0,00450	2759,7
112	Flurazepam	P3	624	2,21	643	813	78	0,00174	2782,0

113	Ácido pentanóico	P4	633	2,48	839	839	60	0,00274	2826,1
114	Farnesol	P2	642	0,35	829	829	81	0,13088	2858,9
115	Esqualeno	P3	642	0,36	766	766	81	0,04893	2858,9
116	Stigmasterol	P5	651	0,69	798	798	55	0,11426	2902,9
117	Muscimol	P5	657	0,13	682	708	97	0,04975	2925,6
118	Sulpirida	P7	669	1,9	636	997	98	0,00100	2982,9
119	Clorfenapir	P2	675	0,25	620	999	59	0,01901	2988,5
120	Benzo[a]pireno	P6	681	0,44	581	803	252	0,00083	3027,3
121	Acetamida	P2	684	0,28	999	999	59	0,12232	3038,8
122	Propanol	P7	687	0,36	842	999	59	0,01542	3051,5
123	Vardenafil	P4	693	0,23	579	787	113	0,02721	3075,8

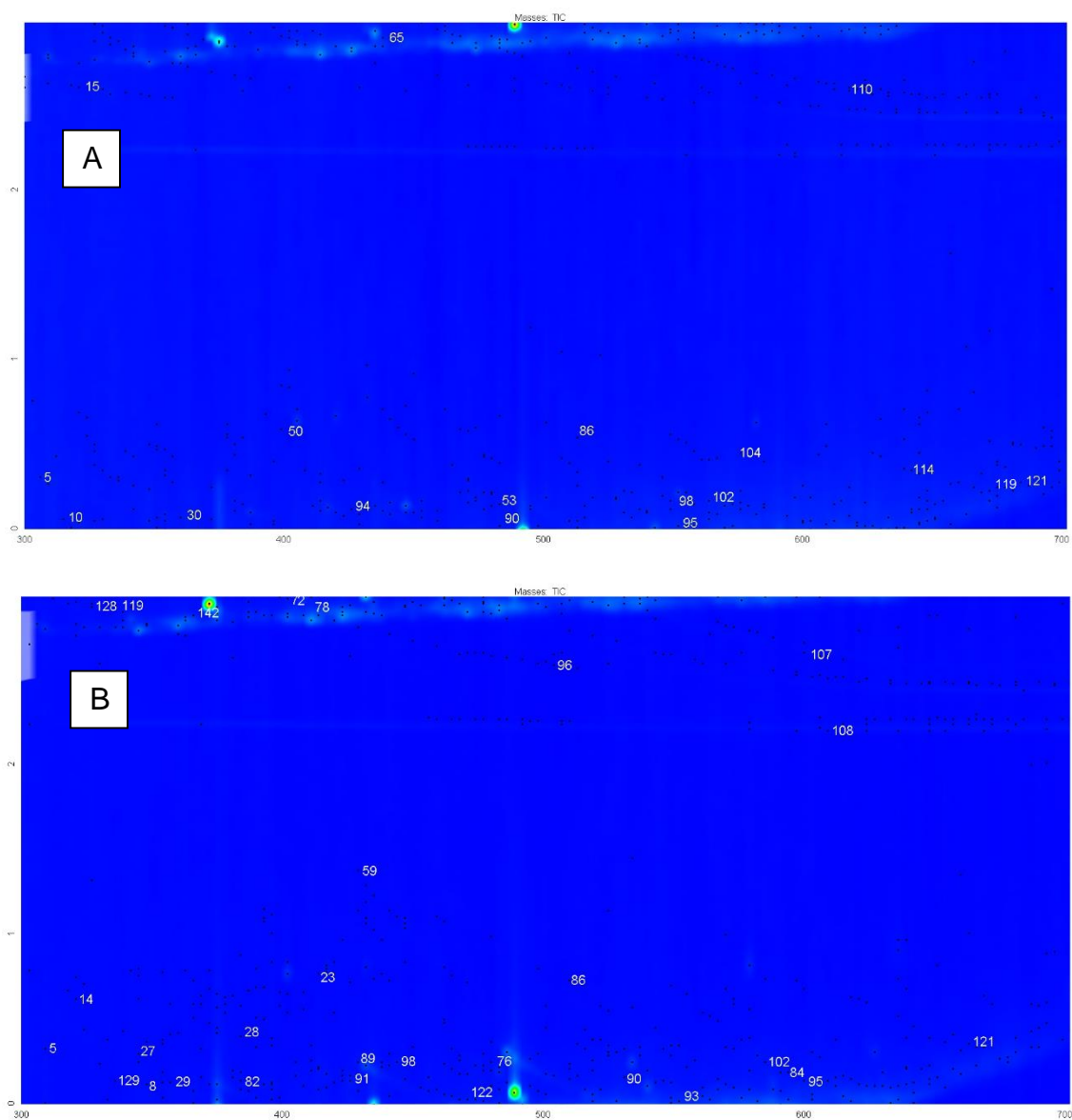
APÊNDICE D- Tabela com compostos encontrados nos rios em época de chuva

#	Analito	Local	TR1D	TR2D	Similar	Reverso	Massa	Area	Indice Retenç
			s	s			M/Z	%	
124	Adipato de isopropila	p6	306	0,26	737	814	171	0,00669	1582,6
125	Fenpropidin	p7	312	0,46	615	802	98	0,00014	1601,4
126	Pholedrine	p7	312	1,51	771	999	58	0,00259	1604,5
127	Etilefrine	p5	318	1,16	526	999	58	0,00149	1621,7
128	Álcool terc-amílico	p2	327	2,93	548	802	59	0,00763	1654,3
129	Tocainida	p6	333	0,16	593	782	106	0,01256	1664,1
130	Mepivacaína	p1	333	0,61	721	737	98	0,00420	1665,5
131	a-PBP	p7	336	0,8	628	764	112	0,00015	1675,2
132	Tolperisona	p2	339	0,64	719	755	98	0,00284	1683,8
133	Noracymetadol	p4	339	0,06	499	710	58	0,00444	1682,0
134	MOPPP	p6	339	0,74	781	781	98	0,29360	1684,2
135	Citral	p3	345	0,03	569	710	109	0,01039	1700,1
136	Catecolborano	p3	348	0,34	625	741	120	0,00460	1710,1
137	Catinona	p3	354	0,35	668	887	105	0,02728	1728,3
138	Zuclopentixol	p4	357	0,63	597	712	143	0,00609	1738,3
139	Caprolactama	p4	357	2,86	731	773	67	0,01547	1745,0
140	Pincaínida	p6	360	0,52	598	737	112	0,02625	1747,0
141	Cyprodinil	p5	363	2,88	562	804	225	0,00307	1763,3
142	Azetidina	p3	366	2,85	990	990	225	0,00733	1772,3
143	Benzestrol	p3	369	0,46	668	718	107	0,01860	1774,1
144	Roflurane	p4	375	0,22	497	716	93	0,00561	1791,6
145	Creatinina	p6	375	0,99	517	742	113	0,13570	1793,9
146	Cloreto de paviloílo	p6	375	1,12	676	885	195	0,05562	1794,1
147	Timoquinona	p3	378	0,57	690	731	121	0,03156	1801,9
148	Lenacil	p6	381	0,99	486	804	153	0,04567	1813,2
149	Fluorofórmio	p4	393	2,53	702	892	69	0,00288	1858,6
150	Glipizida	p1	402	0,80	566	813	206	0,00717	1880,3
151	Thiazesim	p6	408	0,22	622	725	58	0,00078	1900,8
152	Fosfosal	p3	408	0,51	461	729	120	0,00263	1901,9
153	Desmetildoxepina	p4	417	1,22	431	705	178	0,00232	1937,8
154	Metilfenidato	p5	420	1,01	408	720	120	0,00002	1948,1
155	Megestrol acetate	p5	429	2,25	718	741	281	0,00329	1986,1
156	Carbazol	p5	459	1,36	750	897	167	0,00043	2084,5
157	Mefloquina	p8	462	1,78	890	890	84	0,01450	2095,9
158	Dinocap	p4	465	0,05	706	819	59	0,00712	2100,2
159	Pipradrol	p5	474	2,97	533	789	54	0,04359	2144,3
160	Paradrin	p5	477	0,29	647	811	107	0,01403	2145,5
161	Fenmetrazina	p5	477	0,53	709	780	71	0,01967	2146,4
162	Clorgilina	p7	477	1,53	622	889	82	0,08283	2150,1
163	Betametadol	p1	480	0,23	794	997	72	0,14184	2156,4
164	Fenfluramina	p4	480	0,23	624	792	72	0,02676	2156,4
165	Cinoxate	p6	486	0,96	872	876	178	0,08535	2181,4
166	Difenoxin	p7	489	2,67	851	971	218	0,00260	2198,8
167	Fenpropimorfe	p4	492	1,93	453	756	128	0,00510	2208,0
168	Fenproporex	p5	495	0,01	665	720	54	0,04287	2212,5
169	Disparlure	p3	498	0,40	704	704	58	0,31836	2226,6
170	Bamipina	p3	501	0,15	625	709	96	0,02214	2238,1
171	Octodrina	p4	504	0,00	682	977	267	0,00159	2250,0
172	Pipazetato	p7	507	1,81	501	871	116	0,00128	2270,0
173	Deprenil	p2	516	0,13	463	822	110	0,05563	2300,5
174	Zolpidem	p6	522	0,99	635	737	235	0,02510	2329,1
175	Emimycin	p1	531	0,17	441	832	93	0,00431	2363,3
176	Etofenprox	p6	570	0,95	535	711	163	0,00977	2528,9
177	Brometo de cianogênio	p4	573	0,35	389	927	117	0,00188	2539,0
178	Norflurane	p4	585	0,10	819	898	59	0,00747	2587,9
179	Furfural	p3	603	0,12	513	953	60	0,02858	2672,0
180	Fluoroethcatinona	p6	606	0,28	451	827	72	0,04028	2687,0
181	Propilamina	p5	633	0,10	848	848	59	0,16101	2814,8
182	Dimepheptanol	p3	663	0,96	690	779	72	0,04432	2954,0
183	Aniracetam	p6	684	0,97	522	778	135	0,00911	3041,5
184	Lactose	p7	699	0,98	673	725	60	0,01735	3104,1

