

**UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE

Determinação de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais da bacia do rio Guandu por cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massas

Thais Paes Ferreira



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO DE FIPRONIL E FIPRONIL SULFONA EM ÁGUAS
SUPERFICIAIS DA BACIA DO RIO GUANDU POR
CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

THAIS PAES FERREIRA

Sob Orientação da Professora
Yara Peluso Cid

e coorientação do Professor
Glauco Favila Bauderfeldt

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química.

Seropédica, RJ
Março de 2022

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

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

F383d Ferreira, Thais Paes, 1987-
Determinação de fipronil e fipronil sulfona em
águas superficiais da bacia do rio Guandu por
cromatografia líquida de alta eficiência com
espectrometria de massas / Thais Paes Ferreira. - Rio
de Janeiro, 2022.
79 f.

Orientadora: Yara Peluso Cid.
Coorientador: Glauco Favila Bauderfeldt.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Química,
2022.

1. Inseticida. 2. Água Superficial. 3.
Contaminação. 4. Rio Guandu. 5. Espectrometria de
massas. I. Cid, Yara Peluso, 1982-, orient. II.
Bauderfeldt, Glauco Favila , -, coorient. III
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de Pós Graduação em Química. IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

THAIS PAES FERREIRA

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutora em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química.

TESE APROVADA EM 23/02/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

Membros da banca:

Yara Peluso Cid. Dr^a. UFRRJ
(Orientador)

Rosane Nora Castro. Dr^a. UFRRJ

Alexandre Lioi Nascente. Dr. UFRRJ

André Luís Mazzei Albert. Dr. FIOCRUZ

Mônica Costa Padilha. Dr^a. UFRJ



Emitido em 2022

TERMO Nº 198/2022 - PPGQ (12.28.01.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 04/03/2022 13:44)

ALEXANDRE LIOI NASCENTES
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DEPTOENG (12.28.01.00.00.00.44)
Matrícula: 1759225

(Assinado digitalmente em 08/03/2022 07:29)

ROSANE NORA CASTRO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DQO (11.39.00.23)
Matrícula: 1177598

(Assinado digitalmente em 04/03/2022 14:13)

YARA PELUSO CID
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DeptºCF (12.28.01.00.00.00.47)
Matrícula: 1700427

(Assinado digitalmente em 07/03/2022 16:51)

ANDRE LUIS MAZZEI ALBERT
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 609.716.737-72

(Assinado digitalmente em 17/03/2022 15:59)

MONICA COSTA PADILHA
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 071.183.007-05

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrj.br/documentos/> informando seu número:
198, ano: **2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **04/03/2022** e o código de verificação: **a4ced748c7**

AGRADECIMENTOS

A Deus por me fortalecer, me dar coragem de superar os desafios e o cansaço para que eu terminasse esse projeto.

A minha orientadora Prof.^a Yara Cid, peça fundamental para transformar esse sonho em realidade. Sua constante motivação, incentivo, amor pela ciência e paciência foram como uma grande mola que permitiu o meu avanço. Sou muito grata e feliz por ter você ao meu lado durante toda a minha trajetória acadêmica, muito obrigada por tudo.

A Prof.^a Rosane Nora pela enorme disposição em me ajudar, sem sua disponibilidade não conseguiria executar esse projeto. Obrigada por todo o carinho e acolhimento durante o período experimental, devo boa parte desse trabalho a senhora. Ao Prof. Glauco pelas sugestões concedidas ao decorrer deste trabalho e pelos excelentes ensinamentos oferecidos nas disciplinas do programa de pós-graduação, seu empenho foi fundamental para a minha formação no programa de química analítica e para a conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho do LQEPV, por entenderem minha ausência física e mental durante o doutorado. Ao Prof. Fábio Scott pelo incentivo e por acreditar nesse trabalho. Viviane, minha companheira de trabalho, obrigada por todo incentivo, prontidão em me auxiliar e por todos os ensinamentos. Agradeço também as alunas Ingrid, Taynara, Flávia, Joyce e Paloma por todo carinho e apoio. E em especial a amiga Melina Alves, por ter sido meu braço direito durante todo esse período, obrigada pela prontidão em me ajudar, pelos momentos de descontração, por cobrir todas as lacunas do laboratório na minha ausência e sempre com muito carinho, muito obrigada.

As minhas amigas Fernanda, Thais, Lilian e Tarcilla pelos conselhos e por me ajudarem a não desistir. Saibam que a amizade e o apoio de vocês foram fundamentais para mim!

Ao meu Amor Fabrício, muito obrigado por participar tanto desse processo, obrigado pela compreensão, paciência, incentivo e enorme companheirismo em todas as etapas deste trabalho. Muito obrigado meu amor.

Aos meus pais e irmãos por terem sido o meu alicerce até aqui. Certamente eu não chegaria até aqui sem vocês. A matriarca da família, minha avó que sempre me incentivou a correr atrás dos meus sonhos, e aqui estou. Amo vocês!

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

RESUMO

FERREIRA, Thais Paes. **Determinação de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais da bacia do rio Guandu por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massas.** 2022. 78p Tese (Doutorado em Química, Química Analítica) Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

O fipronil (FIP) é um inseticida de amplo espectro utilizado em diversos setores, que apresenta riscos ambientais e à saúde humana. Em vários países, estudos relatam a presença de FIP e seus produtos de degradação em diversos ambientes aquáticos, sendo o fipronil sulfona (FIP-S) um dos produtos de degradação mais comumente encontrados. No entanto, registros de sua ocorrência em águas superficiais no Brasil são limitados. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico utilizando extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), robusto e acurado o suficiente a fim de avaliar a presença de FIP e FIP-S em águas superficiais provenientes da bacia hidrográfica do rio Guandu, Rio de Janeiro, Brasil. A técnica LC-MS mostrou-se linear na faixa de 25-300 µg/L para FIP e 50-300 µg/L para FIP-S, com coeficientes de determinação iguais a 0,99, exato, com valores de exatidão de 70,8 -110 %, e preciso com desvios padrões relativos inferiores a 20% intradia (repetibilidade) e interdia (precisão intermediária). Os limites de detecção do método calculados para FIP e FIP-S foram respectivamente 0,025 µg/L e 0,014 µg/L, enquanto os limites de quantificação do método foram 0,10 µg/L e 0,050 µg/L. O método proposto foi então aplicado para analisar 16 amostras coletadas em duas estações no ano de 2020: verão e outono, em oito pontos de amostragem da bacia do rio Guandu, no Estado do Rio de Janeiro. FIP foi encontrado em 75% das amostras avaliadas, com concentrações na faixa de 0,132 - 2,44 µg/L, enquanto FIP-S foi quantificado em apenas uma amostra (0,135 µg/L), ainda que a presença desse analito tenha sido detectada em 62,5% das amostras. Este é o primeiro estudo que relata a ocorrência do FIP e do FIP-S na bacia do rio Guandu. O método desenvolvido é sensível, rápido e apresenta elevada seletividade, permitindo a identificação e a quantificação de FIP e FIP-S em uma região de grande importância para a cidade do Rio de Janeiro. Os resultados encontrados indicam a preocupação de uma eventual contaminação da água de abastecimento e a necessidade de inclusão desse agrotóxico e seus derivados na legislação que estabelece a qualidade de águas superficiais.

Palavras-chave: Inseticida, Rio Guandu, Água Superficial, LC-MS, Contaminação.

ABSTRACT

FERREIRA, Thais Paes. **Determination of fipronil and fipronil-sulfone in surface waters of the Guandu river basin by High Performance Liquid Chromatography with mass spectrometry.** 2022. 78p Thesis (Doctorate in Chemistry, Analytical Chemistry) Institute of Chemistry, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Fipronil (FIP) is a broad spectrum insecticide used in several sectors, which presents environmental and human health risks. In several countries, studies report the presence of FIP and its degradation products in several aquatic environments, being fipronil sulfone (FIP-S) one of the most commonly found degradation products. However, its occurrence in surface waters in Brazil is limited. Within this context, the objective of this work was to develop and validate an analytical method using solid phase extraction (SPE) and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS), capable of evaluating the presence of FIP and FIP-S in water from the Guandu river basin, Rio de Janeiro, Brazil. The detection limits of the method calculated for FIP and FIP-S were respectively 0.025 $\mu\text{g} / \text{L}$ and 0.014 $\mu\text{g} / \text{L}$, while the limits of quantification of the method were 0.10 $\mu\text{g} / \text{L}$ and 0.050 $\mu\text{g} / \text{L}$. The method presented is linear in the range of 25-300 $\mu\text{g} / \text{L}$ for FIP and 50-300 $\mu\text{g} / \text{L}$ for FIP-S, with coefficients of determination equal to 0.99. Accuracy values of 70.8-110 and precision with standard deviation relative to 20% were found under repeatability (intraday) and intermediate (interday) conditions. The proposed method was proposed for the analysis of 16 samples collected in two seasons in 2020: summer and autumn, in eight sampling points in the Guandu river basin, in the State of Rio de Janeiro. FIP was found in 75% of the evaluated samples, in the range of 0.132 - 2.44 $\mu\text{g} / \text{L}$, while FIP-S was quantified in only one sample (0.135 $\mu\text{g} / \text{L}$), but it was possible to detect the presence of this analyte in 62.5% of the samples. This is the first study of the occurrence of FIP and FIP-S in the Guandu river basin. The developed method is sensitive, fast and has high selectivity, allowing the identification and quantification of FIP and FIP-S in a very important region of the city of Rio de Janeiro. The results point to the concern of a possible contamination of the water supply and the need to include this pesticide and its derivatives in the surface water quality legislation.

Keywords: Insecticide, River Guandu, Surface Water, LC-MS, Contamination.

LISTA DE ABREVIACÕES

ACN– Acetonitrila
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEDAE – Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro
CL₅₀ – Concentração letal média
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio
DL₅₀ – Dose letal média
DPR – Desvio padrão relativo
EI – Ionização elétrons (do inglês *Electron Ionization*)
ELL – Extração Líquido-Líquido
ESI - Ionização por electropray (do inglês *Electrospray Ionization*)
ETA– Estação de tratamento de água
ETE– Estação de tratamento de esgoto
FIP – Fipronil
FIP-S – Fipronil sulfona
GABA – Ácido gama amino butírico
GC-ECD – Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (do inglês *Gas Chromatography-Electron Capture Detection*)
GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (do inglês *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*)
HPLC-DAD - Cromatografia Líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de diodos (do inglês *High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detection*)
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA – Ingestão diária aceitável
INEA – Instituto Estadual do Ambiente
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IQA – Índice de Qualidade da Água
LC-MS – Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (do inglês, *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*)
LC-MS/MS – Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa sequencial (do inglês, *Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry*)
LD – Limite de detecção
LQ – Limite de quantificação
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDL – Limite de detecção do método
MMA – Ministério do Meio Ambiente
MQL – Limite de quantificação do método
MS – Espectrometria de massas (*Mass Spectrometry*)
OMS – Organização mundial de Saúde
PERH-GUANDU -Plano estratégico de recursos hídricos das bacias hidrográficas do rio Guandu, da Guarda e Guandu Mirim
PIB– Produto Interno Bruto
POPs – Poluentes orgânicos persistentes
PVDF – Fluoreto de polivinilideno
RH II – Região hidrográfica do Guandu

S/N – Relação sinal ruído

SE – Solução estoque

SIM – Monitoramento de íons selecionados (do inglês, *Select Ion Monitoring*)

SPE – Extração em fase sólida (do inglês, *Solid-phase extraction*)

ST – Solução de trabalho

T_{1/2} – Tempo de meia vida

TIC – Cromatograma de íons totais (do inglês, *Total Ion Chromatogram*)

UE – União Européia (do inglês, *European Union*)

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês, *United States Environmental Protection Agency*)

VAB – valor agregado bruto

VMP – Valor máximo permitido

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico de registros de agrotóxicos, componentes e afins concedidos de 2005-2020 no Brasil.	6
Figura 2 - Hidrograma unifilar da rede hidrográfica do Rio Guandu.....	9
Figura 3 - Estrutura química do fipronil.....	13
Figura 4 - Estruturas químicas do fipronil e seus produtos de degradação.....	15
Figura 5 - Estrutura química do fipronil sulfona.....	16
Figura 6 - Faixa de aplicação da LC e GC para determinação de agrotóxicos baseados em suas propriedades físico-químicas de polaridade e volatilidade.....	22
Figura 7 - Esquema de processamento das amostras de água superficial.....	27
Figura 8 - Cromatógrafo Líquido acoplado a Espectrômetro de Massas (LCMS-2020, Shimadzu).....	28
Figura 9 - Identificação dos pontos de coleta ao longo da bacia hidrográfica do rio Guandu: Rio da Guarda (P1GR); Rio Guandu (P2GR); Rio Guandu (P3GR); Lagoa Guandu (P4GL); Rio Guandu (P5GR); Rio Guandu (P6GR); Rio Queimados (P7QR) e Rio Guandu (P8GR).....	32
Figura 10 - Pontos de coleta com suas respectivas coordenadas ao longo da bacia hidrográfica do rio Guandu.....	33
Figura 11 - Cromatograma em HPLC-DAD ($\lambda=280$ nm) de uma solução padrão de fipronil e fipronil sulfona (100 $\mu\text{g/L}$), avaliando-se três modos de eluição: teste 1 (isocrático), teste 2 e 3 (gradientes).....	35
Figura 12 - Cromatograma de íons totais (TIC) da solução padrão de fipronil (1) e fipronil sulfona (2), no modo isocrático sem adição de ácido fórmico (A) e modo gradiente com adição de ácido fórmico (B).....	36
Figura 13 - Espectro massas correspondente ao pico cromatográfico de fipronil ($t_R= 5,1$ min).....	38
Figura 14 - Espectro de massas correspondente ao pico cromatográfico de fipronil sulfona ($t_R= 6,1$ min).....	38
Figura 15 - Cromatograma no modo SIM da solução de fipronil e fipronil sulfona em solvente.....	39
Figura 16 - Cromatograma no modo SIM da amostra processada sem fortificação.....	40
Figura 17 - Estudo do efeito matriz na quantificação de fipronil em água superficial.....	41
Figura 18 - Estudo do efeito matriz na quantificação de fipronil sulfona em água superficial.....	41

Figura 19 - Aspecto das amostras antes e após filtração (0,45 µm), coletadas no período do Verão.	45
Figura 20 - Aspecto das amostras antes da filtração (0.45 µm) coletadas no período do Verão.	45
Figura 21 - Comparação da concentração de fipronil nos oitos pontos de amostragem em duas diferentes estações (Verão e outono).....	52
Figura 22 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem no rio da Guarda em Itaguaí (P1GR-verão).....	64
Figura 23- Cromatograma da amostra de água de superfície do ponto de amostragem no rio da Guarda em Itaguaí (P1GR-outono).....	65
Figura 24 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Santa Cruz (P2GR-verão).	66
Figura 25 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Santa Cruz (P2GR-outono).	67
Figura 26 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Nova Iguaçu (P3GR-verão)	68
Figura 27 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Nova Iguaçu (P3GR-outono)	69
Figura 28 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem da Lagoa Guandu em Nova Iguaçu (P4GL-verão).	70
Figura 29 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem da Lagoa Guandu em Nova Iguaçu (P4GL-outono).	71
Figura 30 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Japeri (P5GR-verão)	72
Figura 31 -Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Japeri (P5GR-outono).	73
Figura 32 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Queimados (P6GR-verão).....	74
Figura 33 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Queimados (P6GR-outono).....	75
Figura 34 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Queimados no Distrito Industrial em Queimados (P7QR-verão).....	76
Figura 35 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Queimados no Distrito Industrial em Queimados (P7QR-outono).	77

Figura 36 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Paracambi (P8GR-verão).....	78
Figura 37 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Paracambi (P8GR-outono).....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do fipronil e fipronil sulfona.....	17
Tabela 2 - Métodos analíticos descritos na literatura nos últimos seis anos para análise de fipronil em matrizes aquáticas.....	19
Tabela 3 - Definição dos parâmetros de validação.....	23
Tabela 4 -Esquema de fortificação das amostras processadas para avaliação.	29
Tabela 5 - Avaliação do modo de eluição e fase móvel.	34
Tabela 6 - Equações da reta das curvas analíticas em matriz e em solvente de fipronil e fipronil sulfona e valores de $t_{calculado}$ e $t_{tabelado}$	40
Tabela 7 - Limites de detecção de métodos analíticos descritos na literatura para análise de fipronil em matrizes aquáticas.....	42
Tabela 8 - Resultados da linearidade do método para fipronil e fipronil sulfona	44
Tabela 9 - Resultados de precisão e exatidão do método para o fipronil e fipronil sulfona.....	44
Tabela 10 -Localização de amostragem e parâmetros físico-químicos.....	46
Tabela 11 - Resumo das concentrações de fipronil e sulfona de fipronil detectadas em águas superficiais.....	47
Tabela 12 - Concentrações de fipronil e fipronil sulfona ($\mu\text{g/L}$) em oito locais de monitoramento de rios amostrados no outono e verão de 2020, no estado do Rio de Janeiro, Brasil.....	48
Tabela 13- Valores de concentração de fipronil encontrados em águas superficiais ao redor do mundo.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Agrotóxicos	5
2.1.1 Ocorrência de resíduos de agrotóxicos em ambiente aquáticos	6
2.2 Bacia Hidrográfica do Rio Guandu	8
2.2.1 Descrição e importância.....	8
2.2.2 Ocorrência dos poluentes na bacia.....	11
2.3 Fipronil	12
2.3.1 Toxicidade do fipronil.....	14
2.3.2 Produtos de degradação do fipronil.....	14
2.3.3 Propriedades físico-químicas do fipronil e fipronil sulfona.....	16
2.3.4 Ocorrência de fipronil e seus produtos de degradação em matrizes aquáticas	17
2.3.5 Métodos analíticos para determinação de fipronil em matrizes aquáticas.....	18
2.4 Validação Analítica	23
3 OBJETIVOS GERAIS	24
3.1 Objetivos Específicos	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Instrumentação e Solventes	26
4.2 Metodologia Analítica	26
4.2.1 Seleção de amostras da matriz.....	26
4.2.2 Preparo de soluções analíticas.....	27
4.2.3 Processamento da amostra de água superficial	27
4.3 Validação do Método.....	29
4.3.1 Seletividade	29
4.3.2 Efeito matriz.....	29
4.3.3 Limite de quantificação.....	31
4.3.4 Limite de detecção	31
4.3.5 Linearidade.....	31
4.3.6 Precisão	31
4.3.7 Exatidão.....	31
4.4 Aplicação do Método Validado para Análise em Amostras de Água Superficial.....	32

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 Processamento da Amostra de Água Superficial.....	34
5.2 Análises Cromatográficas dos Padrões e Amostra de Água Superficial por LC-ESI-MS34	
5.3 Condições Cromatográficas.....	38
5.4 Validação do Método.....	39
5.4.1 Seletividade	39
5.4.2 Efeito matriz.....	40
5.4.3 Limite de detecção e quantificação	41
5.4.4 Linearidade.....	43
5.4.5 Precisão e exatidão	44
5.5 Aplicação do Método Validado para Análise em Amostras de Água Superficial.....	44
5.5.1 Avaliação da qualidade da água através de parâmetros físico-químicos	44
5.5.2 Avaliação da presença de fipronil e fipronil sulfona na bacia do rio Guandu	47
5 CONCLUSÃO.....	53
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	64
ANEXO A – Cromatogramas dos pontos de amostragem	64

1 INTRODUÇÃO

Agrotóxicos são substâncias químicas sintéticas ou naturais, que tentam controlar ou eliminar organismos vivos. Podem ser classificados, de acordo com o organismo ao qual se destinam e com a classe química ao qual pertencem (PERES; MOREIRA, 2003).

Estas substâncias são desenvolvidas com o intuito de potencializar uma ação biocida, representando um risco para qualquer organismo vivo, eliminando não só organismos alvos, mas insetos benéficos, como o exemplo das abelhas. Deste modo, pequenas doses dessas substâncias químicas podem gerar consequências relatadas na literatura como mecanismos de neurotoxicidade, desregulação endócrina, atividade cancerígena e disfunções no sistema digestório (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Nos últimos anos, houve um aumento progressivo de publicações acerca destes riscos provocados por agrotóxicos com diferentes usos.

Diferentes tipos de agrotóxicos são utilizados na agricultura para eliminação de pragas que prejudicam a produtividade, favorecendo o processo de produção agrícola, gerando uma maior eficiência econômica. Quando utilizados em atividades não agrícolas, como medicamentos de uso veterinário e domissanitários, seu uso é justificado pelo controle de vetores que podem lesar a saúde animal ou humana. Entretanto, esses produtos, apesar de apresentarem em sua composição o mesmo princípio ativo, são formulados e avaliados de forma distinta, e no Brasil, são regulamentados por órgãos regulatórios distintos. A legislação brasileira prevê que para o registro de agrotóxicos de uso agrícola deve ser feita a aprovação por três órgãos regulatórios: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Ministério da Saúde e pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA). Estes avaliam a eficácia agrônômica, os potenciais impactos sobre o meio ambiente e sobre a saúde, respectivamente. Entretanto o mesmo princípio ativo denominado de agrotóxico na agricultura é registrado como um produto veterinário sendo avaliado exclusivamente pelo MAPA e como domissanitário avaliado para registro apenas pelo Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (DIAS *et al.*, 2018). É possível observar que a legislação brasileira não considera essa múltipla exposição aos agrotóxicos presentes em diversos setores (agrícola, pecuário, residencial e industrial), ocasionando um risco acumulado ao meio ambiente e à saúde humana e animal.

Além da fragilidade do atual sistema regulatório para os agrotóxicos no Brasil, houve um aumento expressivo de autorizações destes produtos nos últimos anos (MAPA, 2021), devido a flexibilização de políticas públicas no governo atual, facilitando o registro, a diminuição da restrição e a modificação da classificação de risco de toxicidade (Resolução-RE nº 2.080, de 2019) (DE MORAES, 2019). Desta forma, é notório observar que as políticas públicas atuais prezam por questões econômicas conectadas ao mercado produtor de agrotóxicos e contribui ao máximo para impactos sociais e ambientais gerados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos.

Nesse contexto, a contaminação dos recursos naturais por grande parte desses agrotóxicos traz uma poluição indescritível para o país, sendo frequentemente detectados em corpos d'água, podendo atingir ecossistemas e causar inúmeros problemas de saúde a animais e seres humanos (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). A contaminação de águas superficiais ou subterrâneas por agrotóxico é uma grande preocupação para a sociedade, podendo trazer impactos ao abastecimento de água potável, visto que, esses sistemas são

importantes fontes e reservas de água. Para garantir a proteção do meio ambiente e a saúde humana, o Brasil possui como alicerce duas legislações que estabelecem limite de poluentes como parâmetros de qualidade de águas, a Resolução nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que estabelece limites para diversos tipos de águas superficiais, e a Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde, revisada recentemente, que estabelece limites para água de consumo humano. No entanto, o aumento significativo da liberação de uso de agrotóxicos no país não vem acompanhado de modificações na legislação brasileira e não abrange a variedade e a quantidade de agrotóxicos aplicados no país. Os parâmetros de qualidade das águas não contemplam as inúmeras substâncias utilizadas rotineiramente em diferentes setores, tampouco, os produtos de degradação destas.

A situação no Brasil se torna ainda mais alarmante devido à precariedade do sistema de coleta e tratamento de esgotos (SNIS, 2019), sendo grande parte desses efluentes lançados de forma *in natura* em mananciais destinados ao abastecimento, colaborando para a presença desses contaminantes em concentrações acumuladas. Ao pensar na água para abastecimento público devem-se priorizar ações para a proteção dos mananciais destinados a esse fim e não somente o tratamento a ser realizado para eliminação desses poluentes. Muitas dessas substâncias não são removidas em sua totalidade nos sistemas de tratamento convencionais ou sequer são estudadas em determinadas regiões do Brasil, como por exemplo, a bacia hidrográfica do Rio Guandu.

A bacia hidrográfica do Guandu possui grande relevância para o país, visto que, é responsável pelo abastecimento da 2ª maior região metropolitana, o estado do Rio de Janeiro (COMITÊ GUANDU, 2018). Possui a sua vazão modificada artificialmente devido à transposição do Rio Pirai e Paraíba do Sul, com o objetivo de suprir essa demanda hídrica de abastecimento. Entretanto, esse manancial é severamente afetado pela descarga *in natura* de esgoto doméstico, agrícola e industrial. Sendo assim, a identificação e o monitoramento de poluentes, controlados ou emergentes, são fundamentais para a saúde ambiental deste local e para ações de infraestrutura sanitária. Estudos relatam a presença de diversos poluentes como medicamentos humanos, hormônios sintéticos, surfactantes e agrotóxicos na bacia do rio Guandu (DE ARAUJO *et al.*, 2019, 2020; DIAS *et al.*, 2015; FERNANDES, 2019; FERREIRA, 2014; MONTEIRO *et al.*, 2018). Dentre os possíveis poluentes presentes que ainda não foram relatados nesse sistema hídrico, destaca-se o fipronil como potencial candidato, um agrotóxico incluído recentemente na legislação brasileira que estabelece os critérios de qualidade da água potável (Portaria GM/MS nº 888, que atualiza o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº5/2017).

O fipronil é um inseticida eficaz contra insetos que são resistentes ou tolerantes a outras classes de inseticidas, sendo uma alternativa a esses agrotóxicos. Além disso, apresenta alta efetividade contra formigas, cupins, gafanhotos, mosquitos, pulgas e carrapatos. Devido ao seu amplo espectro de ação possui recomendações de uso agrícola, industrial, pecuária e residencial, para o controle de pragas em áreas urbanas e uso em animais domésticos. Os diferentes tipos de uso do fipronil possibilitam a existência de várias fontes e rotas para a contaminação do ambiente aquático. O fipronil apresenta uma toxicidade indesejada para abelhas, insetos terrestres benéficos e invertebrados aquáticos sendo banido em diversos países.

O fipronil não é estável no meio ambiente e seus produtos de degradação têm sido detectados em inúmeros países com frequência, em diversos ambientes aquáticos, como águas pluviais, águas de escoamento residencial, águas superficiais e água potável. Alguns estudos mostraram que os produtos de degradação do fipronil são mais tóxicos do que o próprio fipronil para mamíferos. Dentre esses produtos destaca-se o fipronil sulfona, que apresenta alta

atividade sobre o sistema nervoso central de mamíferos, possui maior tendência à bioacumulação e uma maior toxicidade para organismos aquáticos do que o próprio fipronil (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

Apesar de toda a preocupação da comunidade científica sobre a presença de fipronil em matrizes aquáticas, a legislação brasileira que estabelece parâmetros de qualidade para água de consumo humano ainda não previa o monitoramento de fipronil até sua última revisão (BRASIL, 2021), passando a ser necessária a avaliação da presença de fipronil no manancial utilizado como fonte de água para abastecimento e na água tratada pela estação de tratamento de água (ETA). Considerando a elevada contaminação da bacia do Guandu, já destacada anteriormente, onde há uma grande variedade de substâncias presentes, torna-se indispensável à disponibilização de um método analítico, seletivo, sensível, robusto e principalmente que seja simples, rápido, seguro e de baixo custo, possibilitando a aplicação em estudos de monitoramento.

O grande avanço da instrumentação analítica nos últimos anos e o desenvolvimento de técnicas de extração mais robustas possibilitou a detecção e identificação do fipronil em níveis de traços ($\mu\text{g/L}$ - ng/L), contribuindo ao atendimento de baixos limites de concentração máxima permitível desse contaminante na água, exigidos pelas agências regulatórias internacionais. A análise quantitativa de fipronil é frequentemente realizada pelas técnicas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS, *Liquid Chromatography–tandem mass spectrometry*) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS, *Gas Chromatography – mass spectrometry*), embora sejam utilizados outros detectores de outros tipos acoplados à cromatografia líquida e gasosa, como por exemplo, cromatografia líquida com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD, *High Performance Liquid chromatography–diode array detection*) e cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (GC-ECD, *Gas Chromatography–Electron Capture Detection*). Para a análise de fipronil em matrizes de águas superficiais e efluentes, a extração em fase sólida (SPE, *Solid-phase extraction*) é uma das técnicas mais empregadas. Esta técnica permite a extração simultânea de várias substâncias, a pré-concentração e a eliminação de interferentes da matriz em apenas uma etapa. Os extratos obtidos por SPE são comumente analisados pela cromatografia líquida (LC) ou cromatografia gasosa (GC) acoplada a espectrômetro de massas em série (MS/MS), detectores que garantem uma alta sensibilidade, seletividade e confiabilidade, entretanto quanto mais complexa a técnica analítica mais cara ela se torna. E a utilização de um procedimento de preparo de amostra envolvendo etapas de extração e posterior concentração pode tornar a técnica de LC-MS com parâmetros de sensibilidade e seletividade suficientes para atingir o fim proposto. Além da possibilidade de aplicação a estudos de monitoramento de resíduos de agrotóxicos, podendo também atender às rigorosas regulamentações. Todavia, no Brasil ainda existem poucos estudos que permitam uma abordagem ampla das bacias hidrográficas, o que dificulta traçar um panorama da presença desse contaminante em águas superficiais brasileiras. Tal fato pode ser atribuído às técnicas analíticas empregadas, que além de laboriosas, possuem um elevado custo.

No entanto, para apresentar dados que comprovem a credibilidade dos resultados obtidos é necessária a validação do método analítico proposto. A validação é uma etapa do protocolo analítico, que demonstra que a metodologia executada conduz a resultados confiáveis e adequados à finalidade pretendida (CASSIANO *et al.*, 2009).

O estudo representa uma grande contribuição para o diagnóstico ambiental e a análise de fipronil e seu produto de degradação, fipronil sulfona, em pontos específicos de uma bacia de grande importância para o abastecimento da 2ª maior região metropolitana do país (RJ), através da técnica analítica SPE-LC-MS, tal como será amplamente discutida no subitem 2.3.6 (Métodos analíticos para determinação de fipronil em matrizes aquáticas) e que foi proposta

por ser um método alternativo e acessível, possibilitando atingir níveis de concentração em intervalos de confiança similares aos resultados de outras técnicas já descritas na literatura.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agrotóxicos

Agrotóxicos são substâncias químicas sintéticas ou naturais, que tentam controlar ou eliminar organismos vivos. Podem ser classificados, de acordo com o organismo ao qual se destinam: inseticidas (insetos), larvicidas (larvas), formicidas (formigas), acaricidas (ácaros), carrapaticidas (carrapatos), nematicidas (nematóides), moluscidas (moluscos), rodenticidas (roedores), fungicidas (fungos) e herbicidas (ervas daninhas), e com o grupo químico ao qual pertencem como organofosforados, piretróides, lactonas, fenilpirazoles e benzoilfeniluréias (PERES; MOREIRA, 2003). Seu uso é justificado pelo controle desses vetores que podem lesar ou transmitir enfermidade às plantas, aos animais e ao homem, gerando um dano à saúde e ao bem-estar do homem, à lavoura, à pecuária e seus produtos e a outras matérias-primas alimentares (BARBOSA, 2004).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com sua toxicidade, uso, estabilidade ambiental e estrutura química (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020). De acordo com a finalidade do uso, eles são subdivididos para uso na agricultura, na eliminação de vetores transmissores de doenças contagiosas (agentes fitossanitários), uso como medicamentos veterinários (ectoparasiticidas) e para uso doméstico (agrotóxicos domissanitários) (BASTOS *et al.*, 2011). No Brasil, os ingredientes ativos (agrotóxicos) utilizados em produtos para erradicar ou controlar pragas agrícolas, também são encontrados em produtos que não são utilizados na agricultura, como os produtos domissanitários. Eles são comumente utilizados em ambientes residenciais, comerciais e industriais. Além de estarem presentes na medicina veterinária em produtos veterinários que possuem a função de combater ectoparasitas e/ou endoparasitas em animais domésticos e de produção, entretanto são regulamentados e tratados separadamente dos agrotóxicos na legislação brasileira (DIAS *et al.*, 2018).

A legislação Brasileira prevê que para o registro de agrotóxicos deve ser feita a aprovação por um comitê formado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Ministério da Saúde e pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA). Esses órgãos avaliam a eficácia agrônômica, os potenciais impactos sobre o meio ambiente e sobre a saúde, respectivamente. Enquanto a avaliação de pesticidas de uso veterinário é feita exclusivamente pelo MAPA, sendo assim, produtos formulados com o mesmo princípio ativo podem ter avaliações distintas, para fins de registro, dependendo de sua utilização, o que acarreta em uma falta de avaliação para os danos que esses produtos podem trazer ao meio ambiente e a saúde humana (DA SILVA; MOREIRA; PERES, 2012; DIAS *et al.*, 2018).

O consumo de agrotóxicos vem aumentando ao longo dos anos em diversos países (CARVALHO, 2017). O Brasil está entre os maiores produtores agrícolas mundiais, porém, com uma relação custo-benefício insatisfatória (maior uso de agrotóxicos para uma menor produção agrícola) (ZHANG, 2018). Atualmente, o país se destaca como o terceiro maior consumidor de pesticidas do mundo, atrás apenas dos EUA e China. Somente em 2020, 493 produtos foram autorizados para uso (Figura 1), o número mais expressivo dos últimos 10 anos (MAPA, 2021b).

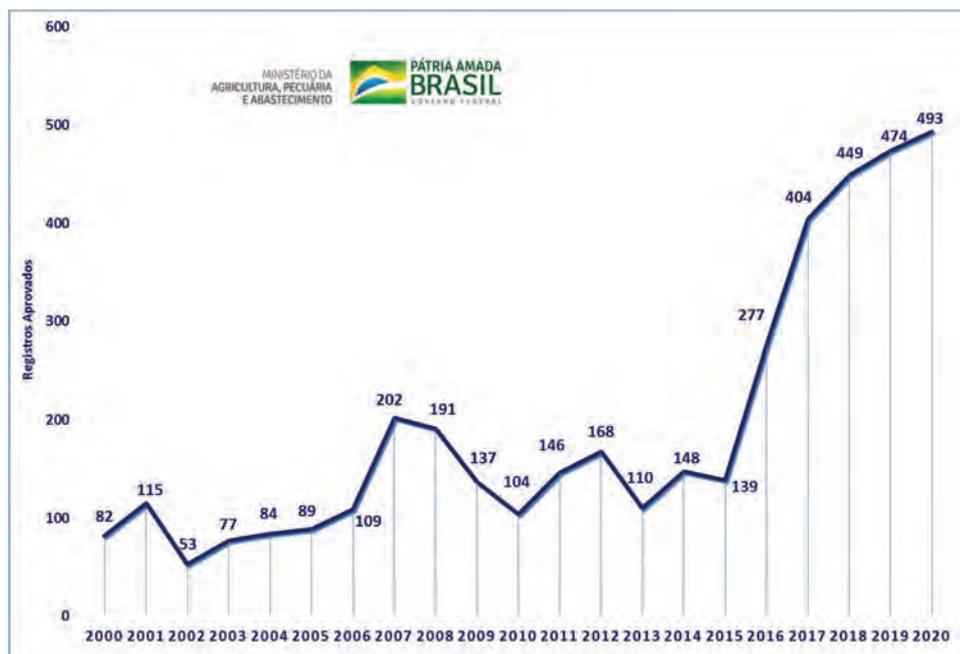


Figura 1 - Gráfico de registros de agrotóxicos, componentes e afins concedidos de 2005-2020 no Brasil. Fonte: MAPA, 2021

O número de agrotóxicos produzidos e registrados no Brasil nos últimos anos tem aumentado progressivamente, devido a um incentivo do governo federal, que vem reduzindo a burocracia no processo, as restrições a tais produtos e fazendo alterações legais ao termo "pesticida" por "defensivo agrícola", além de uma nova classificação de risco de toxicidade (Resolução n.º 2.080/2019) (DE ARAÚJO NASCIMENTO *et al.*, 2020; MAPA, 2021b). Devido aos danos à saúde e ao meio ambiente, muitos agrotóxicos proibidos em outros países permanecem em circulação no Brasil. Segundo dados de Braga e colaboradores (2020), dos 474 produtos aprovados no governo atual em 2019, 148 possuem substâncias atualmente proibidas ou severamente restritas pela comissão europeia, tornando o Brasil um importante mercado consumidor desses produtos banidos de outras nações (FRIEDRICH *et al.*, 2021). Sendo assim, o incentivo a um uso exacerbado e rotineiro de agrotóxicos comprova um descaso aos riscos ambientais e à saúde humana, esses riscos não se restringem apenas ao território brasileiro, afetando a outros países (BRAGA *et al.*, 2020).

É dentro desse contexto, de um uso indiscriminado de agrotóxicos tanto na agricultura, como na produção animal que esses produtos têm atraído uma maior atenção por serem frequentemente detectados em corpos d'água, podendo atingir ecossistemas e causar inúmeros problemas de saúde a animais e seres humanos.

2.1.1 Ocorrência de resíduos de agrotóxicos em ambiente aquáticos

O consumo anual de agrotóxicos no mundo corresponde a cerca de dois milhões de toneladas, ocasionando uma descarga descontrolada dessas substâncias no meio ambiente, que mesmo em concentrações de traços (ng/L-µg/L) contribuem para seu acúmulo nos compartimentos aquáticos (SOUSA *et al.*, 2017). Nas últimas décadas foi detectado um nível

residual de até 5,7 µg/g de pesticidas em sistemas aquáticos de diferentes países em todo o mundo, incluindo águas superficiais, biota aquática e água da chuva (RAJMOHAN; CHANDRASEKARAN; VARJANI, 2020; SPRINGER, 2021).

Nas ocorrências de agrotóxicos em águas superficiais e subterrâneas ao redor do mundo destacam-se os herbicidas, inseticidas e fungicidas como as três classes mais encontradas (DE SOUZA *et al.*, 2020). Dentre as classes químicas já relatadas na literatura estão: triazinas (atrazina, simazina), organofosforados, (clorpirifós, diazinon), piretróides (cipermetrina), feniluréias (diuron) e neonicotinóides (imidaclopride) (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016; DE SOUZA *et al.*, 2020; SOUSA *et al.*, 2017).