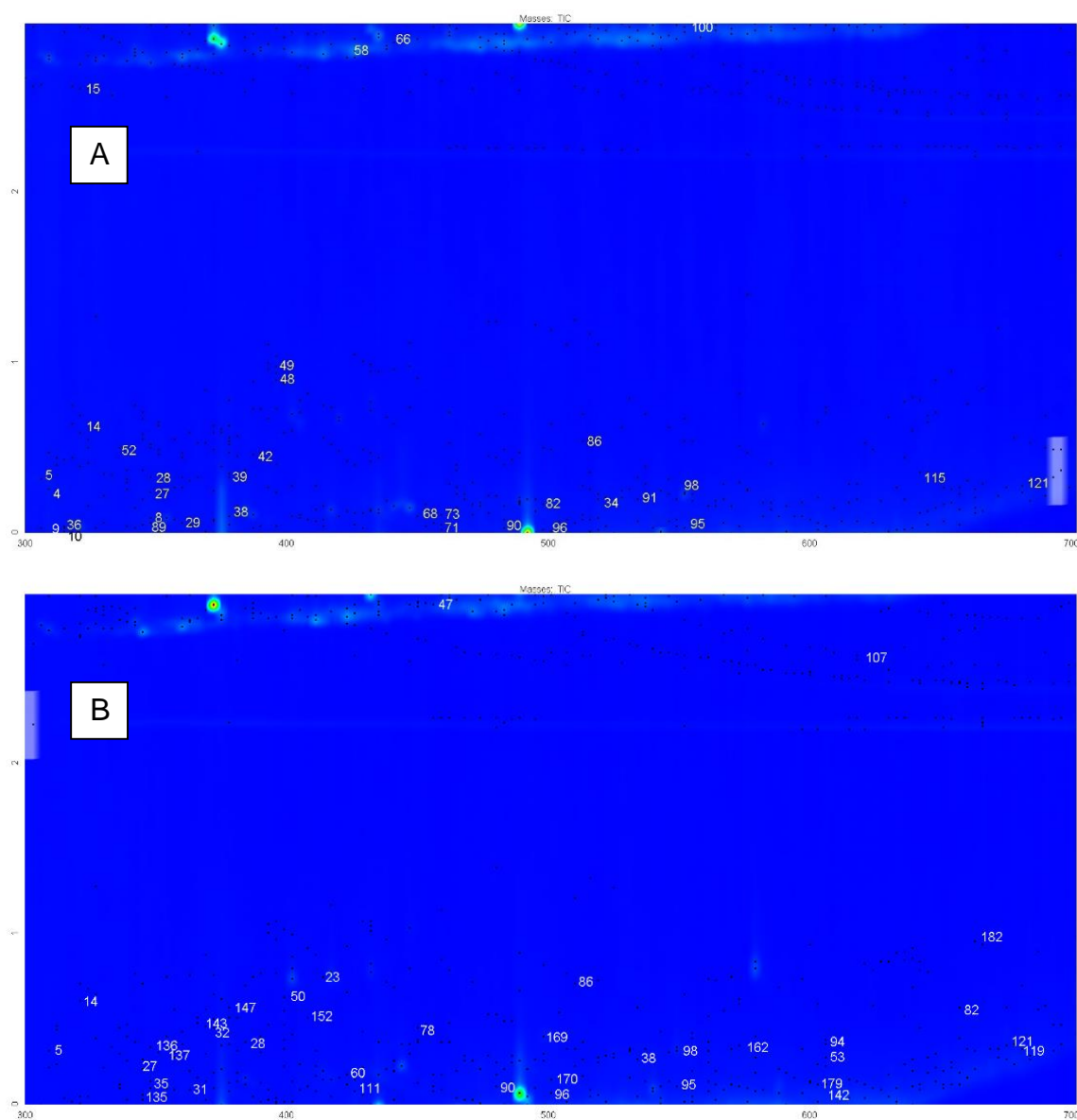
APÊNDICE E- Cromatograma dos pontos de coleta com extração SPE dos compostos encontrados nos rios em época de seca e chuva



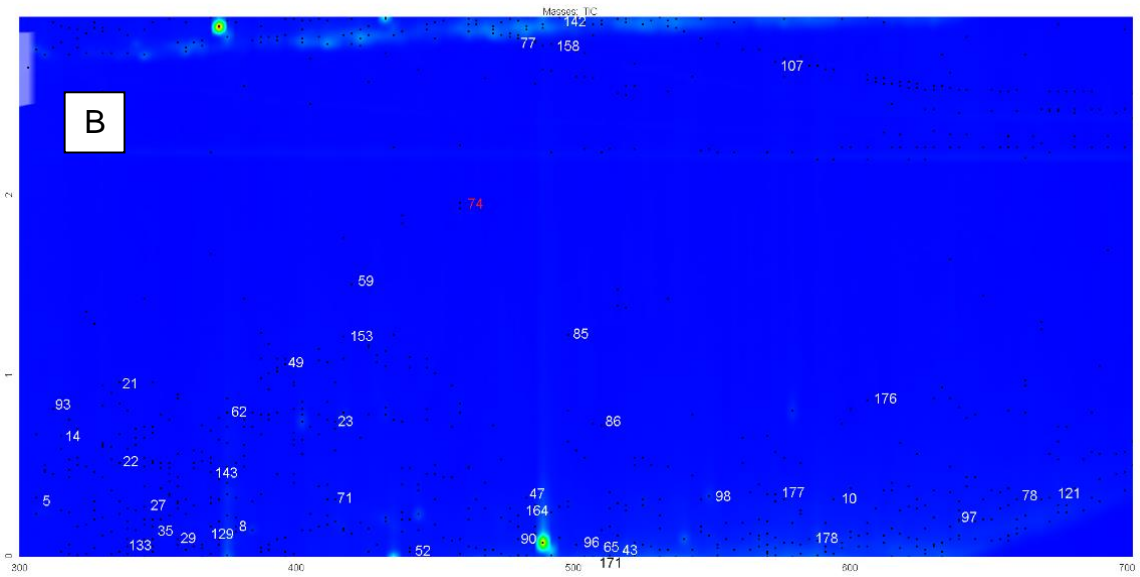
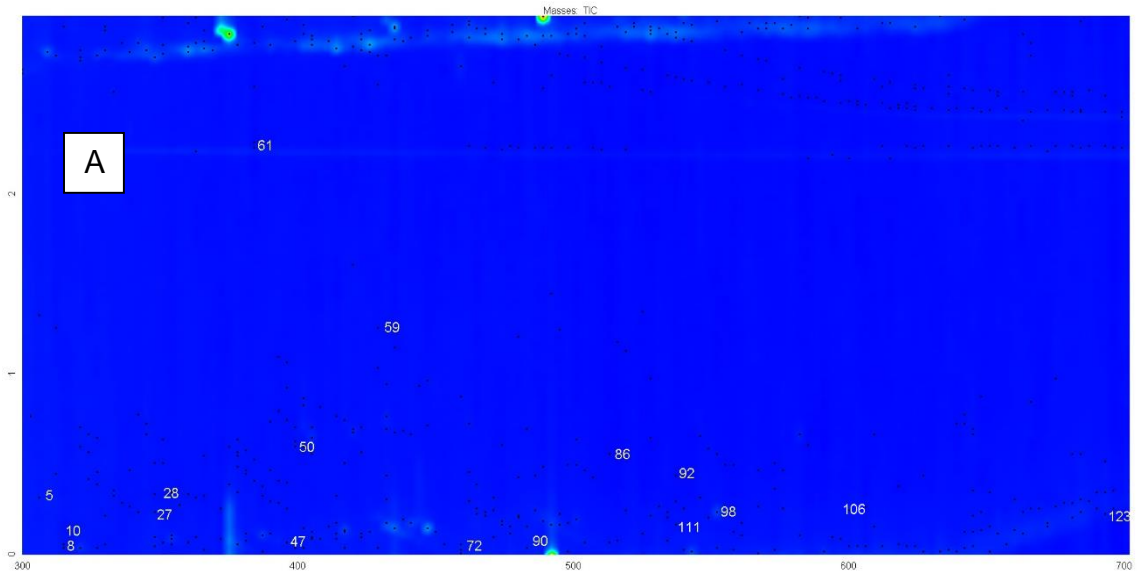
Cromatograma do ponto 1. a- período sem chuva, b – período chuvoso.