Um monitoramento realizado entre 2014-2017 pelas empresas de abastecimento de água de 1.396 municípios detectou todos os 27 agrotóxicos descritos na Portaria de consolidação de nº 5/2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017). Desses, 16 são classificados pela ANVISA como extremamente ou altamente tóxicos. Números revelam que a contaminação da água está aumentando a passos largos e constantes. Em 2014, 75% dos testes detectaram agrotóxicos, em 2015 este número subiu para 84% e em 2016 foi para 88%, chegando a 92% em 2017. As principais substâncias com maior ocorrência e maior concentração foram: aldrin, dieldrin e clordano (BRASIL, 2018).

Albuquerque e colaboradores (2016) conduziram um levantamento sobre a ocorrência de resíduos de agrotóxicos em águas doces no Brasil. Através do levantamento foi possível observar que a classe dos herbicidas foi a mais investigada, seguido pelos fungicidas, inseticidas e reguladores de crescimento, nos quais os inseticidas representam a classe de maior preocupação. Clomazona (isoxazolidinona) e o quincloraque (quinolinas) foram os herbicidas mais comumente investigados e quantificados, fipronil foi o inseticida encontrado com uma maior frequência e por último carbendazim (benzimidazóis) o fungicida mais frequentemente encontrado.

A contaminação de sistemas de águas superficiais ou subterrâneas por agrotóxicos pode trazer impactos ao abastecimento de água, pois esses sistemas são importantes fontes de água potável. Os agrotóxicos encontrados nestas águas podem ter um potencial impacto ao ser humano, de acordo com a sua quantidade, toxicidade e frequência a exposição. Diferentes critérios de aceitação sobre os níveis de concentração máxima de agrotóxicos permitidos na água são estabelecidos por regulamentações mundiais a fim de proteger o meio ambiente e a saúde humana. Entretanto, poucos são os acordos sobre como os agrotóxicos devem ser regulamentados e qual deve ser a magnitude desses níveis de concentração máxima aplicada a um determinado agrotóxico entre jurisdições regulatórias de água potável em todo o mundo (LI; JENNINGS, 2017).

A União Europeia (UE) possui uma lista com 45 substâncias consideradas prioritárias pela comissão sobre normas de qualidade ambiental e estabelece uma concentração máxima permitida em água potável de 0,1 µg/L admissível para qualquer agrotóxico e produtos, desde que a totalidade dessas substâncias não ultrapassem o valor de 0,5 µg/L (SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020). A USEPA, disponibilizou recentemente uma lista preliminar com 68 substâncias químicas, como novos candidatos para comporem a CCL-5 (lista de candidatos a contaminantes). Estes atualmente não estão sujeitos a nenhuma regulamentação primária nacional de água potável, entre essas inclusões destaca-se a presença do fipronil (USEPA, 2021).

Embora o Brasil esteja entre um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo, a legislação brasileira de potabilidade da água não abrange a variedade e a quantidade de agrotóxicos aplicados no país. O estabelecimento dos parâmetros de qualidade da água na legislação, tanto para o uso humano como para os outros usos da água (dessedentação de

animais, irrigação e recreação), ou mesmo a proteção de ambientes apresenta um número reduzido de agrotóxicos (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

A Resolução n° 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005) que estabelece limites máximos de contaminantes para as diversas classes de águas superficiais, de usos múltiplos, como: gado, irrigação, recreação, água potável, incluindo a proteção da vida aquática para algumas classes de água, estabelece limites para 28 agrotóxicos. Desse total, 16 são poluentes orgânicos persistentes (POPs) ou severamente restritos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016). Agências ambientais estaduais são responsáveis pelo monitoramento da qualidade da água conforme estabelecido por essa resolução, enquanto a Portaria de consolidação de n° 5/2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017) estabelece os padrões de potabilidade da água para consumo humano. Em sua última atualização, houve uma primeira demonstração de preocupação através da publicação de uma lista com a inclusão de agrotóxicos e metabólitos não legislados anteriormente que possuem um potencial risco à saúde e suas respectivas concentrações máximas permitidas seguras. Anteriormente esta lista contemplava 27 agrotóxicos, enquanto na legislação em vigor esse número passou para 40, incluindo o fipronil.

Estudos sobre a presença de agrotóxicos em águas superficiais e nas águas tratadas no Brasil são escassos, portanto, a regulação brasileira tem seus critérios baseados em outros países e não consideram a diversidade de agrotóxicos utilizados nas diferentes regiões do Brasil, as características particulares da agricultura regional, além dos efeitos potenciais causados devido à exposição crônica (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Diante do aumento significativo da liberação de uso de agrotóxico no país são necessários estudos que possam comprovar a presença destes contaminantes, que possam embasar ainda mais a revisão de legislações, fornecendo informações para a reavaliação do registro e estabelecimento de protocolo para priorização de agrotóxicos no país (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016).

2.2 Bacia Hidrográfica do Rio Guandu

2.2.1 Descrição e importância

A Região hidrográfica do Guandu (RH II) (Figura 2) compreende os municípios de Engenheiro Paulo de Frontin, Itaguaí, Japeri, Paracambi, Queimados e Seropédica em suas totalidades e parcialmente os municípios de Barra do Pirai, Mangaratiba, Mendes, Miguel Pereira, Nova Iguaçu, Pirai, Rio Claro, Rio de Janeiro e Vassouras. Dentre as principais bacias hidrográficas que compõem a RH II estão a Bacia do Ribeirão das Lajes, a Bacia do Rio da Guarda e a Bacia do Guandu. A definição das regiões hidrográficas do Estado do Rio de Janeiro foi estabelecida pela Resolução do Conselho Estadual de Recursos Hídricos n° 107 de 22 de maio de 2013 do Instituto Estadual do Ambiente (INEA) (INEA, 2013).

A bacia hidrográfica do rio Guandu é formada pelos rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim, com uma área de 3.600 km² e possui um conjunto de 15 municípios pertencentes ao Estado do Rio de Janeiro com todo ou parte de seus territórios inseridos na bacia. A maior singularidade da bacia, por sua vez, se deve à transposição, em condições normais, de no mínimo 119 m³/s das águas da bacia do rio Paraíba do Sul para a bacia do rio Guandu. Caracteriza-se por ser a mais importante do país, pois suas águas abastecem 85% da segunda maior região metropolitana do país (Estado do Rio de Janeiro), atendendo a cerca de 9,4 milhões de habitantes, sendo responsável pela subsistência e desenvolvimento desta metrópole (COMITÊ GUANDU, 2012).

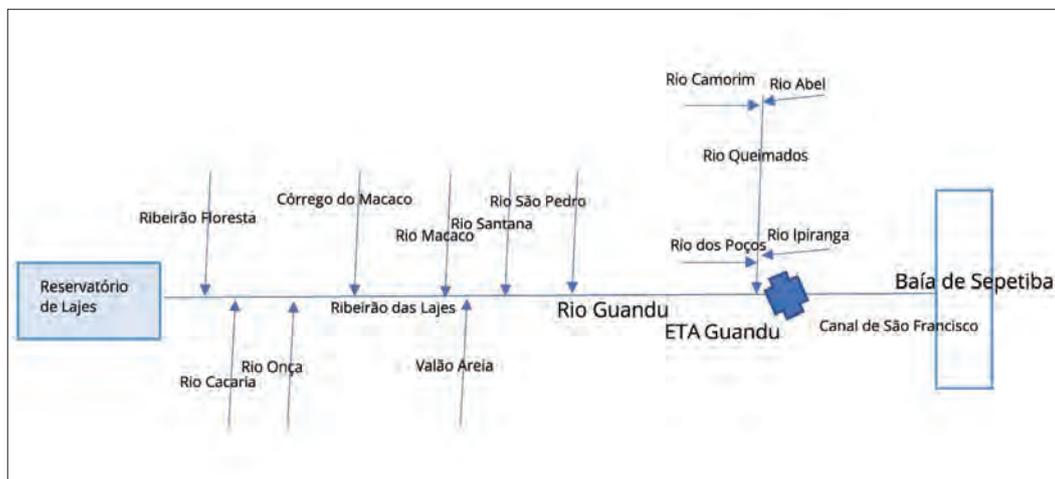


Figura 2 - Hidrograma unifilar da rede hidrográfica do Rio Guandu.
 Fonte: KLIGERMAN; SANCANARI; NOGUEIRA, 2021.

No entanto, a bacia é afetada pelo baixo percentual de tratamento de esgoto doméstico no estado do Rio de Janeiro (45%), pela ocupação humana desordenada e pelo lançamento de efluentes agrícolas e industriais (BIANCO *et al.*, 2020).

Grande parte dos municípios compreendidos na bacia do rio Guandu não conta com serviços de coleta de resíduos sólidos, observando-se, também, baixos índices de atendimento de coleta de lixo urbano. Mais precária ainda é a situação de disposição final desses resíduos, sendo comum o lançamento em lixões localizados, em grande parte, às margens dos rios da bacia e em encostas, e próximos a aglomerações urbanas, resultando em uma grave degradação ambiental (INEA, 2021). Todavia, esse grande aporte de poluição que chega até a estação de tratamento, é atenuado pela diluição ocasionada pela transposição do rio Paraíba do Sul (KLIGERMAN; SANCANARI; NOGUEIRA, 2021).

Atualmente é realizado um monitoramento de qualidade da água da bacia sob responsabilidade do INEA. Também é realizado o monitoramento periódico pela Companhia Estadual de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (CEDAE) para não haver o comprometimento de tratamento pela Estação de tratamento de água (ETA) do Guandu (INEA, 2021a; KLIGERMAN; SANCANARI; NOGUEIRA, 2021). Os critérios utilizados para avaliação da qualidade das águas realizado pelo INEA são definidos a partir dos parâmetros indicados na Resolução nº357/2005 do CONAMA. Através desses parâmetros é calculado um Índice de Qualidade da Água (IQA) que consolida em um único valor os resultados dos seguintes parâmetros: Oxigênio Dissolvido (OD) Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Fósforo Total (PT), Nitrogênio Amoniacal (NH₃), Potencial Hidrogeniônico (pH), Turbidez (T), Sólidos Dissolvidos Totais (SDT), Temperatura da Água e do Ar e Coliformes Termotolerantes, descrevendo e representando de forma mais clara e eficiente o estado atual e as tendências da água (INEA, 2021).

Os pontos de amostragem do presente estudo foram distribuídos ao longo da Bacia do rio Guandu, em locais de fácil acesso para realização das coletas e de modo que se pudesse notar a possível influência antrópica ao longo da bacia. Uma breve descrição das regiões onde os pontos de coleta estão inseridos, será descrita a seguir.

Itaguaí possui uma área de 275.5 km², totalmente inserida na bacia hidrográfica do rio Guandu, sendo o 4º município mais populoso da bacia com 109.091 habitantes. A região de Itaguaí é a principal fornecedora de areia para a Região Metropolitana do Rio de Janeiro, sendo intensa a atividade de extração no leito dos rios (COMITÊ GUANDU, 2018). O município de Itaguaí não possui um sistema de coleta e disposição de esgotos domiciliares em operação, o sistema utilizado é o de fossas sépticas (9% da população), existindo, também, lançamentos em valas a céu aberto (COMITÊ GUANDU, 2018; SEMADS, 2001). Assim, a maior parte do esgoto doméstico produzido pela população de Itaguaí (91%) não recebe qualquer tratamento, sendo lançado nos córregos da região (ANA, 2020; COMITÊ GUANDU, 2018).

Um dos rios que tem sua área parcialmente localizada no município de Itaguaí é o rio da Guarda que tem predomínio de áreas antrópicas agrícolas, com culturas de mandioca e cana-de-açúcar (COMITÊ GUANDU, 2018). Além de seus afluentes serem drenados por áreas exclusivamente de pastagens e que recebem grande aporte de esgotos e lixo doméstico do município de Itaguaí (SEMADS, 2001).

O distrito industrial de Santa Cruz é um importante polo siderúrgico que fica localizado no bairro de Santa Cruz, no município do Rio de Janeiro, sendo indústrias com considerável potencial tóxico tanto em nível de produção de efluentes líquidos como de resíduos sólidos. A poluição de origem industrial é responsável por uma parcela expressiva das cargas orgânicas, de sólidos e das cargas tóxicas lançadas nos corpos hídricos da bacia hidrográfica, apresentando em vários pontos, violações ao enquadramento e às condições e padrões de lançamento da Resolução nº 357/2005 do CONAMA (SEMADS, 2001). Não existem dados disponíveis de coleta e tratamento de esgoto específico para essa região, pois os dados são classificados de acordo com os municípios pelo IBGE e não por bairros.

O município de Nova Iguaçu possui uma área de 521,1 km² tem 48,6% do seu território inserido na bacia hidrográfica do rio Guandu, sendo o 2º município mais populoso da bacia com 796.257 habitantes (10,1 % do total) (COMITÊ GUANDU, 2018). A carga de esgoto gerada é de 42.985,5 mil kg/DBO/dia, sendo 75% desse esgoto coletado é lançado *in natura* nas galerias de águas pluviais ou diretamente nos cursos d'água (ANA, 2020; COMITÊ GUANDU, 2018). Próximo às instalações da CEDAE no bairro de Lagoinha (Nova Iguaçu), antes das barragens principais da ETA Guandu há a chamada lagoa Guandu, localizada imediatamente na foz dos rios Queimados e Ipiranga, ambos afluentes do rio Guandu. Os rios Queimados e Ipiranga são extremamente poluídos com esgotos domésticos e industriais lançados *in natura*, dos polos industriais de Queimados e Nova Iguaçu, tendo características anaeróbias e presença de material altamente sedimentável que deságua na lagoa Guandu. A lagoa funciona como um amortecedor da poluição do rio, armazenando os efluentes que recebe desses seus afluentes. Porém, como não é oficialmente uma lagoa de estabilização de uma Estação de Tratamento de Esgotos (ETE), o lodo que vem sendo depositado no decorrer dos anos não é removido, causando a diminuição da altura do espelho d'água, colocando o rio Guandu numa situação crítica em relação a qualidade e a sua proteção no local de captação do Sistema Guandu (COMITÊ GUANDU, 2012, 2018).

O município de Japeri possui uma área de 81,8 km² tem 100% do seu território inserido na bacia hidrográfica do rio Guandu, sendo o 5º município mais populoso da bacia com 95.492 habitantes (1,2 % do total). A maior parte do município não conta com sistema de coleta nem tratamento de esgoto (COMITÊ GUANDU, 2018), sendo 61% desse esgoto coletado, porém não recebe tratamento e 31% não possui coleta e nem tratamento, sendo lançado em corpos hídricos (ANA, 2020; COMITÊ GUANDU, 2018). Segundo o Plano estratégico de recursos hídricos das bacias hidrográficas do rio Guandu, da Guarda e Guandu Mirim (PERH-Guandu), o uso do solo dessa região tem predomínio de áreas naturais, sendo predominantemente

ocupado por florestas e pastagens. Conforme informações disponibilizadas pelo IBGE para o ano 2018, dentre as atividades econômicas que compreendem o PIB (Produto Interno Bruto) do município, a agropecuária e indústria tem uma contribuição de 0,37% e 11%, respectivamente no valor total do PIB (IBGE, 2017).

O município de Queimados possui uma área de 75,7 km² tem 100% do seu território inserido na bacia hidrográfica do rio Guandu, sendo o 3º município mais populoso da bacia com 137.962 habitantes (1,8 % do total). O município de Queimados é carente de sistema de tratamento de esgoto sanitário, bem como de redes coletoras. A carga de esgoto gerada é de 7.449,9 mil (kg/DBO/dia), porém 85% dessa carga não recebe nenhum tratamento, sendo despejado nos corpos hídricos (ANA, 2020). As suas principais atividades econômicas são a indústria e o comércio. O uso do solo tem o predomínio de áreas antrópicas agrícolas (IBGE, 2017). Queimados possui um Distrito Industrial que possui 35 indústrias, com atividades diferenciadas, e que ainda se encontra em processo de expansão. Este distrito é drenado por dois principais afluentes da bacia do Guandu, rio dos Poços e rio Queimados (KALAOUM *et al.*, 2020). A qualidade da água do rio Queimados configura-se como uma das piores de toda a RH II, além de uma diminuição do IQA de ruim para muito ruim nos últimos cinco anos. O fator mais preocupante é a entrada deste afluente em um dos cursos principais do Guandu, antes da captação de água para ETA Guandu (COMITÊ GUANDU, 2018; SEMADS, 2001).

O município de Paracambi possui uma área de 179,6 km² tem 100% do seu território inserido na bacia hidrográfica do rio Guandu, com 47.124 habitantes (0,6 % do total) (COMITÊ GUANDU, 2018). Paracambi possui 60% do esgoto coletado, mas não recebe tratamento e 36,28% não é tratado nem coletado (ANA, 2020). De acordo com o mapeamento analítico do PERH-Guandu, o município de Paracambi possui 40,1-50% do uso do solo por áreas antrópicas agrícolas, a região detém o 4º maior valor agregado bruto (VAB) agropecuário.

Diante do exposto acima é possível observar o uso variado do solo nos municípios que estão inseridos parcialmente ou totalmente na bacia hidrográfica do rio Guandu, como práticas agrícolas intensivas que requerem um maior uso de agrotóxicos, gerando uma contaminação do solo e podendo em alguns casos contaminar águas superficiais e subterrâneas através do processo de lixiviação (GAVRILESCU *et al.*, 2015). Em áreas rurais há também a ocorrência de atividades de pecuária, com utilização de medicamentos veterinários que podem causar o mesmo tipo de contaminação. Além disso, o descarte de esgoto bruto de diversos municípios provenientes de áreas urbanas e industriais diretamente neste manancial, também é fonte de poluentes para águas superficiais e subterrâneas.

A precariedade do sistema de coleta e tratamento de esgotos no Brasil, com grande parte dos efluentes lançados *in natura* em mananciais, gera preocupações ainda mais alarmantes (SNIS, 2019). O fato de muitos desses mananciais, como é o caso de alguns pontos da bacia hidrográfica do Rio Guandu, serem fontes de água para estações de tratamento de água e muitas dessas substâncias não serem removidas em sua totalidade nos sistemas de tratamento convencionais impacta diretamente na qualidade da água para abastecimento público, se tornando um problema para a saúde humana. Neste contexto, são extremamente necessários estudos nesta bacia que envolvam a análise de poluentes que podem comprometer a qualidade da água, atrapalhar o tratamento dela e gerar risco à saúde pública.

2.2.2 Ocorrência dos poluentes na bacia

De acordo com a análise panorâmica de Branco e colaboradores (2021) sobre as bacias hidrográficas brasileiras, as bacias localizadas nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, destacam-se

por serem severamente afetadas pela presença de poluentes, provavelmente por estarem localizadas em regiões que possuem as maiores densidades populacionais do país. Na literatura foram encontrados estudos realizados nos últimos dez anos na bacia hidrográfica do rio Guandu, com análise de inúmeros poluentes presentes, como medicamentos humanos, hormônios sintéticos e naturais, surfactantes e plastificantes (DE ARAÚJO *et al.*, 2020; DIAS, 2014; FERNANDES, 2019; FERREIRA, 2014; GONÇALVES, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2018).