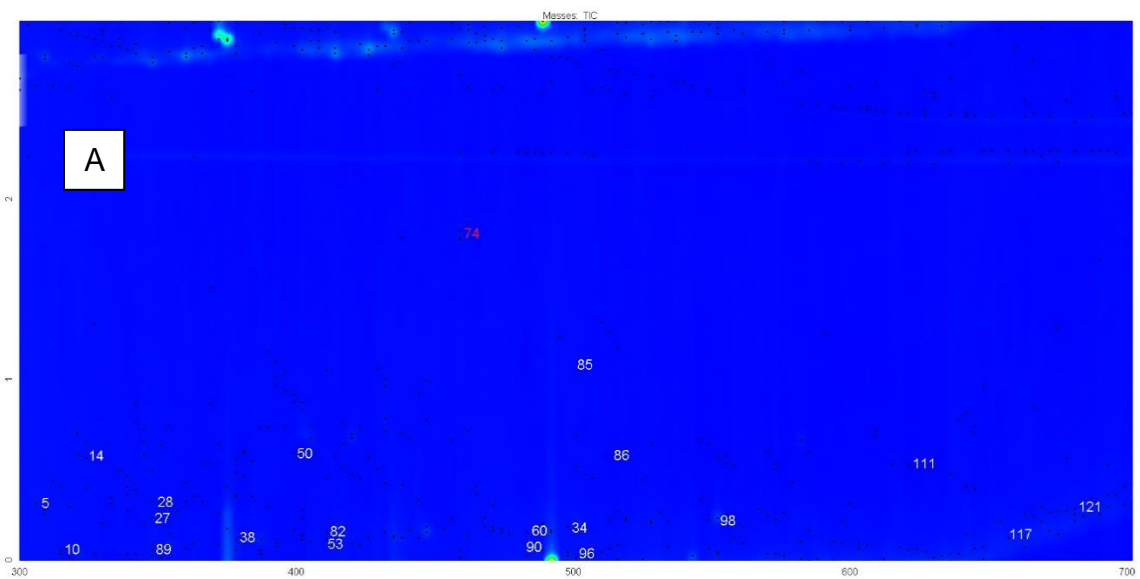
Cromatograma do ponto 2. a- período sem chuva, b – período chuvoso.

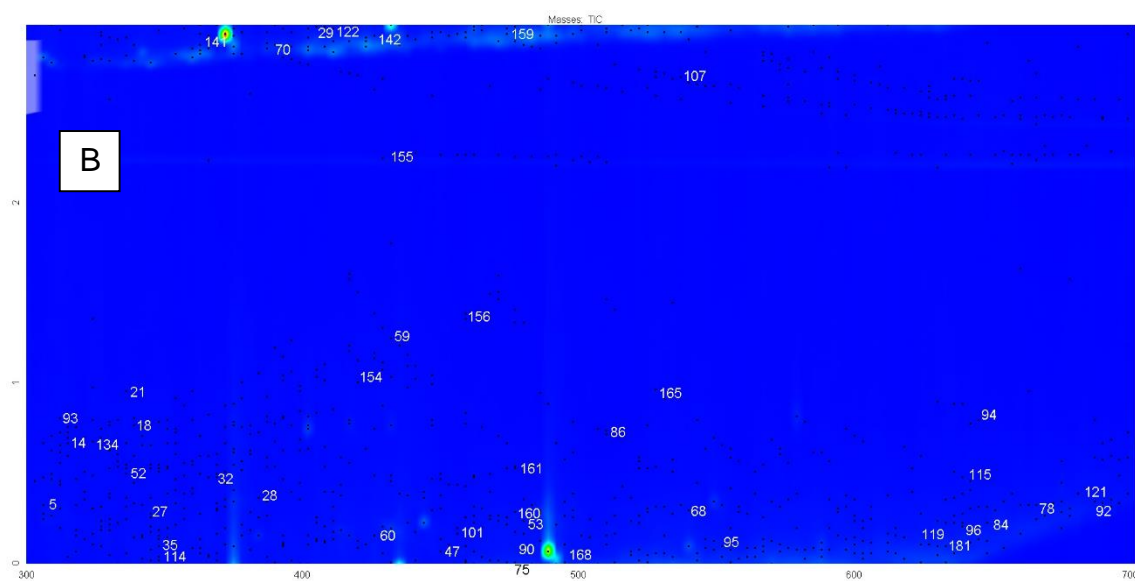


Cromatograma do ponto 3. a- período sem chuva, b – período chuvoso.

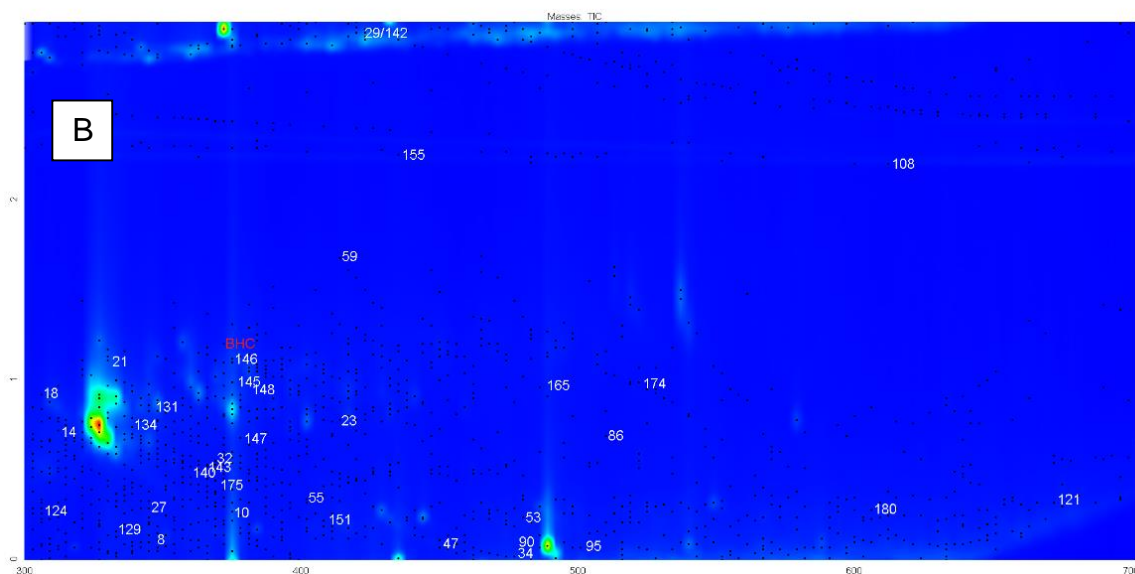
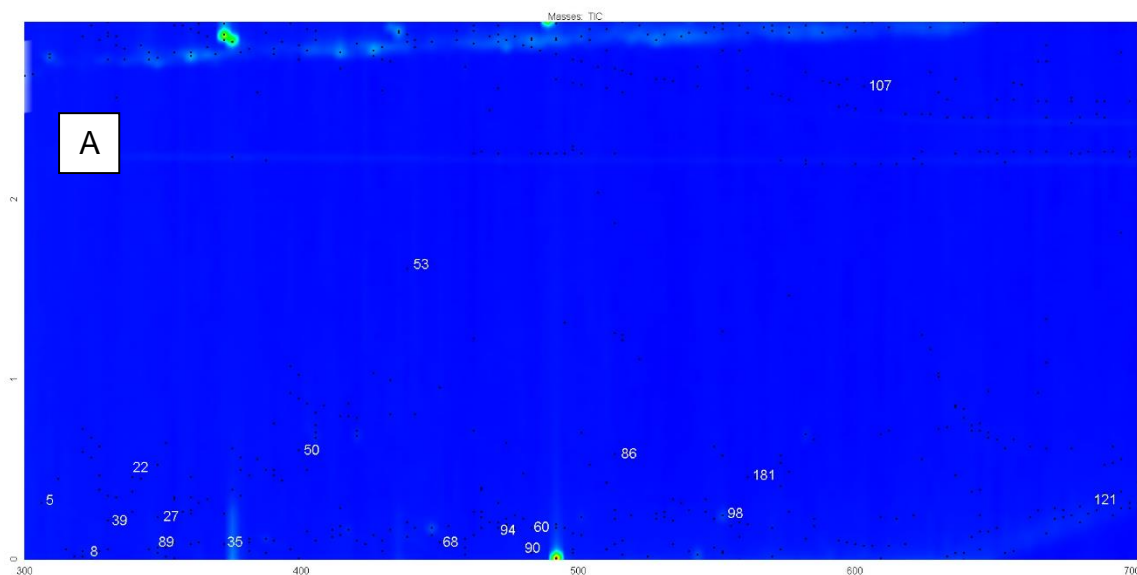


Cromatograma do ponto 4. a- período sem chuva, b – período chuvoso.

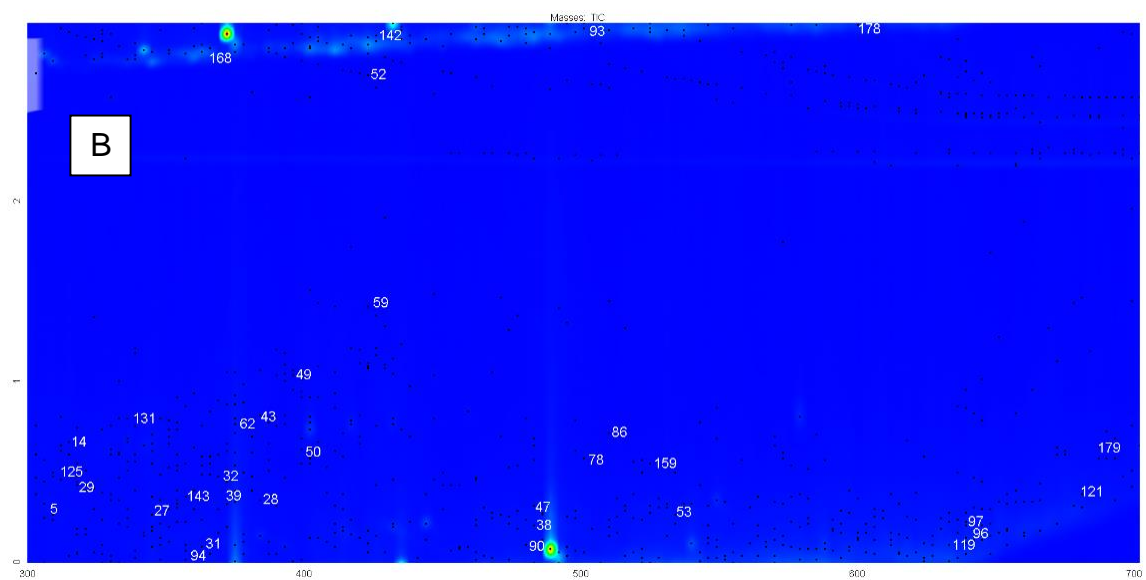
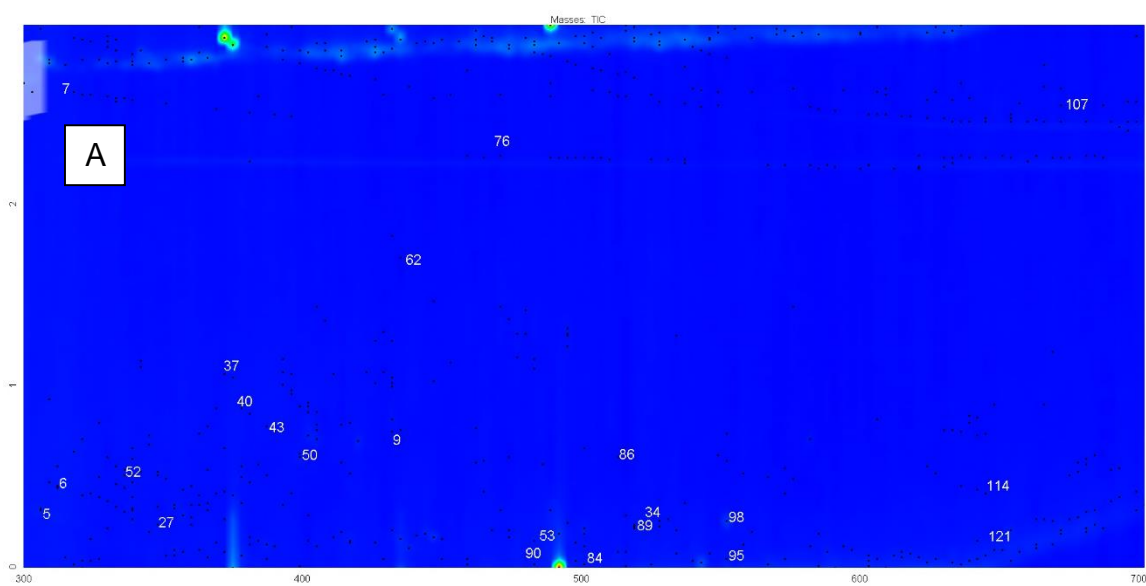




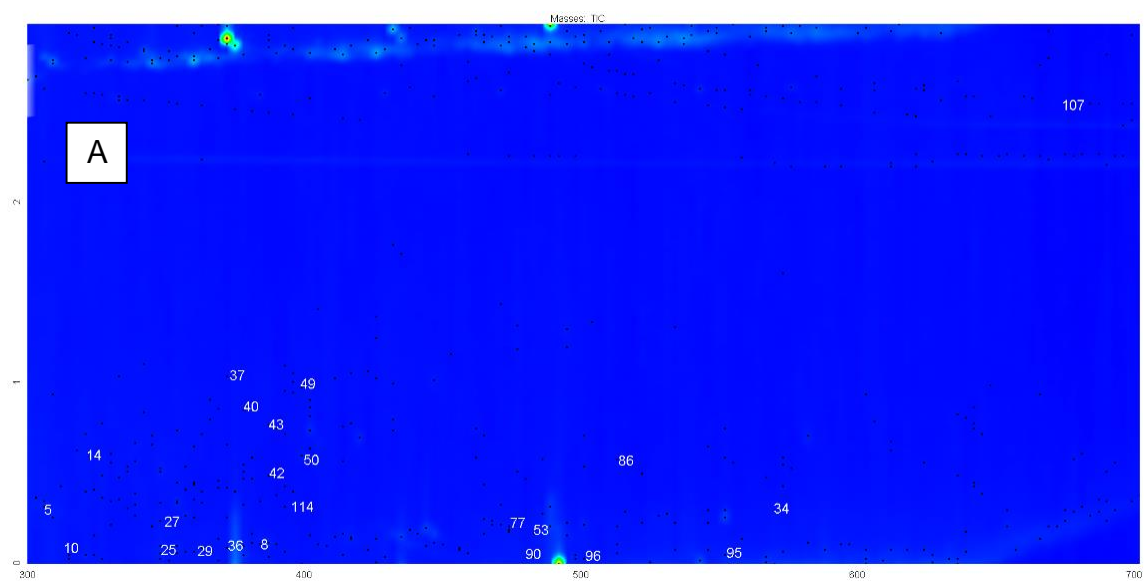
Cromatograma do ponto 5. a- período sem chuva, b – período chuvoso.