Gonçalves e colaboradores (2012) analisaram a presença de 23 contaminantes emergentes, como fármacos (analgésicos, anti-inflamatórios, reguladores lipídicos e colesterol, psiquiátricos, β -bloqueadores, antidiabéticos, anti-hipertensivo, anti-helmíntico e antibióticos), plastificante (bisfenol-a) e cafeína. Posteriormente, Ferreira (2014) também reportou a presença de três medicamentos psiquiátricos na bacia, sendo um deles (diazepam) já relatada a presença em concentrações menores no estudo anterior. Dias (2014) relata a presença de 16 poluentes, entre eles fármacos (analgésicos, anti-inflamatórios, reguladores lipídicos e antibióticos), hormônios naturais e sintéticos, e plastificantes. Monteiro e colaboradores (2018) avaliaram a presença de 46 resíduos de antimicrobianos no rio Guandu e na água potável de diversos pontos do estado do RJ, sendo encontrados 16 antimicrobianos de diferentes classes (β -lactâmicos, sulfonamidas e macrolídeos). Posteriormente, Fernandes (2019) realizou um monitoramento nas águas do Rio Guandu, Rio Piraí e Rio Paraíba do Sul, e na água de abastecimento (água potável) da Região Metropolitana do Rio de Janeiro de diferentes poluentes emergentes (hormônios, bisfenol-a e cafeína), sendo a frequência de ocorrência dos poluentes emergentes na água tratada idêntica à do ponto de coleta mais próximo a captação de água bruta do Guandu. Ainda mais recentemente, Araújo e colaboradores (2020) avaliaram a presença de disruptores endócrinos como bisfenol-A, ftalato de dietila, 4-nonilfenol, benzofenona e derivados de plastificantes, surfactantes e produto de cuidados pessoais, respectivamente. Os autores reportaram níveis de concentração elevados para os analitos investigados e destacaram a necessidade de avaliação sobre a presença desses poluentes na água potável.

As águas do rio Guandu são destinadas ao consumo humano, portanto os níveis permitidos para a presença de certas substâncias e/ou contaminantes devem ser os mais baixos e restritivos quando comparados aos demais mananciais. Entretanto, os mais variados estudos já realizados na bacia, destacam a presença de inúmeros poluentes de diversas classes de uso, que não tem limites definidos quanto à presença na legislação brasileira para monitoramento em águas superficiais. Dentre os possíveis poluentes presentes na bacia que ainda não foram identificados, se destaca o fipronil, um dos inseticidas mais consumidos no Brasil, banido em diversos países e presente em corpos d'água em diversos países, inclusive no Brasil. Recentemente houve uma manifestação de preocupação com esse inseticida, ao ser incluído na legislação brasileira para monitoramento em água para consumo humano (BRASIL, 2021). Entretanto, ele ainda não é regulamentado pela legislação responsável pela qualidade da água superficial (Resolução nº 357/2005 do CONAMA), fazendo-se necessária a avaliação da presença de fipronil em um manancial responsável pelo abastecimento da 2ª maior região metropolitana do país (RJ), o rio Guandu.

2.3 Fipronil

Fipronil, é um inseticida pertencente à classe química dos fenilpirazóis (Figura 3), e possui também propriedades cupinicida e formicida (MAPA, 2021). Foi descoberto pela Rhône-Poulenc em 1987, apresentado em 1993 (GUNASEKARA *et al.*, 2007) e registrado para uso no Brasil em 1994 (BRASIL, 2020). Desde então vem sendo utilizado em diversos países

para controlar pragas agrícolas e não agrícolas (TINGLE *et al.*, 2003). Atua no controle de diversas pragas como pulgões, gafanhotos, besouros, formigas, baratas, cupins, pulgas e carrapatos, sendo comumente utilizado em setores agrícolas, pecuários, industriais e residenciais (OKUMURA *et al.*, 2016; TESTA *et al.*, 2019).

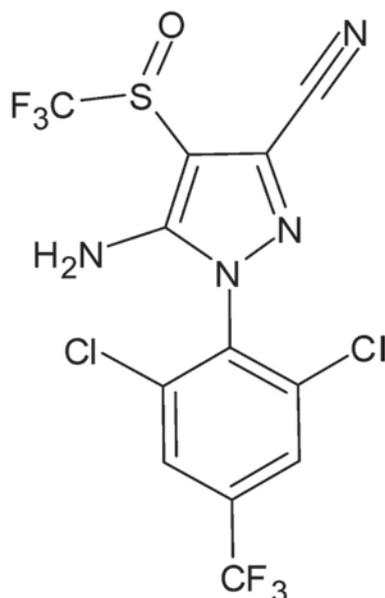


Figura 3 - Estrutura química do fipronil.

O fipronil atua no sistema nervoso central do inseto, bloqueando a passagem de cloretos através dos receptores do ácido gama amino butírico (GABA), causando hiperexcitação, convulsões, paralisia, até a morte dos insetos (SIMON-DELISO *et al.*, 2015). Sua especificidade para insetos deve-se a sua maior afinidade de ligação para os receptores GABA de insetos comparados aos dos vertebrados, o que o torna altamente eficaz contra muitas pragas que desenvolveram resistência a outros inseticidas clássicos, como piretróides, carbamatos e organofosforados (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

As formulações de fipronil são frequentemente apresentadas sob a forma de isca para insetos, líquidos, pós e grânulos solúveis em água, microgrânulos, emulsões aquosas, spray e soluções concentradas destinadas a animais de companhia e de produção (MAGALHÃES *et al.*, 2018).

O Brasil é um dos maiores produtores de cana-de-açúcar do mundo, e o fipronil é um dos principais agrotóxicos utilizados no cultivo (MOUTINHO *et al.*, 2020), sendo também utilizado em culturas de batata, milho, algodão, amendoim, arroz, cevada, feijão, girassol, eucalipto, soja e trigo (ANVISA, 2020). Em 2019, foram comercializadas no Brasil 563 mil toneladas de agrotóxicos (ingrediente ativo), sendo aproximadamente 1.934 mil toneladas de fipronil (IBAMA, 2019). De acordo com dados do MAPA, atualmente existem 74 produtos comerciais formulados com fipronil (ingrediente ativo) para venda no mercado brasileiro com uso agrícola (MAPA, 2021), para uso veterinário existem 18 produtos comerciais disponíveis para venda (SINDAN, 2021).

Em 2018, o fipronil (ingrediente ativo) foi o 7º inseticida com maior número de vendas internas no Brasil (IBAMA, 2019), podendo ser correlacionado com dados apresentados no Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA) coordenado pela ANVISA, onde há o monitoramento dos níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos de origem vegetal consumidos pela população. Dados do relatório de 2017-2018 relatam a presença de fipronil como um dos agrotóxicos detectados em culturas no qual ele não é autorizado para uso como tomate, alface, pimentão e abacaxi (ANVISA, 2019).

2.3.1 Toxicidade do fipronil

A exposição humana (exposições ambientais e ocupacionais) ao fipronil pode ocorrer por ingestão, inalação e contato dérmico. Ensaios de toxicidade demonstraram que fipronil é considerado tóxico para mamíferos por ingestão, apresentando uma DL₅₀ oral em ratos de 97mg/kg e uma DL₅₀ de 95 mg/kg em camundongos. É levemente tóxico por via dérmica para ratos, com uma DL₅₀ maior que 2000 mg/kg e 354 mg/kg em coelhos devido a sua baixa penetrabilidade dérmica (GUNASEKARA, 2007; USEPA, 1998). Pode causar leve irritação na pele e média irritação ocular que geralmente desaparece em 24 horas. É moderadamente tóxico por inalação com CL₅₀ de 0,390 a 0,682 mg/L em ratos. Sua toxicidade crônica foi avaliada a partir da administração de fipronil na dieta de ratos por 52 semanas. A menor dosagem a apresentar efeito tóxico foi de 0,059 mg/kg/dia para machos e 0,078 mg/kg/dia para fêmeas. Dentre os efeitos observados incluem aumento da incidência de convulsões e morte, alteração proteica e alterações nos níveis do hormônio tireoidiano (USEPA, 1998).

Esse amplo espectro de uso do fipronil torna a exposição ambiental e humana quase inevitável, e diversos estudos foram realizados e comprovaram sua toxicidade sobre inúmeros organismos não alvos, como a toxicidade para abelhas (PISA *et al.*, 2017, 2015), insetos terrestres benéficos (DE MORAIS *et al.*, 2016; GOLS; WALLISDEVRIES; VAN LOON, 2020; PISA *et al.*, 2017) e invertebrados aquáticos (HANO *et al.*, 2019; OVERMYER *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2020).

Recentes estudos em animais ou células sugerem que fipronil é capaz de induzir a genotoxicidade (BADGUJAR *et al.*, 2017), neurotoxicidade (QIAN *et al.*, 2019), toxicidade reprodutiva (BAE; KWON, 2020; BARROS *et al.*, 2017), disfunção tireoidiana (HERIN *et al.*, 2011), hiperatividade (KOSLOWSKI *et al.*, 2020) e dano oxidativo (WANG *et al.*, 2016) e potencial carcinogênico (USEPA, 1998).

Devido aos relatos de toxicidade para o meio ambiente e para a saúde humana, com o decorrer do tempo o fipronil tem sido restringido em diversos lugares, como na China, nos Estados Unidos, na Europa e na América do Sul (BEASLEY, 2020). Como exemplo, no Reino Unido foi banido para uso agrícola em 2017 (EUROPEAN COMMISSION, 2019), sendo permitido somente o uso veterinário e uso domissanitário, (PERKINS *et al.*, 2021). No Uruguai foi cancelado o uso agrícola, permanecendo apenas as formulações formicidas, e restringindo a concentração das formulações de uso veterinário (URUGUAI, 2012). Nos Estados Unidos, o fipronil não é registrado para uso na agricultura no estado da Califórnia (GUNASEKARA, 2007). Enquanto no Brasil, a única restrição imposta é a proibição de aplicação aérea em áreas agrícolas (BRASIL, 2012).

2.3.2 Produtos de degradação do fipronil

Fipronil não é estável no meio ambiente, podendo sofrer oxidação, redução, hidrólise e fotólise para formar fipronil sulfona, sulfeto, amida e dessulfenil, respectivamente (GUNASEKARA *et al.*, 2007). Seus principais produtos de degradação estão demonstrados na Figura 4.

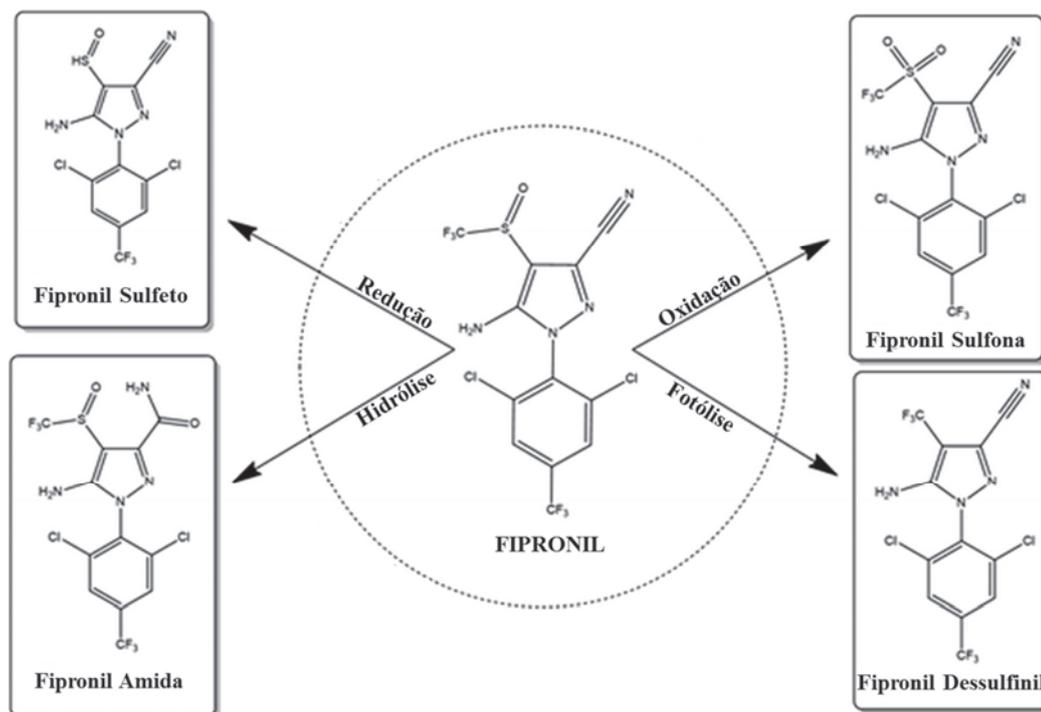


Figura 4 - Estruturas químicas do fipronil e seus produtos de degradação.

Fonte: Adaptado de RAFAELLA TOMAZINI *et al.*, (2020).

Os produtos de redução, oxidação e fotólise são formados através de reações do grupo sulfóxido do fipronil e o produto de hidrólise é gerado por reação do grupo nitrila, em meio alcalino (SINGH *et al.*, 2021).

A degradação do fipronil depende muito das condições ambientais da área de aplicação, de vários fatores, como pH, conteúdo orgânico, umidade, disponibilidade de oxigênio, intensidade da luz solar e da presença de microrganismos (SINGH *et al.*, 2021). Fipronil possui alta afinidade pela matéria orgânica natural presente na água e sedimentos, sendo mais suscetível à fotodegradação do que a hidrólise, exceto sob condições alcalinas (GUNASEKARA *et al.*, 2007). Em soluções aquosas, na presença de luz solar, o fipronil tem um tempo de meia vida ($t_{1/2}$) rápido de 3,6 h (ZHAO, 2005), e o $t_{1/2}$ dos principais metabólitos são 13 h para fipronil sulfona e quase 40 h para o fipronil dessulfenil (EFSA, 2006). A degradação do fipronil foi estudada em solução aquosa na ausência de luz e em diferentes tipos de pH, se apresentando estável com $t_{1/2}$ superior a 100 dias, em meio ácido (pH=5) ou neutro (pH=7), no entanto, em condições alcalinas possui um $t_{1/2}$ de 32 dias à 2,4 hora, sendo a taxa de hidrólise diretamente proporcional ao pH (GUNASEKARA *et al.*, 2007; ZHAO, 2005).

Fipronil dessulfenil e fipronil sulfona são um dos produtos de degradação mais comumente encontrados em ambientes aquáticos (GUNASEKARA *et al.*, 2007) enquanto fipronil dessulfenil é formado exclusivamente por processos de degradação fotolítico, fipronil

sulfona pode ser formado por processos químicos mediados ou não por microrganismos (MICHEL *et al.*, 2016).

Além disso, alguns dos derivados do fipronil (sulfona, sulfeto e dessulfínil) são mais tóxicos para vários invertebrados (SADARIA *et al.*, 2019), algumas aves, peixes (USEPA, 1996) ou ratos (USEPA, 1998) do que o próprio fipronil (WESTON; LYDY, 2014).

Os metabólitos sulfeto, sulfona e dessulfínil também atuam no receptor GABA e são biologicamente ativos, enquanto fipronil amida não tem nenhuma ação no sítio receptor GABA e não é considerado um metabólito ativo (RAVETON *et al.*, 2007).

Fipronil sulfona (Figura 5), proveniente da via oxidativa, é considerado seis vezes mais potente que o fipronil no bloqueio dos canais de cloro dos vertebrados (LACROIX *et al.*, 2010). O fipronil sulfona foi relatada como o principal metabólito formado no processo de oxidação do fipronil em água. Comparado ao fipronil, fipronil sulfona tem maior persistência ambiental (QU *et al.*, 2016) e toxicidade para organismos aquáticos do que o próprio fipronil e uma afinidade 20 vezes maior no bloqueio de receptores GABA em mamíferos, sendo menos seletivo na ligação aos receptores GABA dos insetos do que o fipronil. Um estudo realizado em água de campos de arroz indica que o fipronil é primeiramente transformado em fipronil sulfona e depois em outros produtos (THUYET; WATANABE; OK, 2013).

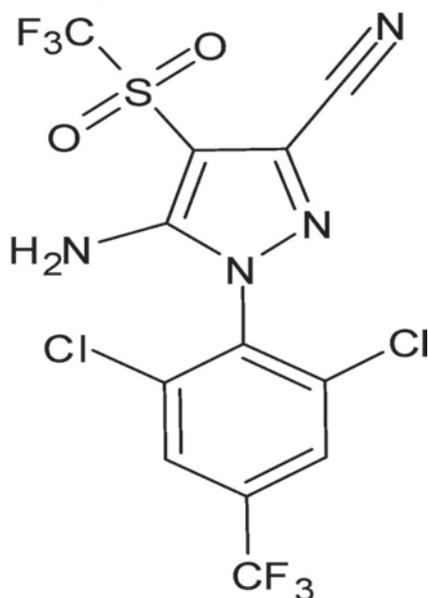


Figura 5 - Estrutura química do fipronil sulfona.

2.3.3 Propriedades físico-químicas do fipronil e fipronil sulfona

De acordo com as propriedades físico-químicas descritas na Tabela 1, o fipronil possui elevado valor de coeficiente de partição ($K_{ow}=3,7$) e de coeficiente de adsorção no solo ($K_{oc}=825$), e baixa solubilidade em água (3,8 mg/L), conferindo-lhe um caráter hidrofóbico com baixo potencial de lixiviação e forte adsorção no solo, além de uma maior lipossolubilidade, o que torna um elevado risco para os organismos devido a sua tendência lipofílica, podendo ocorrer uma bioacumulação em lipídios (DEMOLINER, 2008).

Apesar de demonstrar características hidrofóbicas, possui grupamentos capazes de realizar ligações de hidrogênio, permitindo também interações hidrofílicas (SCHEEL;

TEIXEIRA TARLEY, 2020). Fipronil apresenta uma baixa tendência de volatilização da água para o ar, valor da constante de Henry é de $2,3 \times 10^{-4}$ Pam³/mol e possui uma baixa pressão de vapor ($2,0 \times 10^{-6}$ Pa), indicando um baixo potencial para volatilização do solo para o compartimento atmosférico (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do fipronil e fipronil sulfona.

Nome IUPAC	5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluormetil)fenil]-4-(trifluormetilsulfonyl)pirazol-3-carbonitrila	5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluormetil)fenil]-4-[(trifluormetil)sulfonyl]pirazol-3-carbonitrila
Massa molecular (MM)	437,1 g/mol	453,1 g/mol
Fórmula molecular	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ O ₂ S
Solubilidade em H ₂ O	3,78 mg/L [1]	0,16 mg/L [5]
Temperatura de degradação	230° C [2]	N.E.
pKa	5,9	N.E.
Constante de Henry (Pam ³ /mol)	$2,31 \times 10^{-4}$ (25°C) [1]	N.E.
Pressão de vapor mPa (20° C)	0,002[2]	N.E.
Coefficiente de partição (log K _{ow})	3,75[1]	4,42[4]
Coefficiente de adsorção no solo (K _{oc})	803 [3]	2511 [3]

N.A. – não se aplica; N.E. – não encontrado

¹(UE, 2011);²(IUPAC, 2021);³(GUNASEKARA *et al.*, 2007); ⁴(RSC, 2021);⁵(FAO, 2001);⁶(ACD/LABs,2022).