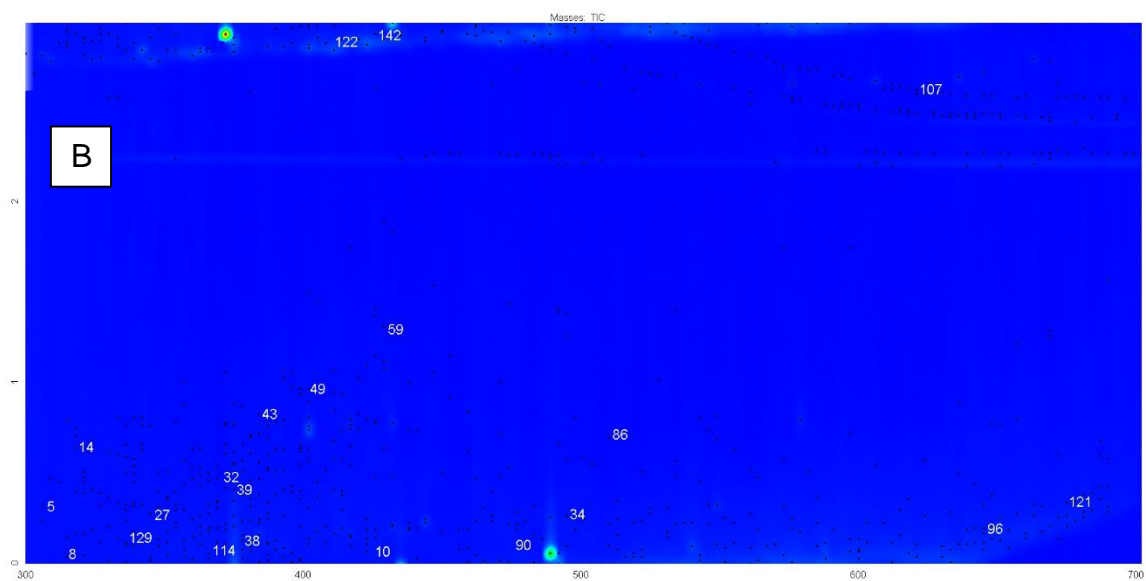


Cromatograma do ponto 6. a- período sem chuva, b – período chuvoso.



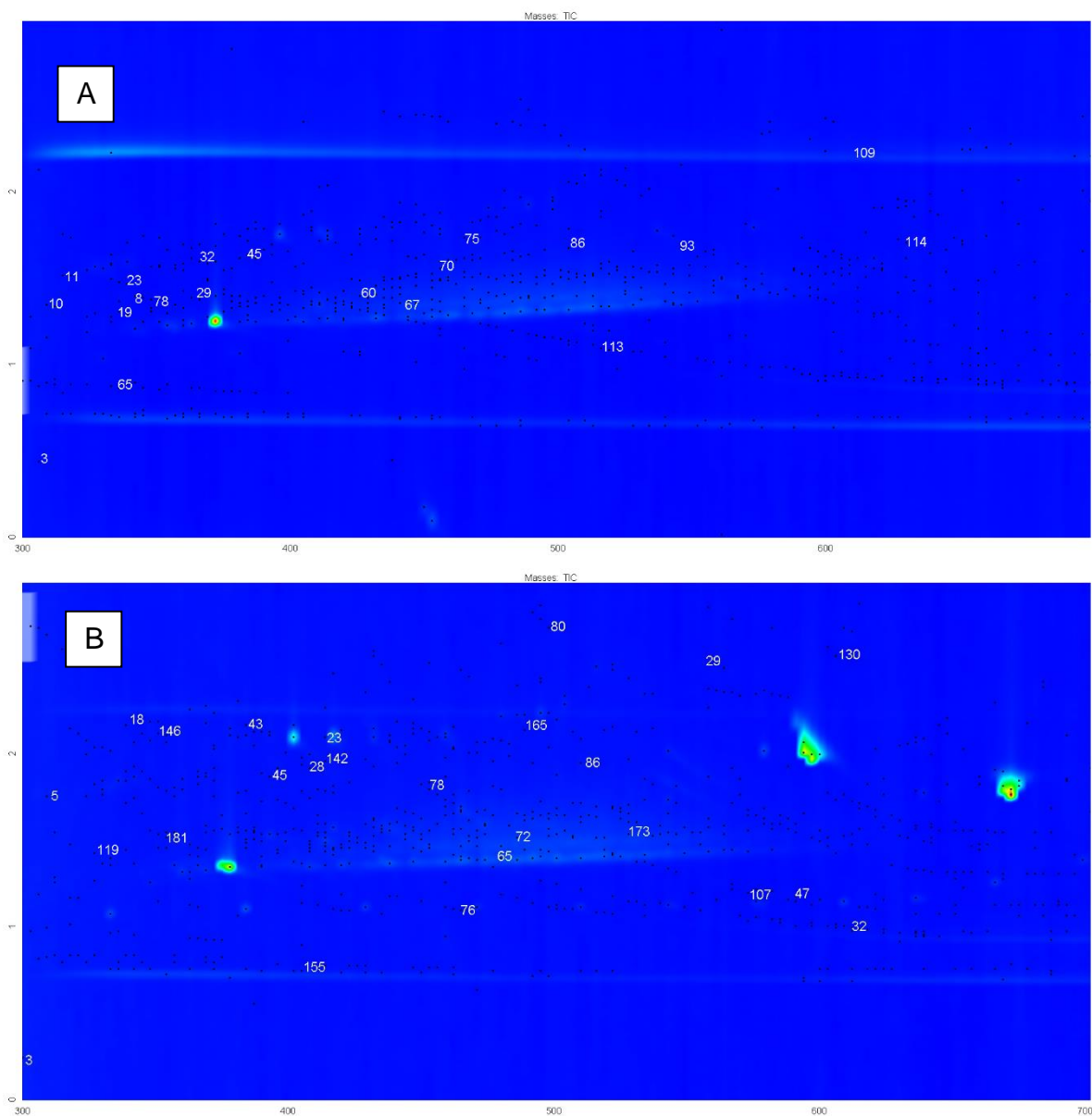
Cromatograma do ponto 7. a- período sem chuva, b – período chuvoso.



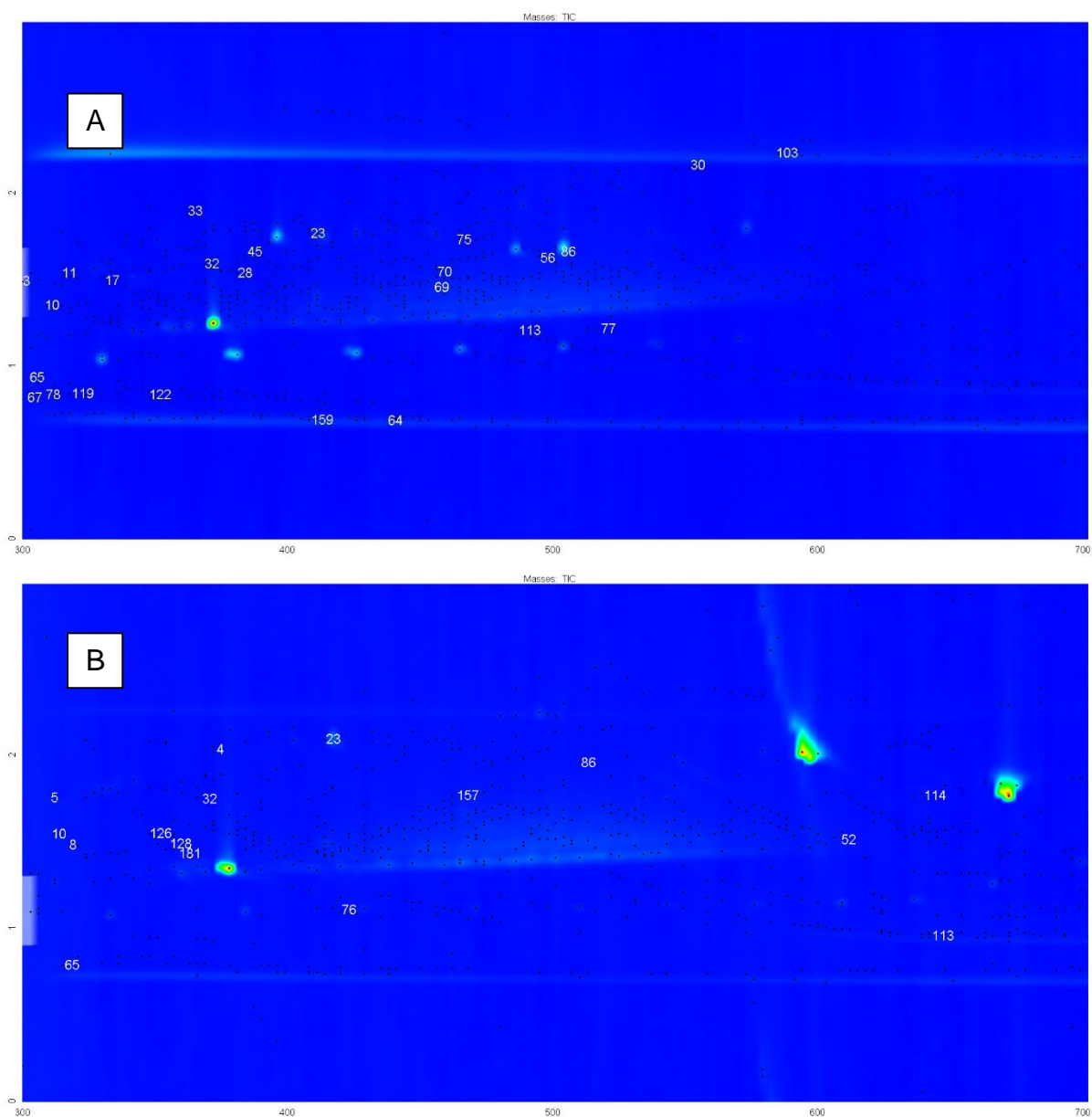


Cromatograma do ponto 8. a- período sem chuva, b – período chuvoso.

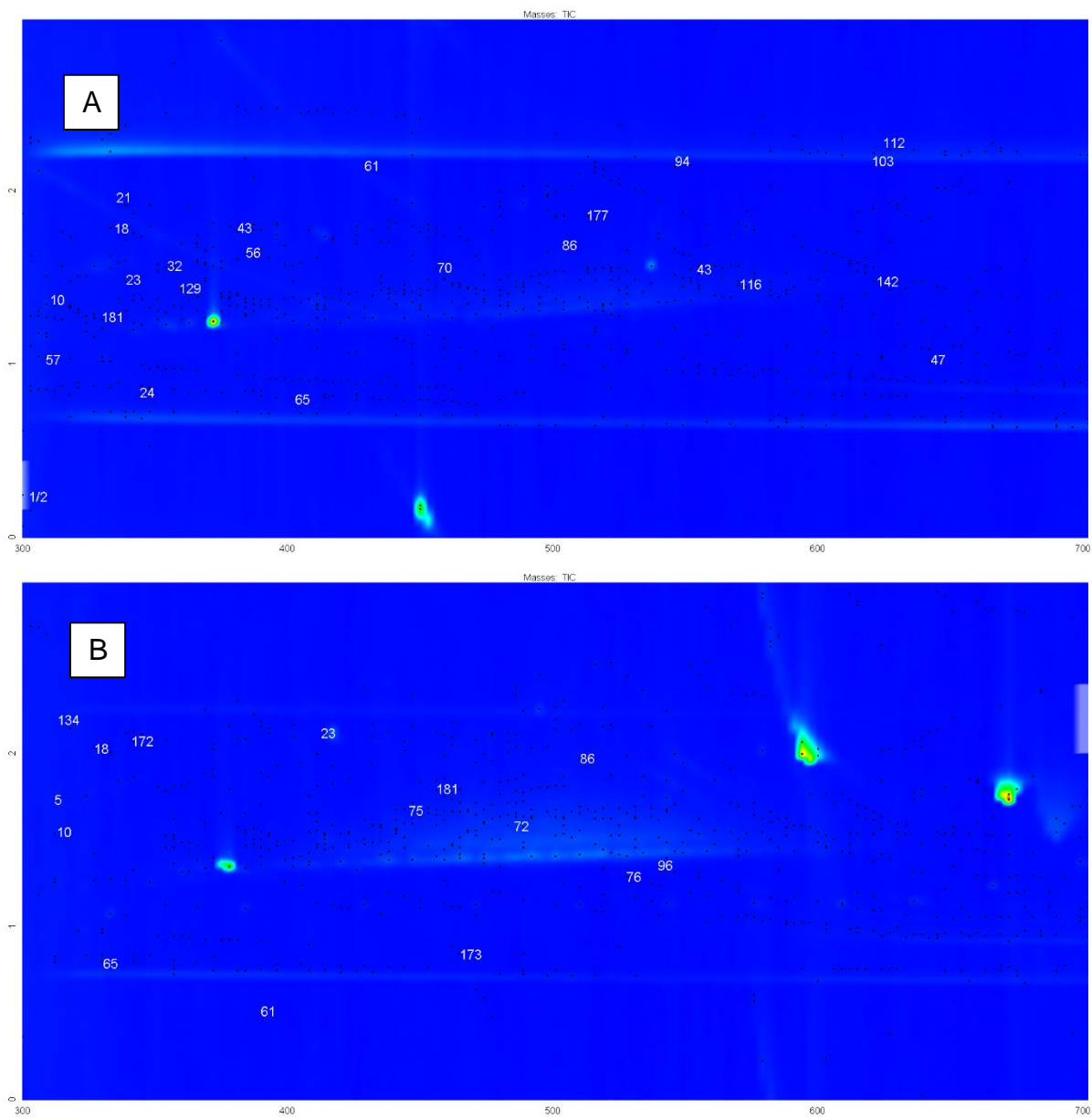
APÊNDICE F- Cromatograma dos pontos de coleta com extração QuEChERS dos compostos encontrados nos rios em época de seca e chuva



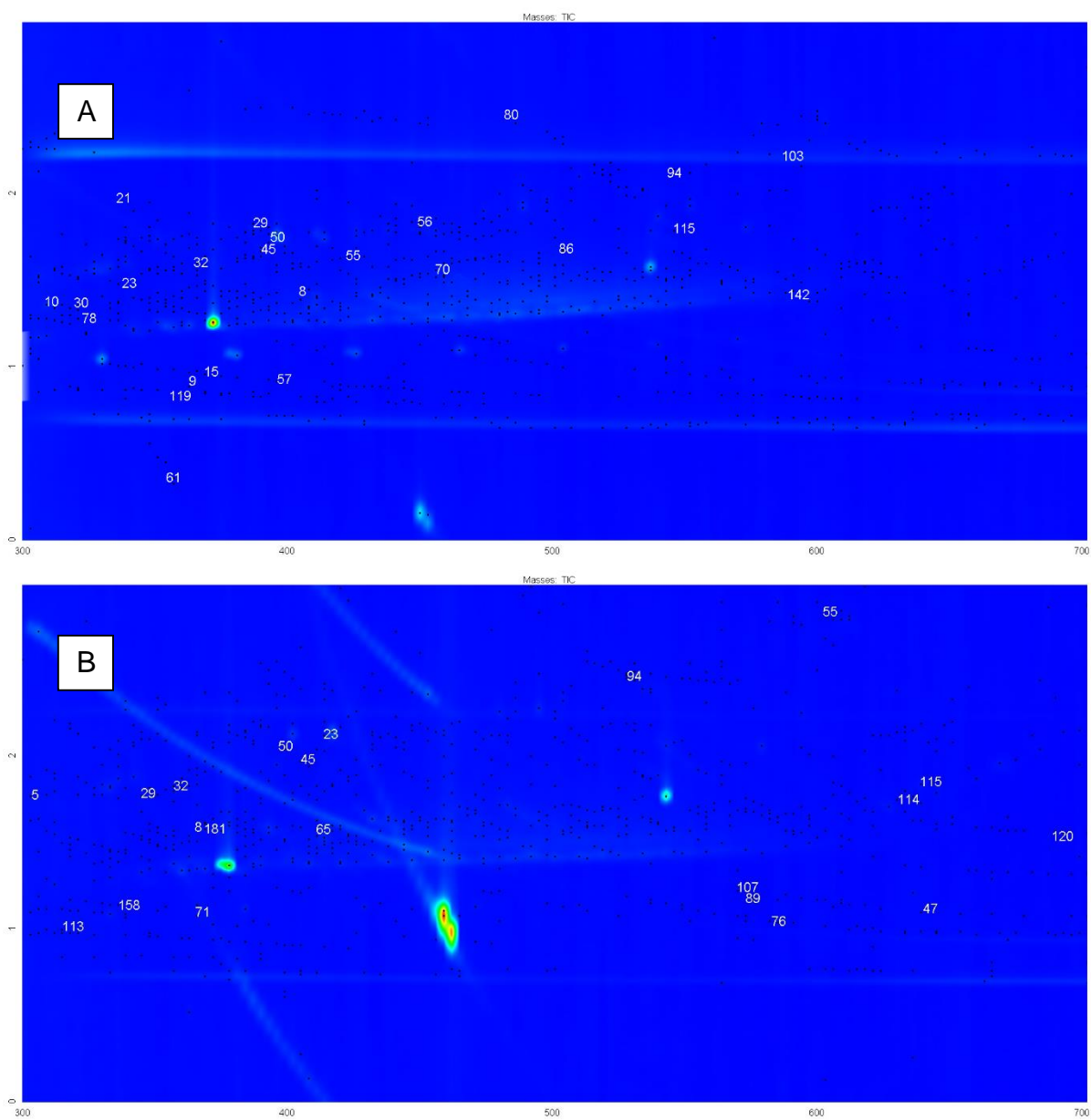
Cromatograma do ponto 1. a- período sem chuva, b – período chuvoso