O produto de degradação fipronil sulfona apresenta uma menor solubilidade em água (0,16 mg/L) que o fipronil. Possui um maior caráter lipofílico (K_{ow}=4,42), possuindo uma maior tendência à bioacumulação e apresenta uma maior adsorção ao solo do que o fipronil (K_{oc}=2511). A volatilização do fipronil sulfona não foi relatada na literatura, entretanto se espera que ele seja volatilizado porque sua estrutura molecular é semelhante à do fipronil.

2.3.4 Ocorrência de fipronil e seus produtos de degradação em matrizes aquáticas

A quantidade de trabalhos de monitoramento ambiental publicados nos últimos anos, retratam a crescente preocupação da contaminação de diferentes compartimentos aquáticos por fipronil. Estudos recentes relataram a presença de fipronil em águas superficiais na China (LI *et al.*, 2019), Japão (HANO *et al.*, 2019), Alemanha (MICHEL *et al.*, 2016), EUA (BUDD *et al.*, 2015; MCMAHEN *et al.*, 2016; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2015), Holanda (TENNEKES, 2018) e Vietnã (CHAU *et al.*, 2015; WAN *et al.*, 2021). Além da ocorrência de fipronil em águas superficiais, também podem ser encontrados relatos sobre sua quantificação

em águas residuais, escoamento residencial (BUDD *et al.*, 2015; CRYDER *et al.*, 2019; GAN *et al.*, 2012), lodo de esgoto (SADARIA *et al.*, 2019) e em enxágue de cães tratados com formulações tópicas (DYK *et al.*, 2012; TEERLINK; HERNANDEZ; BUDD, 2017).

No Brasil, relatos da ocorrência de vestígios de fipronil foram reportados em três regiões distintas no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul (Região Sul) em águas superficiais (MARCHESAN *et al.*, 2010), no estado de São Paulo (Região Sudeste) em águas superficiais e água potável (BARIZON *et al.*, 2020; MONTAGNER *et al.*, 2019; SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020) e no estado do Mato Grosso do Sul (região centro-oeste) em águas superficiais (SPOSITO *et al.*, 2018). As regiões brasileiras onde fipronil já foi monitorado acumulam problemas ambientais típicos de um país em desenvolvimento, relacionados com o saneamento deficiente, onde nem todas as águas residuais são devidamente tratadas antes de serem lançadas nas águas superficiais. Porém no estado do RJ, especificamente na bacia hidrográfica do Guandu, não há relatos de avaliação da presença de Fipronil.

2.3.5 Métodos analíticos para determinação de fipronil em matrizes aquáticas

A avaliação da qualidade da água depende fortemente de métodos analíticos viáveis e confiáveis. A seguir será fornecida uma revisão abrangente para resumir o progresso recente na determinação de fipronil em águas superficiais.

Para determinação de agrotóxicos em matrizes tão complexas como águas superficiais é necessário o emprego de metodologias analíticas com adequada precisão, exatidão, seletividade e sensibilidade. E apesar dos avanços da instrumentação analítica, o preparo de amostra é determinante para o sucesso do processo de análise, tendo como objetivo, além de eliminar possíveis interferentes da matriz, também concentrar os analitos, diminuindo significativamente o limite de detecção (LD) mesmo usando instrumentações analíticas convencionais como HPLC-DAD, para análises químicas (BORGES; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2015; NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020).

O preparo de amostra requer etapas de extração, pré-concentração, eliminação de interferentes para aumentar a sensibilidade e seletividade analítica, previamente à análise instrumental (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020).

A etapa do preparo de amostra deve ser otimizada visando a obtenção de resultados precisos e exatos. Além disso, a técnica de preparo deve ser rápida, de baixo custo, fácil execução e compatível com a instrumentação analítica empregada (BORGES; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2015). As técnicas recentes para quantificação de agrotóxicos em matrizes aquáticas buscam a automação por meio do acoplamento do processamento de amostra ao sistema de detecção, aplicação de sorventes avançados e técnicas com menor impacto ambiental, com a redução de solventes. Entretanto, novas técnicas de processamento de amostras não devem ser apenas ambientalmente amigáveis, devem ser caracterizadas pela simplicidade e eficiência de desempenho, baixo custo e baixo tempo de análise (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020). Dentre as técnicas mais comumente utilizadas para extração e/ou pré-concentração de compostos presentes em matrizes líquidas estão: Extração Líquido-Líquido (ELL) e Extração em Fase Sólida (SPE, *Solid-phase extraction*).

A ELL é uma técnica clássica de preparo de amostra que é muito utilizada em análises de diversos tipos de substâncias presentes em matrizes líquidas sendo capaz de obter extratos limpos e alta seletividade para alguns analitos. O mecanismo de separação se dá pela partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) e a eficiência da extração depende da afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão das fases e do número de extrações.

Esta técnica apresenta vantagens como simplicidade e possibilidade de utilização de diversos solventes que abrangem uma ampla faixa de solubilidade e seletividade. Dentre as desvantagens da técnica estão a difícil automação; possíveis perdas do analito causadas pela extração parcial, e o grande volume de solvente utilizado (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

A SPE consiste em uma técnica baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida clássica: adsorção, partição (normal e reversa), troca iônica e exclusão por tamanho. Dentre as fases sólidas disponíveis no mercado estão as fases polares como sílica gel, alumina e florissil; as apolares como octadecil (C₁₈), octil (C₈), ciclohexil, fenil e ciano; e iônicas como ácido carboxílico, ácido sulfônico, amino (NH₂) e amina quaternária, as fases especiais como as de reconhecimento molecular, as fases mistas e as fases poliméricas (LANÇAS, 2004).

A SPE apresenta vantagens quando comparada a ELL no que diz respeito a gasto de solvente, tempo e simplicidade no manuseamento, tornando possível o processamento da amostra diretamente no campo (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020). Pode ser utilizada tanto para o isolamento do analito quanto para o isolamento da matriz. Quando se deseja isolar o analito, utiliza-se fase estacionária que tenha capacidade de reter o analito que será posteriormente eluído com solvente que tenha força eluotrópica suficiente para carregá-lo. Esse tipo de operação possibilita a remoção dos interferentes (que não tem afinidade pela fase estacionária), além da concentração do analito a partir da adição de grandes volumes de amostras e eluição com volumes reduzidos de solvente (LANÇAS, 2004). SPE é atualmente um dos métodos de extração mais difundidos para o pré-tratamento de amostras ambientais (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020).

Para bons resultados em SPE é necessário trabalhar com algumas etapas essenciais. Primeiramente o condicionamento do cartucho que consiste na passagem de solvente apropriado para ativação da fase estacionária. Posteriormente, segue-se a etapa de adição da amostra que deve ser feita de forma quantitativa em fluxo lento para obtenção de bons resultados de recuperação. Em seguida, realiza-se a etapa de remoção dos interferentes também chamada de lavagem que deve ser feita com solvente que não remova o analito. E finalmente a eluição do analito que deve ser feita com solvente de maior força de eluição preferencialmente com pequenos volumes para evitar a diluição do analito (LANÇAS, 2004).

Os métodos descritos na literatura para análise de fipronil em águas superficiais (Tabela 2) utilizam mais comumente como métodos de extração a SPE em diferentes fases estacionárias (MONTAGNER *et al.*, 2014, MICHEL *et al.*, 2016, MCMAHEN *et al.*, 2016, MONTIEL-LÉON *et al.*, 2018, SPOSITO *et al.*, 2018, LI *et al.*, 2019, HANO *et al.*, 2019, WAN *et al.*, 2021). Além da SPE, a ELL também foi relatada (WU *et al.*, 2015; BUDD *et al.*, 2015), sendo utilizada em métodos que utilizam a técnica analítica de cromatografia gasosa (GC, *Gas Chromatography*).

A GC e a cromatografia líquida (LC, *Liquid Chromatography*) são as duas técnicas cromatográficas mais utilizadas na análise de fipronil e seus metabólitos em matrizes aquáticas conforme demonstrado na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 - Métodos analíticos descritos na literatura nos últimos seis anos para análise de fipronil em matrizes aquáticas.

Preparo de amostra	Técnica analítica	Detector	Matriz	Referência
ELL Secagem Cleanup SPE	GC	ECD	Água superficial	Wu <i>et al.</i> , 2015

ELL Secagem (rotaevaporador)	GC	MS	Água superficial	Budd <i>et al.</i> , 2015
SPE Secagem	GC	MS	Diferentes tipos de fontes de água para consumo humano (superficial, subterrânea, água potável, água de chuva etc.)	Chau <i>et al.</i> , 2015*
SPE Secagem N ₂	GC	MS/MS	Água superficial	Barizon <i>et al.</i> , 2019*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial Água potável	Montagner <i>et al.</i> , 2014*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial	Michel <i>et al.</i> , 2016
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Efluentes Água superficial	McMahen <i>et al.</i> , 2016
SPE <i>online</i>	LC	MS/MS	Água superficial Água encanada	Montiel-Léon <i>et al.</i> , 2018*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial	Sposito <i>et al.</i> , 2018*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial	Li <i>et al.</i> , 2019*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial	Hano <i>et al.</i> , 2019*
SDME	LC	DAD	Água da chuva, água subterrânea, água superficial e lagos artificiais	Scheel <i>et al.</i> , 2020*
SPE Secagem N ₂	LC	MS/MS	Água superficial Água potável	Wan <i>et al.</i> , 2021*

*método para análise de multiresíduos. GC – cromatografia gasosa; LC – cromatografia líquida; ELL – extração líquido-líquido; SPE – extração em fase sólida; SDME - microextração em uma única gota.

A determinação de fipronil e seus metabólitos em amostras de águas superficiais já foi descrita utilizando a técnica analítica de GC com detecção por captura de elétrons (ECD, *Electron Capture Detection*) (WU *et al.*, 2015) e por espectrometria de massas (MS, *Mass spectrometry*) (BUDD *et al.*, 2015; CHAU *et al.*, 2015). Já Barizon e colaboradores (2019) utilizaram a técnica de GC-MS/MS para determinação do fipronil e seus metabólitos em análises multiresíduos, em diferentes fontes de água usadas para consumo humano (água de

superfície, água subterrânea, água do ponto de entrada de ETA, água de superfície tratada quimicamente em residência, água de coleta de chuva e água engarrafada).

A técnica GC-ECD é utilizada na determinação de fipronil e seus metabólitos devido à presença de halogênios (F e Cl) na molécula, que causam uma supressão no fluxo de elétrons levando a formação do sinal no detector. Entretanto a técnica pode gerar resultados conflitantes em virtude da presença de outros compostos, com características químicas semelhantes ao fipronil e que podem coeluir junto com o analito, causando um resultado tendencioso na quantificação (LI *et al*, 2020). A técnica de GC-MS com ionização por elétrons (EI, *Electron Ionization*) supera essa limitação da detecção cromatográfica por ser uma técnica capaz de realizar a determinação de fipronil e seus metabólitos, pois considera os modos de varredura da espectrometria de massas (*full scan*) e o modo de monitoramento do íon selecionado - (SIM, *Select Ion Monitoring*). No modo *full scan* é possível analisar todos os íons presentes em uma amostra e no modo SIM é possível detectar apenas os íons selecionados pelo analista. A junção destes dois modos na GC-MS é importante e fundamental para auxiliar na identificação das substâncias de interesse, tornando a identificação precisa e facilitando a detecção e quantificação do (s) analito (s) na matriz de interesse (DA SILVA; COLLINS, 2011).

Recentemente tornou-se mais comum a utilização da GC-MS/MS em análise multirresíduos de agrotóxicos, por oferecer um aumento na sensibilidade e seletividade, permitindo a determinação de resíduos de agrotóxicos de diferentes classes em uma única corrida cromatográfica. A melhoria da sensibilidade e seletividade da técnica de GC-MS/MS se deve a utilização de um analisador do tipo triplo quadrupolo, onde pode ser aplicado o monitoramento seletivo de reação (SRM, *Selected Reaction Monitoring*). Nesse modo, a cada análise de compostos de interesse é feito o monitoramento da fragmentação de íons precursores selecionados no primeiro quadrupolo e seus correspondentes íons produtos (HERNÁNDEZ *et al.*, 2013).

No entanto, a seleção do método mais adequado para análise de agrotóxicos deve ser pautada não só nas propriedades físico-químicas dos compostos, mas também no objetivo do estudo, isto é, na matriz onde o analito alvo está presente. As técnicas baseadas em separações cromatográficas por GC ou LC podem ser aplicadas para análise de fipronil, devido ao analito ser volatilizável e termicamente estável podendo ser analisado por GC e por possuir características estruturais que conferem uma baixa polaridade permitindo a análise também por LC (Figura 6). Entretanto, a análise de agrotóxicos, como o fipronil, em matrizes aquosas por GC requerem um processo de preparo de amostra mais extenso e demorado devido à inadequação das amostras de água nesse sistema.

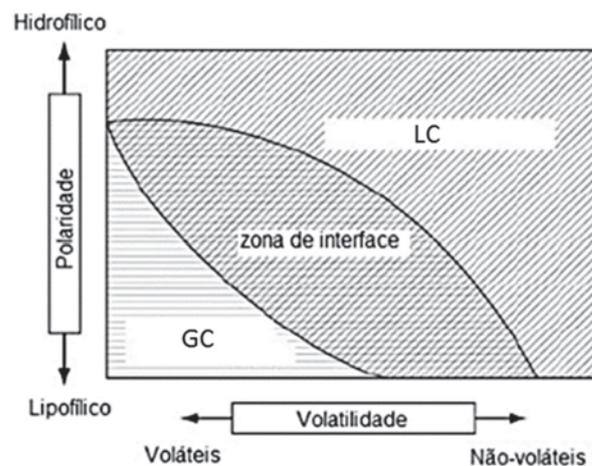


Figura 6 - Faixa de aplicação da LC e GC para determinação de agrotóxicos baseados em suas propriedades físico-químicas de polaridade e volatilidade. Fonte: Adaptado de DA SILVA; COLLINS (2011).

O emprego da técnica de HPLC-DAD para análise de fipronil e outros agrotóxicos em água da chuva, água subterrânea, água superficial e lagos artificiais foi descrita por Scheel e colaboradores (2020). Entretanto, apesar de ser uma técnica mais acessível, utilizada para análise de diferentes compostos em análises ambientais, possui uma baixa sensibilidade, quando comparada com outras técnicas como MS. Portanto, um processamento de amostra elaborado é indispensável para determinação de agrotóxicos em níveis de traço por HPLC-DAD (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020).

O avanço das técnicas de ionização à pressão atmosférica, tais como a ionização química à pressão atmosférica (APCI, *Atmospheric pressure chemical ionization*), fotoionização em pressão atmosférica (APPI, *Atmospheric pressure photoionization*) e ionização por electrospray (ESI, *Electrospray Ionization*), permitiu a união efetiva e viável de duas excelentes técnicas analíticas a LC com a MS, tornando-as um método viável para uma grande variedade de matrizes, com destaque para matrizes aquosas (PEREIRA *et al.*, 2005). A LC-MS apresenta algumas vantagens, em relação a GC-MS devido uma maior simplicidade na preparação da amostra, tempo de análise e uma menor fragmentação da molécula pois as interfaces à pressão atmosférica oferecerem uma ionização mais branda do que a EI, comumente utilizada na GC.

No entanto a LC com detecção por massas sequencial (MS/MS) é a técnica mais utilizada para determinação do fipronil e seus produtos de degradação (MCMAHEN *et al.*, 2016; MICHEL *et al.*, 2016) e para determinação de fipronil em análises multiresíduos (HANO *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2019; MONTAGNER *et al.*, 2014; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018; SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020; SPOSITO *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2021).

Análises multiresíduos em matrizes complexas como águas superficiais requerem técnicas de preparo de amostra que garantam a eliminação de possíveis interferentes da matriz que possam afetar a identificação e a quantificação, que apresentem excelentes recuperações para compostos que possuem propriedades físico-químicas diferentes e que permitam a pré-concentração dos analitos. Assim sendo, o amplo uso da técnica de SPE seguida de etapa de concentração e análise por LC-MS/MS se justificam para este tipo de análise (HANO *et al.*,

2019; LI *et al.*, 2019; MONTAGNER *et al.*, 2014; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018; SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020; SPOSITO *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2021).

Para análise somente do fipronil e fipronil sulfona, um preparo de amostra adequado aliado a metodologias analíticas mais simples, com uma menor seletividade e sensibilidade intrínseca pode ser suficiente para garantir um método analítico confiável que atenda aos critérios de aceitação dos guias de validação e que apresente vantagens como custo, rapidez e facilidade de execução para serem aplicados em análises de rotina de amostras de águas superficiais. Neste contexto, a técnica de SPE seguida de etapa de concentração e análise por LC-MS pode ser uma alternativa viável para o objetivo deste trabalho, até o momento a técnica de LC-MS não foi descrita na literatura para análise de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais.

2.4 Validação Analítica

A identificação e a quantificação de resíduos de fármacos e agrotóxicos em ambientes aquáticos têm sido cada vez mais frequentes. Dados analíticos sem confiabilidade podem levar a interpretações e decisões equivocadas. Portanto, a etapa de validação do método analítico é uma etapa importante para se obter credibilidade analítica do método selecionado, através da utilização de ferramentas estatísticas que possam garantir e comprovar que os resultados estão próximos do valor real (LEITE, 2008). De acordo com a ISO/IEC 17025 métodos desenvolvidos em laboratórios, ou seja, não padronizados, devem ser validados, para garantir a confiabilidade dos resultados.

Na literatura, há a distinção de dois tipos de validação: validação laboratorial e validação completa. A validação laboratorial é usada para as etapas iniciais de desenvolvimento de método e publicação de artigo em revistas científicas, enquanto a validação completa envolve todas as características de desempenho e estudos interlaboratoriais e segue protocolos internacionalmente reconhecidos (RIBANI *et al.*, 2004).

Diversos fatores operacionais ou potenciais causas de variação devem ser incluídos nos experimentos de validação, para prever as situações de rotina. As fontes de desvio de processo são contempladas pelos principais parâmetros de desempenho analítico: seletividade, exatidão, precisão, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação e efeito matriz (Tabela 3). Diversas organizações exigem a validação de métodos analíticos como um requisito fundamental no credenciamento do laboratório, entretanto os parâmetros avaliados podem ter diferentes terminologias e características, mas em sua maior parte, possuem o mesmo significado, porém, descrito de maneira distinta para aplicações diferentes. É importante enfatizar que alguns documentos regulamentares não recomendam critérios de aceitação para avaliação do processo de validação (ROZET *et al.*, 2007).

Tabela 3 - Definição dos parâmetros de validação.

Parâmetros	Definição
Seletividade	Capacidade do método de quantificar o analito na presença de outros compostos da matriz (INMETRO, 2018).