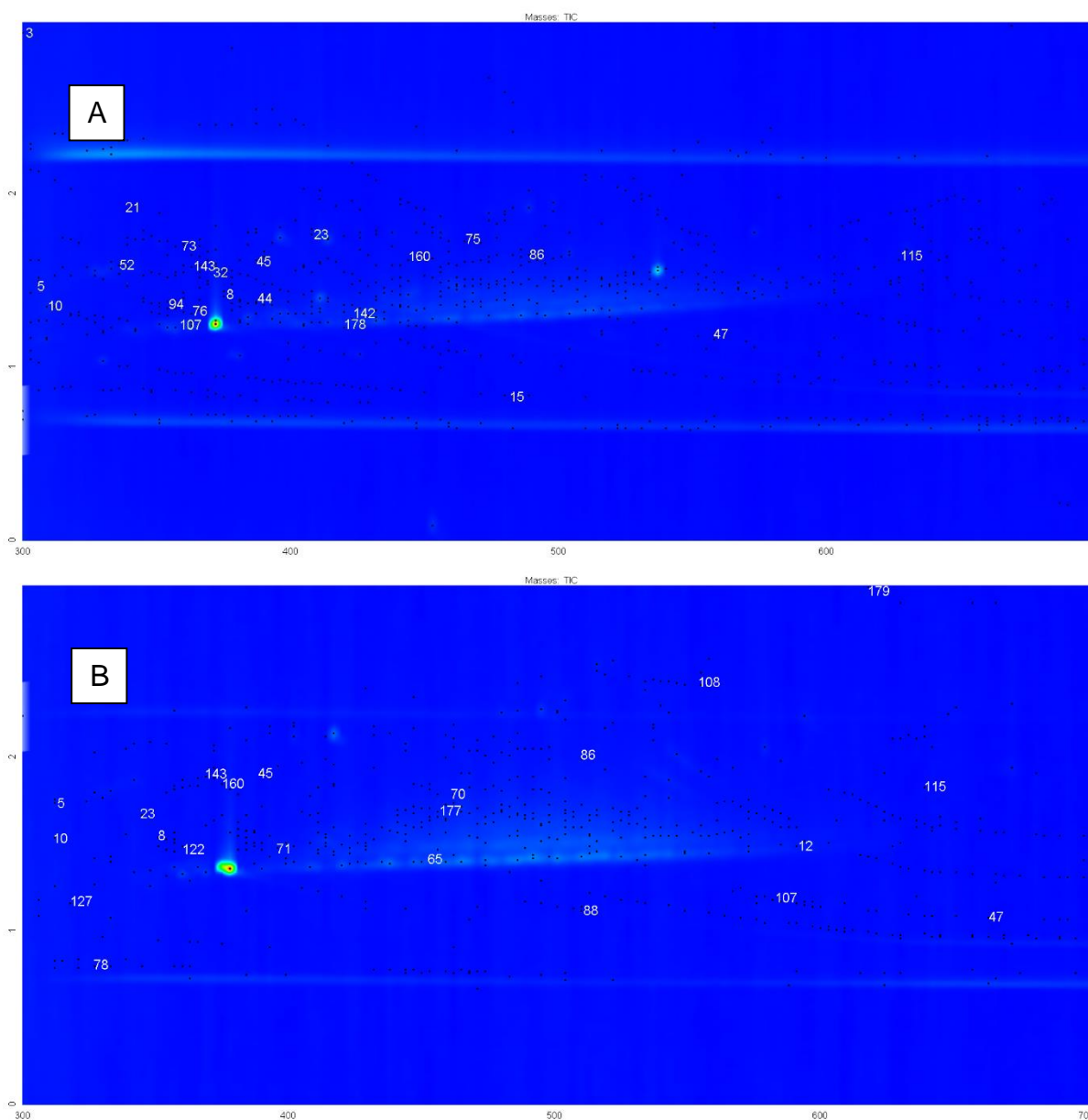
Cromatograma do ponto 2. a- período sem chuva, b – período chuvoso



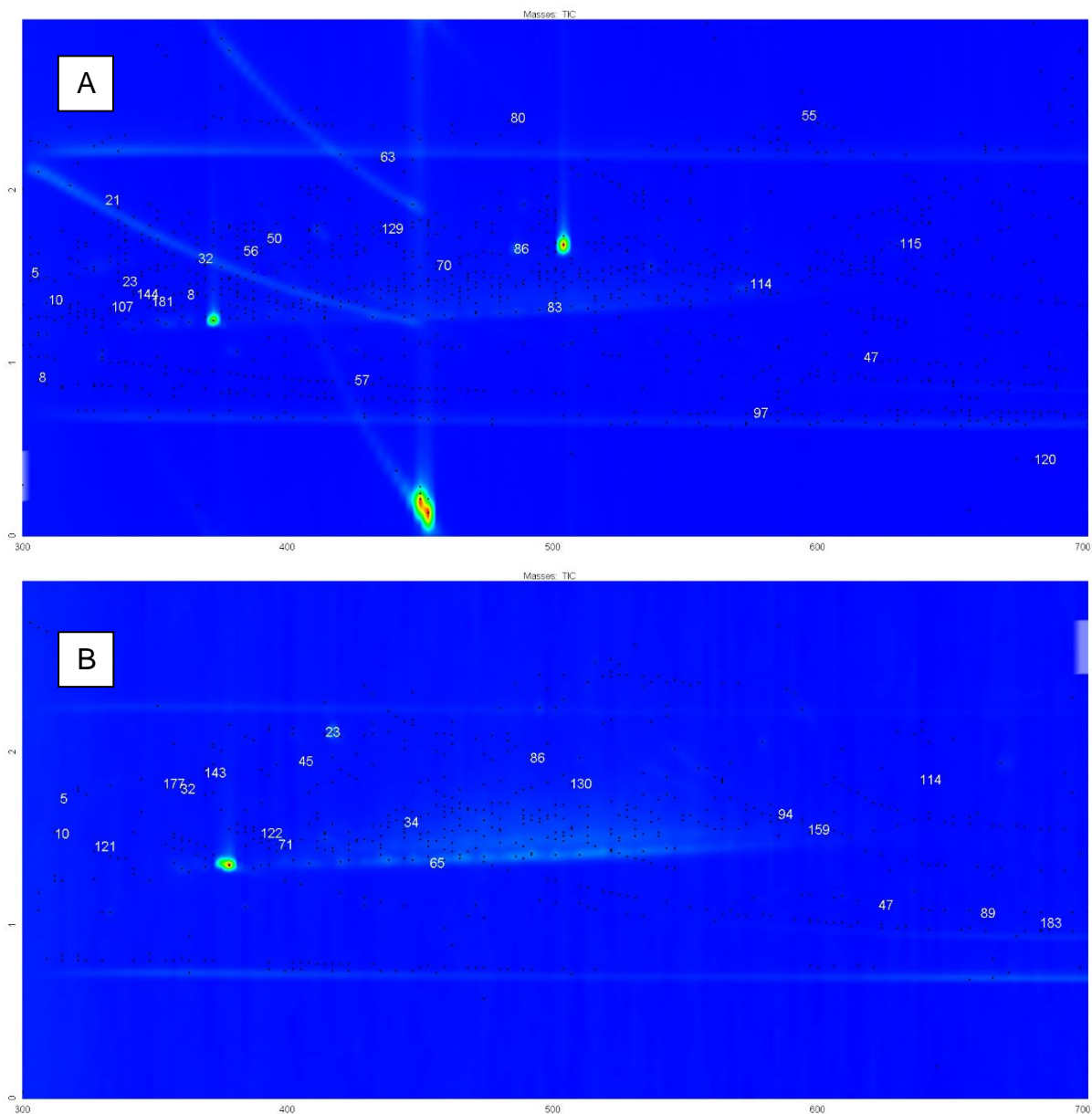
Cromatograma do ponto 3. a- período sem chuva, b – período chuvoso