Efeito Matriz	Efeito gerado pela presença de interferentes na matriz, que podem causar o aumento ou redução do sinal, afetando o resultado (INMETRO, 2018).
Limite de detecção	Concentração mais baixa de um determinado analito, que pode ser considerada detectável em um determinado nível confiança (USEPA, 2016).
Limite de quantificação	Menor concentração do analito em uma amostra que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis (USEPA, 2018).
Linearidade	Capacidade de obter resultados proporcionais à concentração do analito na amostra dentro de uma faixa específica (INMETRO, 2018).
Exatidão	Avalia a proximidade entre o valor medido e um valor de referência, aceito como referência (USEPA, 2018).
Precisão	Grau de concordância entre valores medidos, obtidos por medições repetidas, sob condições especificadas (USEPA, 2018).
Robustez	É uma medida da quantidade de variabilidade que o método pode suportar sem perder confiabilidade (INMETRO, 2018).

Na área ambiental, os métodos padronizados para análise de contaminantes publicados pela USEPA, contêm diretrizes para a validação destes métodos (RIBEIRO *et al.*, 2008). A USEPA possui um protocolo que além de fornecer instruções para validação metodológica, também fornece diretrizes para a aprovação de novos métodos para analitos inorgânicos e orgânicos em águas residuais e potáveis (USEPA, 2018). No Brasil, os parâmetros de desempenho recomendados para processos de validação intralaboratorial de métodos são determinados no documento INMETRO DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2018). Entretanto o documento DOQ-CGCRE-008 do INMETRO possui caráter orientativo, não apresentando os critérios de aceitação para cada parâmetro como no guia USEPA 8000 D (USEPA, 2018).

3 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia analítica simples, seletiva e acurada, para determinação de fipronil e seu metabólito fipronil sulfona, em matrizes tão complexas como amostras de águas superficiais provenientes da bacia hidrográfica do rio Guandu, Rio de Janeiro, Brasil.

3.1 Objetivos Específicos

- Desenvolver uma metodologia analítica utilizando o procedimento de extração em fase sólida (SPE) seguida da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), para analisar fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais;
- Demonstrar a confiabilidade dos resultados obtidos através da validação da metodologia desenvolvida;
- Aplicar a metodologia desenvolvida e validada para avaliar a ocorrência de fipronil e fipronil sulfona, em duas estações climáticas do ano com diferentes índices pluviométricos (verão e outono), em municípios ao entorno da bacia hidrográfica do rio Guandu, em pontos amostrais que impactam o principal sistema produtor de água potável para o estado do RJ.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A parte experimental deste trabalho foi realizada no setor de Delineamento e Análises Farmacêuticas do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (DAFar/LQEPV), localizado no Departamento de Parasitologia Animal e na Central Analítica Multiusuário do programa de pós-graduação em Química (PPGQ) localizada no Instituto de Química, ambos localizados na UFRRJ.

4.1 Instrumentação e Solventes

- Balança analítica, modelo (Tecnal, Brasil);
- Bomba a vácuo (Tecnal, Brasil);
- Cartuchos de extração Discovery 18-LT (500 mg, 3 mL) (Supelco, EUA);
- Coluna cromatográfica Luna C-18 (100 mm x 4,6 mm D.I.), com partículas de 3 µm (Phenomenex, EUA);
- Concentrador rotativo a vácuo (Labconco, EUA);
- Condutivímetro (Ionlab, Brasil);
- Filtro de membrana PVDF (0,45 µm) (Millipore, Canadá);
- Gerador de Nitrogênio Geenius NM32LA (PEAK Scientific Instruments, EUA);
- Manifold a vácuo Visiprep SPE (Supelco, EUA);
- Potenciômetro com eletrodo de vidro (Ionlab, Brasil);
- Sistema ultrapurificador de água Master System (Gehaka, Brasil);
- Sistema LC-MS-2020 (Shimadzu, Japão);
- Termohigrômetro (Incoterm, Brasil);
- Ultrassom (Ultronique, Brasil);
- 2-propanol grau LC (Sigma-Aldrich, EUA);
- Acetonitrila grau LC-MS (Sigma-Aldrich, EUA);
- Ácido fórmico grau LC (Tedia, EUA);
- Hexano grau LC (Sigma-Aldrich, EUA);
- Metanol grau LC (Sigma-Aldrich, EUA);
- Padrão analítico Fipronil (teor 99,8%) (Sigma-Aldrich, EUA);
- Padrão analítico Fipronil Sulfona (teor 99,0%) (Sigma-Aldrich, EUA).

4.2 Metodologia Analítica

4.2.1 Seleção de amostras da matriz

Para a etapa de otimização e validação do método, utilizou-se amostras de água de superfície, coletada no ponto de amostragem do rio Guandu (22°38'27,7 "S 43°42'47,2" W) no município de Paracambi em janeiro de 2020 (verão). Essas amostras foram processadas utilizando a metodologia descrita no subitem "4.2.4. Processamento da amostra e previamente analisadas e avaliadas quanto a isenção de concentrações acima do LD (Limite de detecção) para fipronil e fipronil sulfona.

4.2.2 Preparo de soluções analíticas

As soluções estoques (SE) de fipronil e fipronil sulfona foram preparadas individualmente na concentração de 1 g/L, por meio da pesagem de 25 mg de cada padrão analítico com posterior diluição em 25 mL de acetonitrila, com concentração final de 1 g/L.

A partir das SEs de 1 g/L foram preparadas soluções de trabalho (ST) nas concentrações de 1000 µg/L (ST₁) e 500 µg/L (ST₂) para cada analito, utilizando acetonitrila como solvente. Essas STs foram utilizadas para fortificação das amostras de água superficial (branco da amostra) empregadas nos ensaios de otimização e nas etapas de validação. Todas as soluções e amostras fortificadas foram preparadas em balões volumétricos, e depois foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar com batoque e armazenadas a temperatura de -20°C.

4.2.3 Processamento da amostra de água superficial

O processamento da amostra foi realizado conforme representado na Figura 7, as amostras de água coletadas foram previamente filtradas em filtro de membrana PVDF (0,45 µm) para remoção de partículas em suspensão. A extração foi realizada em cartuchos Discovery 18-LT (500 mg, 3 mL) conectados ao manifold a vácuo Visiprep SPE. Os cartuchos foram ativados com 5 mL de metanol seguido de 5 mL de água ultrapura e após a ativação foi realizada a transferência da amostra de água de superfície

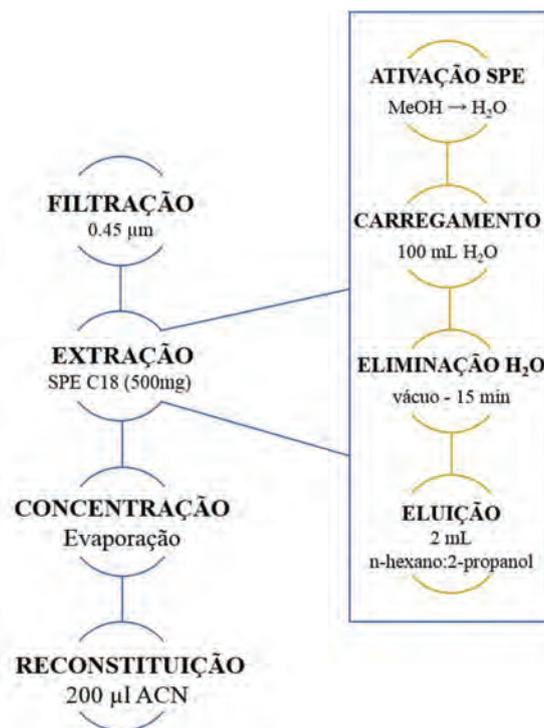


Figura 7 - Esquema de processamento das amostras de água superficial.

(100 mL) através de tubo de poliuretano com vazão de 1,5 mL/min (-35 kPa). Em seguida, os cartuchos foram submetidos a vácuo (-50 kPa) por 15 min para remover a água do leito sorvente. Na etapa de eluição foram utilizadas duas alíquotas de 1,0 mL de uma mistura de *n*-hexano:2-propanol (3:1, v/v). O eluato foi coletado em tubos de centrífuga de polipropileno e evaporado à secura em concentrador rotativo a vácuo. O resíduo foi reconstituído em 200 µL de acetonitrila e analisado por LC-MS.

4.2.4. Análises cromatográficas dos padrões e amostra por LC-ESI-MS

A técnica de LC-ESI-MS foi realizada utilizando o equipamento LCMS-2020, Shimadzu disponibilizado pela Central Analítica Multiusuário do PPGQ/IQ/UFRRJ. Sendo esse sistema (Figura 8) constituído de:

- Bomba binária (LC-20AD);
- Amostrador automático (SIL-10AF);
- Controlador de sistema LC (CBM-20A);
- Forno para coluna (CTO-20A);
- Detector PDA (SPD-M20A);
- Espectrômetro de massa LCMS-2020 com analisador de massa Quadrupolo Único;
- Software Labsolutions LC-MS.



Figura 8 - Cromatógrafo Líquido acoplado a Espectrômetro de Massas (LCMS-2020, Shimadzu).

O sistema LC-MS equipado com uma interface ESI foi operado em modo de íon negativo. Os parâmetros como fluxo de gás nebulizador (N₂): 1,5 L/min; bloco de aquecimento:

200° C; temperatura DL (linha de dessolvatação): 250° C; tensão da interface ESI (-5,0 kV) e tensão do detector: 1,1 kV, foram usados de acordo com as condições já estabelecidas pela Central Analítica Multiusuário do PPGQ/UFRRJ, portanto não sendo alterados. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa C₁₈(100 mm x 4,6 mm x 5µm, Phenomenex), a temperatura do forno de 40 °C e o volume de injeção de 20 µL.

Para otimização do método cromatográfico diferentes modos de eluição e a adição de um modificador orgânico na fase móvel foram avaliados. Para realização desta etapa foram utilizados dois tipos de amostras, ambas contendo os analitos: solução dos analitos em acetonitrila e outra em matriz, sendo fortificada após o processamento da amostra, de modo a avaliar a separação cromatográfica e intensidade do sinal com e sem os interferentes presentes na matriz. A amostra em solvente foi preparada na concentração de 100 µg/L para cada analito, a partir da ST₁, utilizando acetonitrila como solvente. A amostra de água superficial (matriz) foi fortificada após o processamento desta (item 4.2.3), utilizando a ST₁ para obtenção de concentrações de 100 µg/L para cada analito.

Foram avaliados os modos de eluição gradiente e isocrático, utilizando uma fase móvel constituída por acetonitrila, água ultrapura ou água com ácido fórmico 0,05 %, com um fluxo de 0,8 mL/min, a fim de avaliar a melhor condição de separação e a intensidade do sinal de cada analito.

4.3 Validação do Método

Após definição das melhores condições para análise e determinação de fipronil e fipronil sulfona em água superficial, foi realizada a validação do método. Esse trabalho foi validado segundo os critérios de qualidade globais de validação de ensaios de compostos orgânicos descritos no método 8000D-*Determinative chromatographic separations* (USEPA, 2018) e as orientações recomendadas no Brasil para validação de métodos analíticos do documento CGCRE-008 (INMETRO, 2018).

4.3.1 Seletividade

A seletividade foi verificada através da comparação dos cromatogramas gerados por uma amostra da matriz não fortificada e uma solução padrão com concentração de 100 µg/L de fipronil e fipronil sulfona. A seletividade do método foi assegurada pela ausência de íons de quantificação e confirmação no tempo de retenção dos analitos da matriz não fortificada.

4.3.2 Efeito matriz

Para verificação do efeito matriz, foram preparadas duas curvas analíticas distintas para cada analito, uma em solvente (solução dos analitos em acetonitrila) e outra em matriz, sendo fortificada após o processamento da amostra.

Alíquotas de 100 mL de água superficial passaram por todo o processo de extração, conforme descrito anteriormente e após a evaporação o extrato seco foi reconstituído com alíquotas de uma solução de trabalho de fipronil (500 µg/L) e com solvente acetonitrila até completar o volume de ressuspensão (0,200 mL), o mesmo processo foi efetuado para fipronil sulfona utilizando uma solução de trabalho de 500 µg/L, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4 - Esquema de fortificação das amostras processadas para avaliação.

ST fortificação	Alíquota da ST (mL)	C _{final} (µg/L)	V _{final} (mL)
500 µg/L	0,010	25	0,200
	0,020	50	
	0,040	100	
	0,060	150	
	0,100	250	
	0,120	300	

ST - Solução de trabalho; C_{final} - Concentração final; V_{final} - Volume final

A curva para cada analito na matriz foi comparada com a curva na ausência da matriz. O efeito da matriz foi confirmado pela comparação das inclinações das curvas usando o teste t, assumindo 95% nível de confiança (INMETRO, 2018).

Para realizar o teste t para verificação da igualdade das inclinações, calcula-se o t_{calc} pela fórmula abaixo e compara-se com o $t_{tabelado}$.

$$t_{calc} = \frac{|a_1 - a_2|}{ESD \sqrt{\frac{1}{S_{xx} da calib.} + \frac{1}{S_{xx} da ad.padr.}}}$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

O ESD (erro padrão) é calculado a partir do RSD de cada uma das curvas de calibração traçadas:

$$ESD = \sqrt{\frac{GL_1(RSD)^2 + GL_2(RSD)^2}{GL_1 + GL_2}}$$

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

Onde:

GL= grau de liberdade do resíduo = (n-2)

ESD = erro padrão

RSD = desvio padrão do resíduo

4.3.3 Limite de quantificação

O Limite de quantificação (LQ) foi avaliado através da análise de amostras da matriz fortificadas antes do processamento com concentrações de 50 µg/L para fipronil e 25 µg/L para fipronil sulfona. O LQ foi definido para cada analito como o nível de concentração mais baixo que pode ser quantificado com precisão (DPR < 20%) e exatidão (70-130%) (USEPA, 2018).

4.3.4 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) foi determinado estatisticamente, multiplicando o valor t - Student apropriado para o nível de confiança de 95% associado ao número de graus de liberdade (n-1) e multiplicado pelo desvio padrão das concentrações de analito quantificadas na concentração mais baixa nível (LQ). O limite de detecção do método (MDL) foi calculado pela razão do LD e o fator de concentração da amostra (500) (USEPA, 2016).

$$LD = t_{(n-1, 1-\alpha)} \times (s)$$

Onde: t = 2,447 (6 graus de liberdade (n-1) e 95% de confiança);

s = desvio padrão das 7 (sete) medidas da solução de calibração de menor concentração do analito.

4.3.5 Linearidade

A linearidade do método foi demonstrada através da construção de três curvas de calibração para cada analito em três dias distintos, e foram preparadas em amostras da matriz fortificadas antes do processamento em seis níveis de concentração (25, 50, 100, 150, 250, 300 µg/L). Previamente à obtenção da equação da curva foi avaliada a homocedasticidade dos dados através do teste de Cochran, assumindo um nível de confiança de 95% (INMETRO, 2018). A linearidade de cada gráfico de calibração foi avaliada pelo método de regressão linear de mínimos quadrados, uma vez que a homogeneidade das variâncias foi confirmada pelo teste de Cochran. A linearidade também foi avaliada por meio do teste F (F-Snedecor) na análise da variância (ANOVA) da regressão (INMETRO, 2018).

4.3.6 Precisão

A precisão do método foi determinada em um conjunto de amostras da matriz fortificadas antes do processamento em três níveis de concentração: 50 µg/L (baixo), 150 µg/L (intermediário) e 300 µg/L (alto) para fipronil e 25 µg/L (baixo), 150 µg/L (intermediário) e 300 µg/L (alto) para fipronil sulfona em dois dias (intra e inter-dia) com cinco repetições para cada nível de concentração de cada analito. A precisão do método foi avaliada pelo cálculo do desvio padrão relativo (% DPR) (USEPA, 2018).

$$DPR (\%) = \frac{\text{Desvio padrão} \times 100}{\text{Concentração média experimental}}$$

4.3.7 Exatidão

A exatidão do método foi determinada em um conjunto de amostras da matriz fortificadas antes do processamento em três níveis de concentração 50g µg/L (baixo), 150 µg/L

início do procedimento de extração não excedeu 6 horas, e o tempo total entre as coletas e todo o processamento das amostras não ultrapassou 24 horas.

No laboratório foram aferidos os seguintes parâmetros: temperatura, pH e condutividade com o auxílio de um potenciômetro com eletrodo de vidro e um condutivímetro.

O método validado segundo o subitem “4.3” foi aplicado a 16 amostras de águas superficiais coletadas em oito locais de amostragem e em duas estações climáticas (verão e outono de 2020) na bacia do rio Guandu, no estado do Rio de Janeiro. Fipronil e fipronil sulfona foram detectados quando os valores de concentração encontrados foram superiores ao de MDL, estabelecido na validação. As amostras que apresentaram concentrações superiores ao ponto de calibração mais alto da curva foram diluídas e reprocessadas.

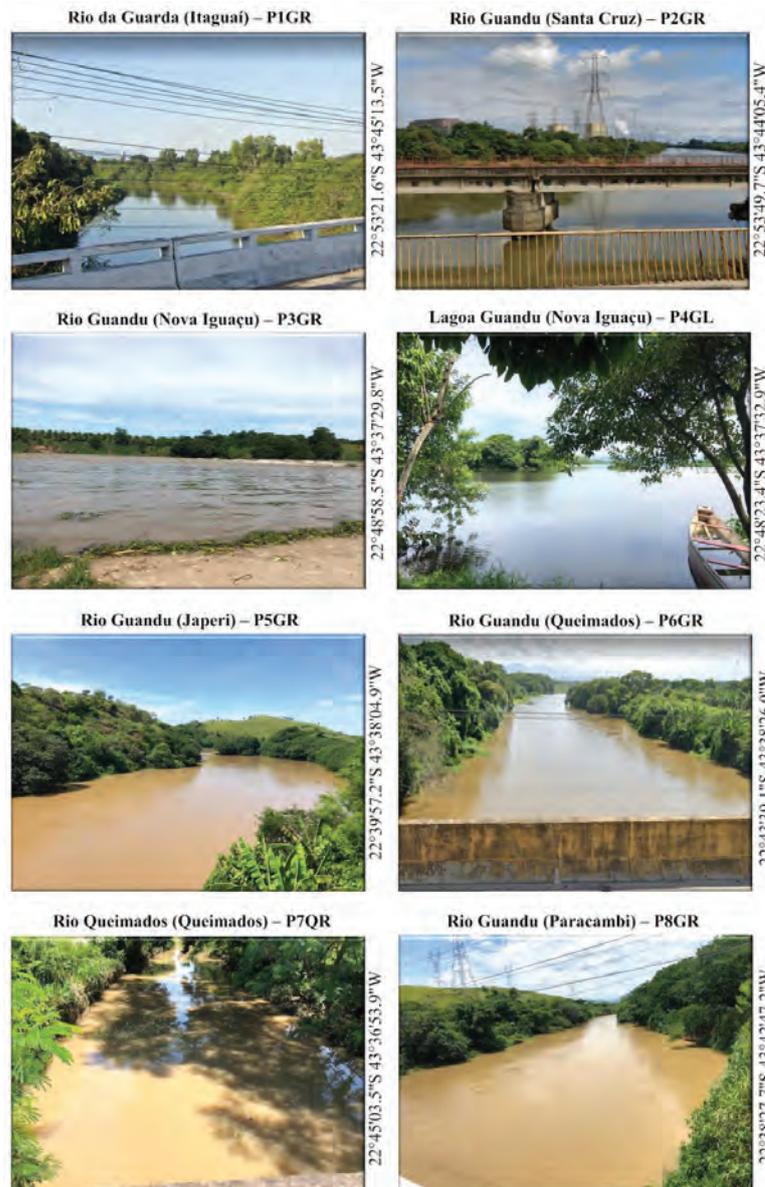


Figura 10 - Pontos de coleta com suas respectivas coordenadas ao longo da bacia hidrográfica do rio Guandu.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Processamento da Amostra de Água Superficial

Diversos trabalhos relatam a utilização da técnica de SPE para extração de fipronil em matrizes aquosas (BARIZON *et al.*, 2020; CHAU *et al.*, 2015; HANO *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2019; MCMAHEN *et al.*, 2015; MICHEL *et al.*, 2016; MONTAGNER *et al.*, 2014; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018; SPOSITO *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2021). As condições do preparo de amostras do presente estudo se basearam no método descrito por Kurz e colaboradores (2013) que descrevem a otimização do método de preparo de amostra avaliando os parâmetros de pH da amostra, volume da amostra, solvente de eluição e volume de eluição utilizando o cartucho de SPE C₁₈ (500 mg). O volume de solvente utilizado para ativação do cartucho (DE ARAUJO; BAUERFELDT; CID, 2018) e o volume de ressuspensão utilizado após a etapa de secagem do eluato (FERREIRA *et al.*, 2019) foram modificados no intuito de obter um maior fator de concentração, baseado em estudos do nosso grupo de pesquisa.

5.2 Análises Cromatográficas dos Padrões e Amostra de Água Superficial por LC-ESI-MS

Inicialmente a técnica analítica escolhida para ser empregada na determinação de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais foi a HPLC-DAD. Essa escolha foi baseada nos trabalhos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa ao qual integro, (CID, 2012; DOS SANTOS *et al.*, 2020), com a aplicação em estudos de farmacocinética. No entanto, com a mudança da matriz biológica (plasma animal) para uma matriz ambiental (água superficial), onde se planejou a determinação de fipronil e fipronil sulfona, a seletividade do método não foi alcançada com o uso da técnica de HPLC-DAD de modo a atender aos critérios de aceitação descritos pelo INMETRO e USEPA.

As condições cromatográficas (modo de eluição e adição de um modificador orgânico ácido na fase móvel) foram testadas conforme demonstrado na tabela 5, a fim de se obter adequadas resolução para a separação dos picos cromatográficos, além de melhoria na ionização do fipronil e fipronil sulfona.

Tabela 5 - Avaliação do modo de eluição e fase móvel.

Teste	Modo	Tempo (min)	Fase móvel (A:B v/v)
Teste 1	Isocrático	14	ACN:H ₂ O - 70:30
		0 - 4	A: B - 60:40
Teste 2	Gradiente	4.2	A: B - 70:30
		4.2-5	A: B - 73:27
		6	A: B - 70:30
		6-8	A: B - 70:30
		8-14	A: B - 60:40
		0	A: B - 60:40
Teste 3	Gradiente	3	A: B - 70:30
		3-11	A: B - 70:30
		14	A: B - 60:40

Fase Móvel: A- ACN; B- H₂O: HCO₂H 0,05%

Inicialmente desenvolveu-se um método de análise no modo isocrático para detecção de fipronil e fipronil sulfona por HPLC-DAD utilizando uma proporção de ACN: H₂O (70:30 v/v), (teste 1) onde foi possível obter picos simétricos, bem resolvidos e um curto tempo de análise. Entretanto, ao injetar a amostra da matriz para avaliar a seletividade do método, houve a coeluição de interferentes prejudicando a detecção de fipronil.

Gradientes de fase móvel podem ser utilizados para separar analitos de componentes interferentes da matriz, que podem causar supressão de íons. Na tentativa de resolver o problema da coeluição dos interferentes da matriz com o fipronil, dois modos de eluição do tipo gradiente foram avaliados. Inicialmente utilizou-se o teste 2 descrito na tabela 5, tendo como fase móvel Acetonitrila (A) e H₂O: ácido fórmico a 0,05% (B), porém houve uma maior retenção do fipronil e fipronil sulfona, além de causar uma maior instabilidade na linha de base do cromatograma. Partiu-se então para avaliar o teste 3, utilizando os mesmos solventes utilizado no teste 2 como fase móvel, mas em concentrações e tempos do gradiente distintos. O teste 3 apresentou um menor tempo de retenção para os analitos quando comparado ao teste 2, permitindo uma separação cromatográfica adequada para os analitos em estudo na presença da matriz. A corrida foi iniciada com uma menor força de solvente (60:40 A: B v/v) para permitir a eluição dos interferentes com maior polaridade, e depois a força do solvente foi aumentada (70:30 A: B v/v), permitindo a eluição dos analitos. Após eluição dos analitos a proporção de solventes foi retornada para a condição inicial (60:40 A: B v/v) para obtenção do equilíbrio do sistema para a próxima corrida cromatográfica (Figura 11).

A eluição por gradiente melhorou a separação entre os analitos e de outros compostos interferentes na matriz, pois foram obtidos picos mais simétricos e com melhor resolução. No entanto, uma separação completa não se faz necessário para a detecção por LC-MS, mas traz uma melhora da detectabilidade e impacta na eficiência de ionização, suprimindo ou aumentando o sinal (PETROVIĆ *et al.*, 2005).

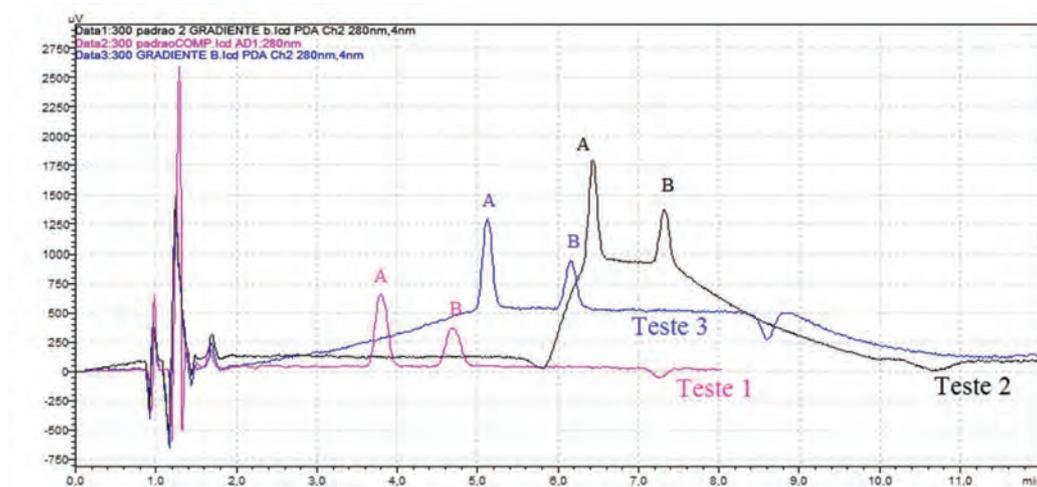


Figura 11 - Cromatograma em HPLC-DAD ($\lambda=280$ nm) de uma solução padrão de fipronil e fipronil sulfona (100 $\mu\text{g/L}$), avaliando-se três modos de eluição: teste 1 (isocrático), teste 2 e 3 (gradientes). Legenda: A (Fipronil); B (Fipronil sulfona).

A avaliação da separação cromatográfica de fipronil e fipronil sulfona foi realizada utilizando a técnica HPLC-DAD, após a definição das condições cromatográficas e a

verificação de ausência de seletividade do método para determinação de fipronil e fipronil sulfona em águas superficiais, os analitos passaram a ser monitorados somente pelo sistema LC-MS.

O tempo necessário para análise cromatográfica dos dois analitos por LC-MS foi de 7 minutos, após eluição dos analitos a fase móvel foi mantida com alta proporção de solvente orgânico até 11 minutos (70:30 A:B v/v) para limpeza da coluna eliminando componentes hidrofóbicos da matriz que poderiam permanecer na coluna, e posteriormente a concentração de solvente orgânico foi diminuída (60:40 A:B v/v) retornando à condição inicial, sendo utilizado um tempo total de 14 minutos para cada injeção de amostra. A extensão do tempo de corrida até 14 minutos foi necessária para garantir a estabilização do sistema, assim como para permitir a eluição de compostos que eventualmente poderiam ficar adsorvidos na coluna cromatográfica evitando-se a interferência nas corridas cromatográficas subsequentes.

Além da avaliação do modo de eluição, foi realizada a modificação da fase móvel com a inclusão de um modulador de fase aquosa, o ácido fórmico. A adição de ácido fórmico na fase móvel é frequentemente usada na técnica LC/ESI-MS para melhorar a separação cromatográfica e a eficiência de ionização (DA SILVA; COLLINS, 2011).

O aditivo orgânico utilizado na fase móvel, ácido fórmico, é comumente utilizado na análise de fipronil por LC-ESI-MS (CALLICOTT; HOOPER-BUI, 2019; MONTAGNER *et al.*, 2014; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2021), um aditivo que apresenta uma elevada volatilidade e não permite a cristalização de sais na interface do ESI como sais de fosfato (DEMOLINER, 2008). A concentração de ácido fórmico utilizada na fase móvel foi baseada na metodologia proposta por Lacroix e colaboradores (2010), onde fipronil e fipronil sulfona foram quantificados através da técnica LC-DAD-MS, utilizando ESI no modo negativo.

Pode ser observado no cromatograma modo *full scan* da solução padrão de fipronil e fipronil sulfona (Figura 12), a presença de picos simétricos e finos após a acidificação da fase móvel com ácido fórmico a 0,05% no modo gradiente (Figura 12-B) quando comparado com a fase móvel sem acidificação da fase aquosa (Figura 12-A), no modo isocrático.

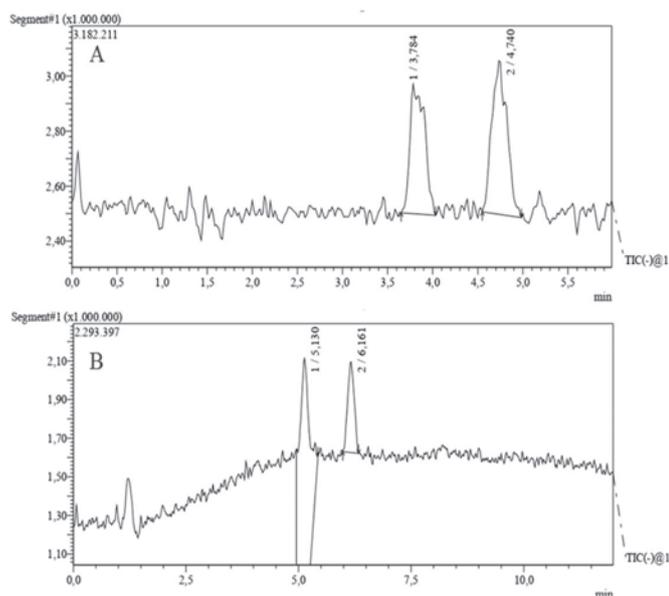


Figura 12 - Cromatograma de íons totais (TIC) da solução padrão de fipronil (1) e fipronil sulfona (2), no modo isocrático sem adição de ácido fórmico (A) e modo gradiente com adição de ácido fórmico (B).

A acidificação da fase móvel na fase aquosa (pH=3,5) permite a análise de fipronil e fipronil sulfona com predominância das espécies neutras, o que permite uma boa separação cromatográfica e uma melhor reprodutibilidade na resposta (área) de cada analito, o que não era possível obter antes da acidificação.

Adicionalmente pode ser observado que a adição de ácido fórmico à fase móvel causa uma supressão iônica quando se utiliza a ionização no modo negativo, gerando uma menor intensidade do sinal dos analitos e uma menor relação sinal/ruído, resultando em uma diminuição da sensibilidade do método (LI *et al.*, 2019). Apesar da perda em sensibilidade, o ganho em reprodutibilidade viabiliza a utilização do ácido fórmico com concentração 0,05% como modificador orgânico.

O modo negativo de ionização na fonte ESI e a escolha dos íons de monitoramento para quantificação e qualificação foram baseados nos métodos relatados na literatura (MCMAHEN *et al.*, 2016; MONTAGNER *et al.*, 2014; SPOSITO *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2019). Inicialmente a análise foi feita pelo modo *full scan*, onde foi possível se analisar todos os íons produzidos na solução gerando o cromatograma de íons totais - TIC (*Total Ion Chromatogram*) plotado em função do tempo. O modo *full scan* é bastante útil quando se deseja avaliar as espécies que estão presentes, ou seja, como ferramenta para uma determinação qualitativa, permitindo avaliar a presença dos íons de interesse. Porém, neste modo os sinais dos analitos de interesse são apresentados com um elevado ruído, isso ocorre, pois, cada ponto plotado no cromatograma possui a soma de toda a faixa de relação m/z monitorada. Sendo assim para obtenção de uma melhor relação sinal/ruído (S/R), e conseqüentemente atingir um ganho em sensibilidade e seletividade, o modo SIM foi utilizado, permitindo a seleção apenas dos íons utilizados para quantificação e qualificação do fipronil e fipronil sulfona.

O monitoramento de íons selecionados (SIM) no modo negativo foi usado para quantificação dos analitos devido a uma maior relação S/R ($\cong 50$) quando comparado com o modo *full scan* ($\cong 5$), aumentando a sensibilidade do método. Para identificação dos analitos em estudo por LC-ESI-MS, foram avaliados os tempos de retenção correspondentes em comparação com os tempos de retenção dos padrões analíticos (fipronil e fipronil sulfona), além disso observou-se através do espectro de massas a presença dos íons precursores e fragmentos para cada analito (Figuras 13 e 14). Os íons precursores 434,9 m/z $[M-H]^-$ e 450,9 m/z $[M-H]^-$ foram os picos bases para fipronil e fipronil sulfona respectivamente, sendo selecionados para as análises. Os íons 329,9 m/z e 414,9 m/z já relatados na literatura como fragmentos do íon precursor (MCMAHEN *et al.*, 2016; MONTAGNER *et al.*, 2014; SPOSITO *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2019) foram utilizados na análise qualitativa de fipronil e fipronil sulfona, respectivamente. Fipronil e fipronil sulfona apresentam espectros de massa característico com a presença de dois átomos de cloro, sendo possível visualizar a distribuição isotópica em ambos os espectros (^{35}Cl [76 %] e ^{37}Cl [24%]).

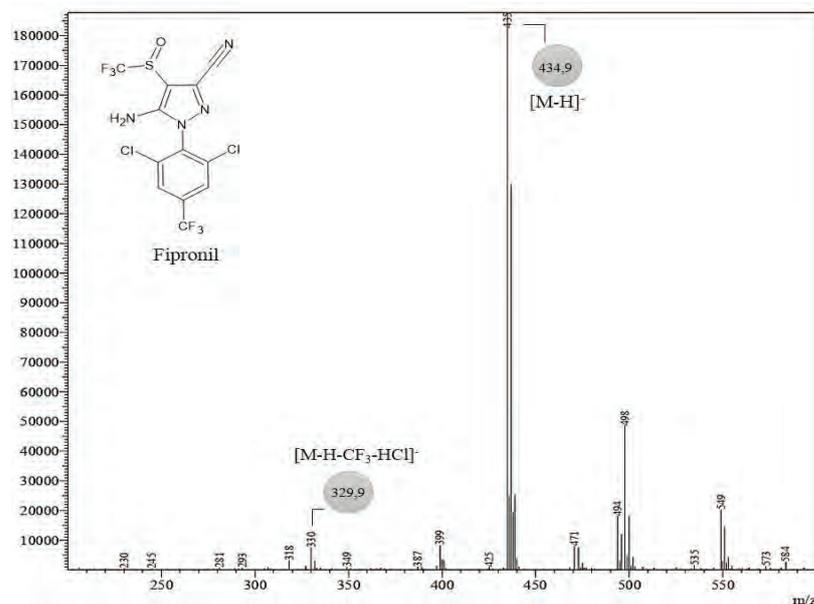


Figura 13 - Espectro massas correspondente ao pico cromatográfico de fipronil ($t_R = 5,1$ min).

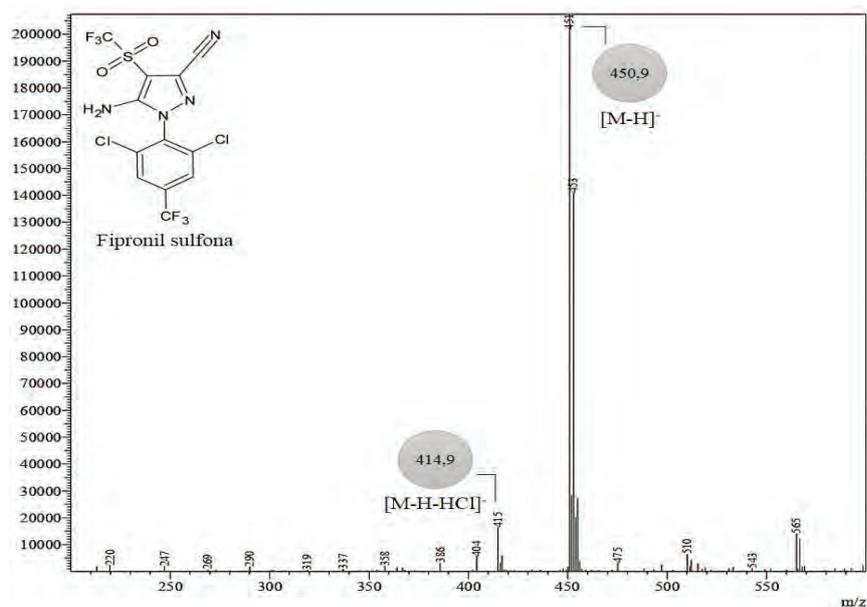


Figura 14 - Espectro de massas correspondente ao pico cromatográfico de fipronil sulfona ($t_R = 6,1$ min).

5.3 Condições Cromatográficas

Desta forma, após a avaliação das condições cromatográficas do método, as melhores condições obtidas foram uma fase móvel constituída por A (acetonitrila) e B (água com ácido fórmico 0,05 %) usando o seguinte gradiente de eluição: A: B 60:40 a 70:30 (0–3 min); A: B

70:30 (3–11 min); A: B 70:30 a 60:40 (11–14 min), em um fluxo de 0,8 mL/min, um volume de injeção de 20 μ L, com uma temperatura do compartimento de coluna a 40° C, resultando em um tempo total de corrida de 14 min.

5.4 Validação do Método

5.4.1 Seletividade

Para avaliação da seletividade, assim como dos demais parâmetros de validação, foi usada uma amostra da matriz, porém não fortificada. Foram comparados os cromatogramas da solução de fipronil e fipronil sulfona em acetonitrila (Figura 15) com o cromatograma da amostra processada (matriz) (Figura 16). A análise comparativa dessas amostras permitiu demonstrar que o método é seletivo, devido à ausência de picos interferentes nos tempos de retenções definidos após análise dos padrões, e dentro das janelas de retenção de cada analito não há a presença dos seus respectivos íons precursores (434,90 m/z – fipronil e 450,90 m/z – fipronil sulfona).