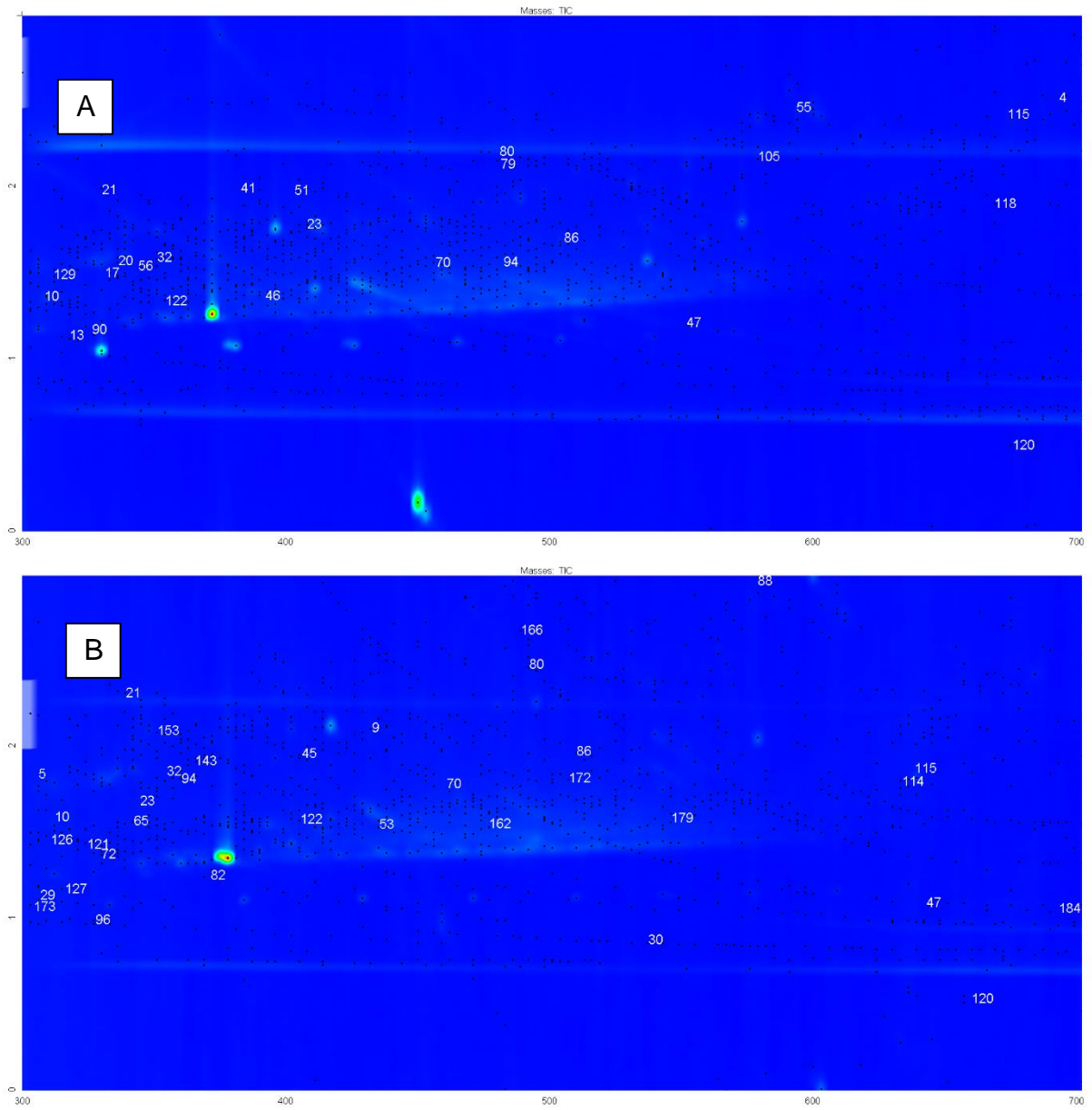
Cromatograma do ponto 4. a- período sem chuva, b – período chuvoso



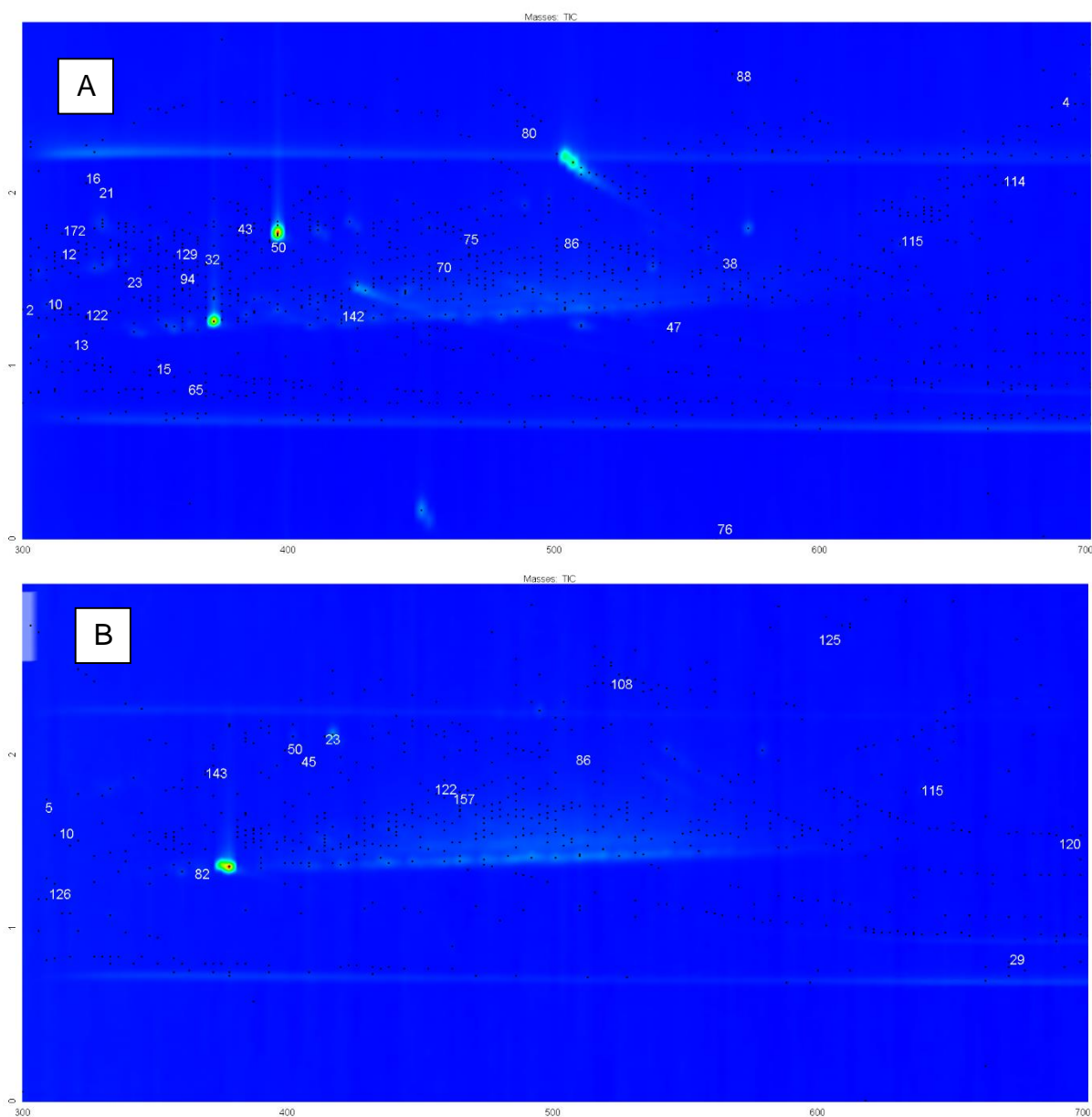
Cromatograma do ponto 5. a- período sem chuva, b – período chuvoso



Cromatograma do ponto 6. a- período sem chuva, b – período chuvoso



Cromatograma do ponto 7. a- período sem chuva, b – período chuvoso



Cromatograma do ponto 8. a- período sem chuva, b – período chuvoso

APÊNDICE G – Artigo científico publicado em versão online com título “Hyperspeed method for analyzing organochloride pesticides in sediments using two-dimensional gas chromatography – time-of-flight mass spectrometry”

DOI: 10.1007/s00216-022-04464-y

Analytical and Bioanalytical Chemistry.

APÊNDICE H – Artigo científico submetido para a revista BRJAC “Use of potassium-based catalysts in the pyrolysis of Caupi bean pod (*Vigna unguiculata*): effect on products distribution and in the phenols content of bio-oil.

Authors: Roberta Menezes Santos (Corresponding author), Diego Fonseca Bispo (Co-author), Laryssa Meneguel Santos (Co-author), Felipe Cury Mazza (Co-author), Carin von Mühlen (Co-author), André Luis Dantas Ramos (Co-author), Lisiane Santos Freitas (Corresponding author)”

Date submitted: 2022-11-08

Artigo científico submetido para a revista JBCS “Analysis of endosulfan isomers and other pesticides in surface water of the Paraíba do Sul River Basin by solid phase extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry.

Authors: Felipe Cury Mazza (Corresponding author), Isabella Julieto Oliveira dos Santos (Co-author), Nilo Antônio de Souza Sampaio (Co-author), Carin von Mühlen (Corresponding author)”

Date submitted: 2023-06-01