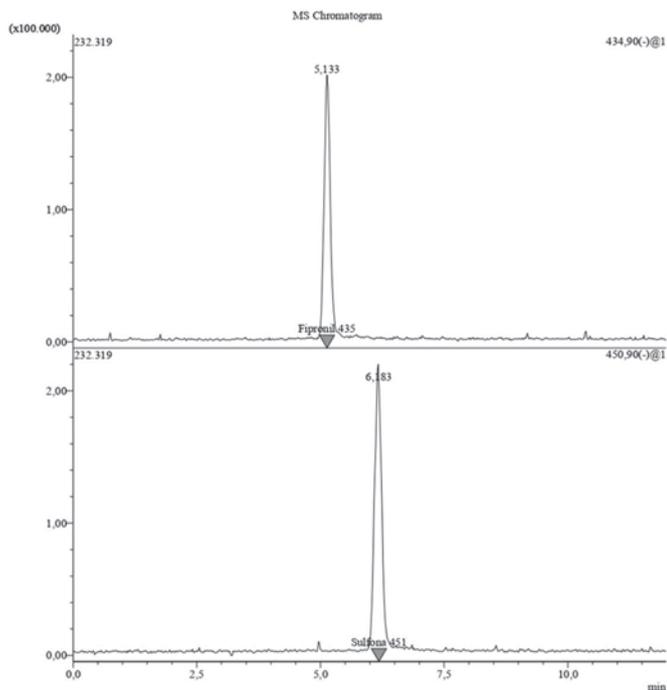


Figura 15 - Cromatograma no modo SIM da solução de fipronil e fipronil sulfona em solvente.

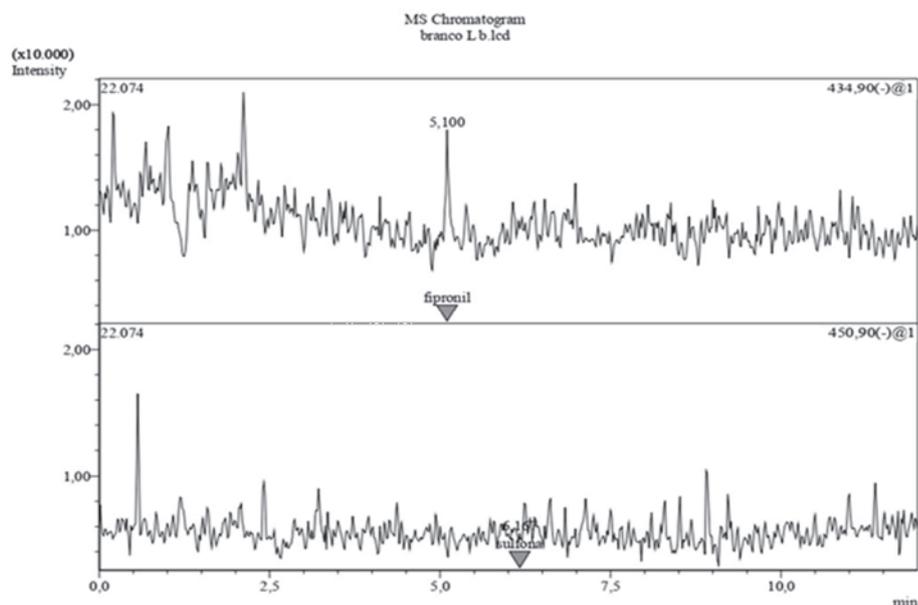


Figura 16 - Cromatograma no modo SIM da amostra processada sem fortificação.

5.4.2 Efeito matriz

A avaliação e comprovação do efeito matriz foi realizada através da comparação das inclinações pelo teste t. A fim de analisar o efeito da matriz após procedimento de extração foi realizado o teste t, comparando as curvas obtidas para os analitos apenas no solvente puro e na matriz fortificada após extração. A Tabela 6 mostra os resultados obtidos para os testes t pareado.

Tabela 6 - Equações da reta das curvas analíticas em matriz e em solvente de fipronil e fipronil sulfona e valores de $t_{\text{calculado}}$ e t_{tabelado} .

Analito	Equação da reta em	Equação da reta em	$t_{\text{calculado}}$	t_{tabelado}
Fipronil	$5,93 \cdot 10^3x + 4,87 \cdot 10^5$	$4,98 \cdot 10^3x + 6,12 \cdot 10^5$	1,01	2,12
Fipronil sulfona	$1,77 \cdot 10^4x + 2,43 \cdot 10^5$	$1,69 \cdot 10^4x + 3,93 \cdot 10^5$	0,547	2,09

Os resultados obtidos foram que o $t_{\text{calculado}}$ tanto para o fipronil (1,01) quanto para o fipronil sulfona (0,547) apresentaram valores inferiores ao t_{tabelado} (2,12; 2,09). O teste t_{student} comprovou estatisticamente que não houve efeito matriz, ou seja, não há diferença entre os coeficientes angulares da equação da reta em matriz e em solvente (sem matriz), tanto para o fipronil como para fipronil sulfona (Figuras 17 e 18).

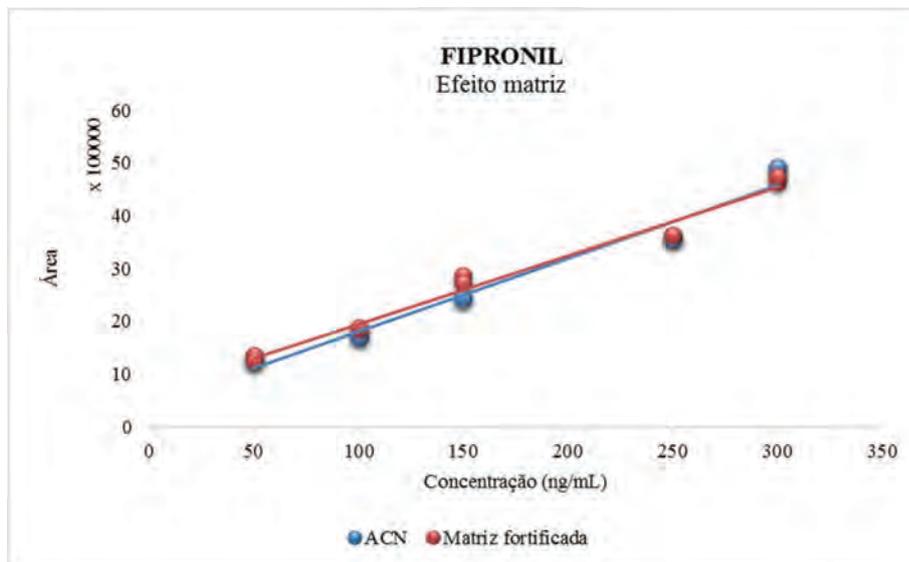


Figura 17 - Estudo do efeito matriz na quantificação de fipronil em água superficial.

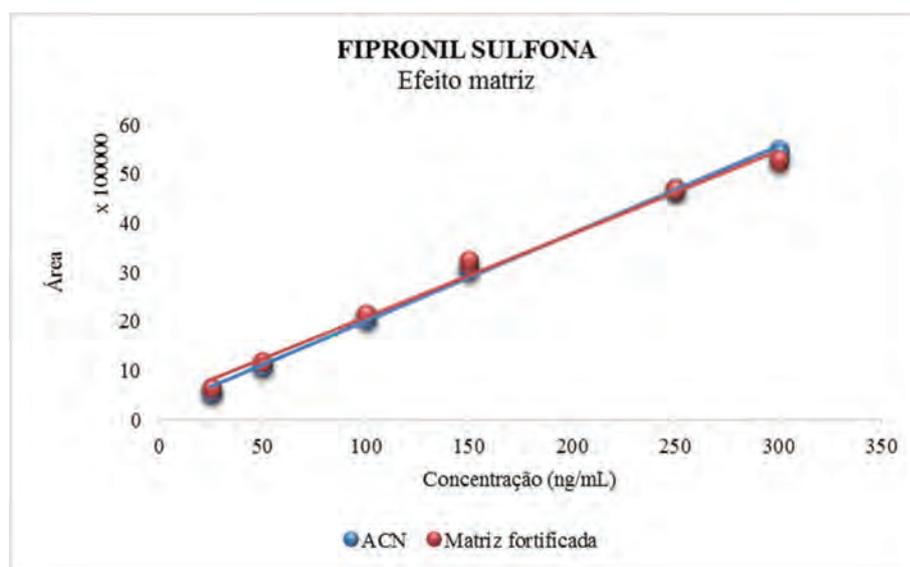


Figura 18 - Estudo do efeito matriz na quantificação de fipronil sulfona em água superficial.

5.4.3 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção calculado foi de 12,3 µg/L ($LD = 2,447 \times S$) e 7,05 µg/L ($LD = 2,447 \times S$) para fipronil e fipronil sulfona, respectivamente. O valor 2,447 corresponde o t unilateral para 95% de confiança para 6 graus de liberdade.

Os valores de limite de quantificação correspondem à menor concentração das curvas de calibração (50 µg/L para fipronil e 25 µg/L para fipronil sulfona) que puderam ser medidos com exatidão e precisão aceitáveis (DPR < 20%; exatidão entre 70 e 130%) (USEPA, 2018b).

O limite de detecção do método (MDL) (0,025 µg/L – fipronil e 0,0141 µg/L – fipronil sulfona) e o MQL (0,10 µg/L - fipronil e 0,050 µg/L – fipronil sulfona) foram obtidos pela aplicação do fator de concentração do preparo de amostra (500).

Os valores de MDL aqui encontrados foram comparados com valores apresentados em outros trabalhos da literatura, em que fipronil e fipronil sulfona foram avaliados em matrizes aquáticas ambientais e que são listados na tabela 7.

Tabela 7 - Limites de detecção de métodos analíticos descritos na literatura para análise de fipronil e fipronil sulfona em matrizes aquáticas

Vol. de amostra (mL)	Preparo de amostra	Técnica analítica	Detector	MDL	Referência
1000	SPE	LC	MS/MS	0,01 ng/L FIP e FIP-S	Wan <i>et al.</i> , 2021*
2000	SPE	LC	MS/MS	0,02 ng/L FIP e FIP-S	Li <i>et al.</i> , 2019*
200	SPE	LC	MS/MS	0,04 ng/L – FIP 0,02 ng/L – FIP-S	Michel <i>et al.</i> , 2016
1000	SPE	LC	MS/MS	0,2 ng/L - FIP	Montagner <i>et al.</i> , 2014*
1000	ELL	GC	ECD	0,31 ng/L - FIP 0,29 – FIP-S	Wu <i>et al.</i> , 2015
2	SPE <i>online</i>	LC	MS/MS	0,5 ng/L – FIP	Montiel-Léon <i>et al.</i> , 2018*
500	SPE	LC	MS/MS	2,5 ng/L FIP e FIP-S	McMahen <i>et al.</i> , 2016
500	SPE	GC	MS	0,0051 µg/L – FIP	Chau <i>et al.</i> , 2015*
1000	SPE	LC	MS/MS	9,2 ng/L – FIP	Sposito <i>et al.</i> , 2018*
10	SDME	HPLC	DAD	0,34 µg/L	Scheel <i>et al.</i> , 2020*
250	SPE	GC	MS/MS	0,4 µg/L – FIP	Barizon <i>et al.</i> , 2019*
250	SPE	LC	MS/MS	0,5 µg/L FIP e FIP-S	Hano <i>et al.</i> , 2019*

*método para análise de multiresíduos. GC – Cromatografia Gasosa; LC – Cromatografia Líquida; ELL – Extração Líquido-Líquido; SPE – Extração em Fase Sólida; FIP – Fipronil; FIP-S – Fipronil sulfona; NI – Não informado; SDME - Microextração em Uma Única Gota.

Em uma análise comparativa, é possível observar que nos trabalhos de Barizon e colaboradores (2019) e Hano e colaboradores (2019), utilizando volumes de amostra superiores (2,5 vezes maior), com a mesma técnica de extração do presente trabalho (SPE) e com um detector superior (MS/MS), foi encontrado um MDL de 16 a 20 vezes maior que os encontrados neste trabalho. No trabalho de Scheel e colaboradores (2020), utilizando um volume de amostra menor (10 mL), com uma técnica de extração distinta (SDME - Microextração em uma única

gota) e um detector menos sensível (DAD), foi encontrado um MDL para fipronil 12 vezes maior que o encontrado neste trabalho.

Entretanto, os limites de detecção encontrados no presente trabalho foram superiores aos relatados na maioria dos trabalhos descritos na literatura. Isso pode ser atribuído ao fato desses trabalhos utilizarem volumes de amostra superiores (200-2000 mL) e um detector com maior sensibilidade e seletividade (MS/MS) (LI *et al.*, 2019; MCMAHEN *et al.*, 2016; MICHEL *et al.*, 2016; MONTAGNER *et al.*, 2014; SPOSITO *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2021). Wu e colaboradores (2015) também descrevem MDL mais baixo, porém utilizando uma técnica de extração mais laboriosa (ELL) e detecção com ECD, um detector específico para análise de compostos halogenados como fipronil e fipronil sulfona, os quais foram avaliados. Montiel-Léon e colaboradores (2018) utilizaram um volume de amostra menor (2 mL), entretanto, utilizou um processamento de amostra com injeção direta no sistema cromatográfico (SPE *online*) e a técnica analítica utilizada foi LC-MS/MS. Por último, Chau e colaboradores (2015) utilizaram o mesmo sistema de detecção do trabalho (MS), porém, acoplado a um GC, com utilização de um volume maior (500mL) que o utilizado no presente trabalho.

Considerando todos os valores de MDL da tabela 7, observa-se que o desempenho apresentado pelo método SPE-LC-MS é superior aos dos dois últimos trabalhos reportados na literatura científica (BARIZON *et al.*, 2019; SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020) para análise de fipronil em matrizes aquáticas brasileiras.

Na elaboração de um método analítico para análises de resíduos de agrotóxicos e/ou produtos de degradação em matrizes aquáticas é importante que o MQL apresente uma inferioridade aos valores máximos permitidos (VMP) desses compostos descritos nas legislações vigentes. No Brasil a legislação vigente que estabelece os VMP de agrotóxicos em água superficial é a Resolução n° 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005), porém essa resolução não estabelece os VMP para fipronil e fipronil sulfona. Entretanto o MQL de ambos os analitos são inferiores aos valores de dose aguda de referência para invertebrados aquáticos (0,11 µg/L - fipronil; 14,5 µg/L – fipronil sulfona) e para peixes (41,5 µg/L - fipronil; 12,5 µg/L – fipronil sulfona) definidos pela USEPA (USEPA, 2017), sendo possível a avaliação do risco ambiental quanto a presença de fipronil e fipronil sulfona nessa bacia.

Pensando na avaliação do risco a saúde humana quanto a presença de fipronil na água potável, recentemente, foi publicada a revisão do anexo XX (BRASIL, 2021) da Portaria de consolidação n° 5/2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017) que estabelece o padrão de potabilidade da água para consumo humano. Nesta revisão o fipronil foi inserido na lista de substâncias que apresentam risco à saúde, com VMP de 1,2 µg/L desde a fonte (água do manancial fonte do abastecimento) até a torneira (água após tratamento na ETA).

Contudo o MDL e o MQL de fipronil e fipronil sulfona obtidos podem ser considerados satisfatórios para o tipo de matriz avaliada e o tipo de método analítico empregado neste trabalho.

5.4.4 Linearidade

As curvas analíticas foram preparadas e analisadas em três dias diferentes, em cinco níveis de concentração para o fipronil e seis para fipronil sulfona, seguindo a recomendação de no mínimo cinco concentrações diferentes. Antes da aplicação do método dos mínimos quadrados para obtenção das curvas, foi realizado o Teste de Cochran para verificar se a distribuição é homocedástica ou heterocedástica. Este teste é realizado para avaliar se o método de regressão linear simples (método dos mínimos quadrados) pode ser aplicado (INMETRO, 2018).

Observou-se que o $C_{\text{calculado}}$ (0,526) para fipronil $C_{\text{calculado}}$ (0,288) para fipronil sulfona foram menores que o valor de C_{tabelado} (0,684, 0,616) para os níveis de concentração da curva analítica preparada na matriz fortificada com fipronil e fipronil sulfona, respectivamente, com nível de confiança de 95 %. As faixas de trabalho para ambos analitos apresentaram comportamento homocedástico, e foi aplicado o método de regressão linear simples, obtendo-se a equação de reta (SCHEEL; TEIXEIRA TARLEY, 2020).

Em seguida, foram determinados a equação da regressão linear e o coeficiente de determinação (R^2) para fipronil e fipronil sulfona, os quais apresentaram valores dentro do limite estabelecido pelo USEPA que orienta valor maior ou igual que 0,99 (Tabela 8). Todos os pontos das curvas avaliadas demonstraram valores de precisão e exatidão adequados (DPR <20%; exatidão entre 70 e 130%).

Tabela 8 - Resultados da linearidade do método para fipronil e fipronil sulfona

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g/L}$)	Equação de regressão linear	R^2
Fipronil	50-300	$y=5,48.10^3 x + 7,70.10^5$	0,987
Fipronil sulfona	25-300	$y=1,31.10^4 x + 2,19.10^5$	0,992

5.4.5 Precisão e exatidão

Os resultados para a precisão intra-dia e inter-dia foram entre 0,315% e 18,4% para fipronil e fipronil sulfona. Em relação à exatidão (intra-dia e inter-dia), os resultados ficaram entre 70,8 e 111 % para fipronil e fipronil sulfona (Tabela 9). Esses resultados foram satisfatórios, ou seja, dentro dos valores recomendados (DPR <20%; exatidão entre 70-130%) (USEPA, 2018).

Tabela 9 - Resultados de precisão e exatidão do método para o fipronil e fipronil sulfona.

	$\mu\text{g/L}$	Precisão		Exatidão	
		Intra-dia (DPR %)	Inter-dia (DPR %)	Intra-dia (%)	Inter-dia (%)
Fipronil	50	4,12	3,62	78,4	77,5
	150	1,20	2,28	111	108
	300	1,09	0,77	101	101
Fipronil sulfona	25	13,2	18,4	70,8	78,1
	150	4,08	4,34	98,4	100
	300	0,315	0,683	97,3	96,9

5.5 Aplicação do Método Validado para Análise em Amostras de Água Superficial

5.5.1 Avaliação da qualidade da água através de parâmetros físico-químicos

Todas as amostras de água coletadas no período do verão apresentavam aspecto turvo de cor amarelada (Figura 19) antes da filtração, provavelmente causado pela turbulência da água no período de chuvas que aumenta a presença de materiais particulados. Com exceção da

amostra coletada antes da ETA (Lagoa Guandu), onde a coleta foi realizada no momento da crise no abastecimento de água no estado do Rio de Janeiro (BACHA *et al.*, 2021; SOTERO-MARTINS *et al.*, 2021) e da amostra do rio queimados (Distrito Industrial de Queimados), onde ocorre o despejo contínuo de esgoto industrial. Essas amostras permaneceram com coloração amarelada após o processo de filtração.

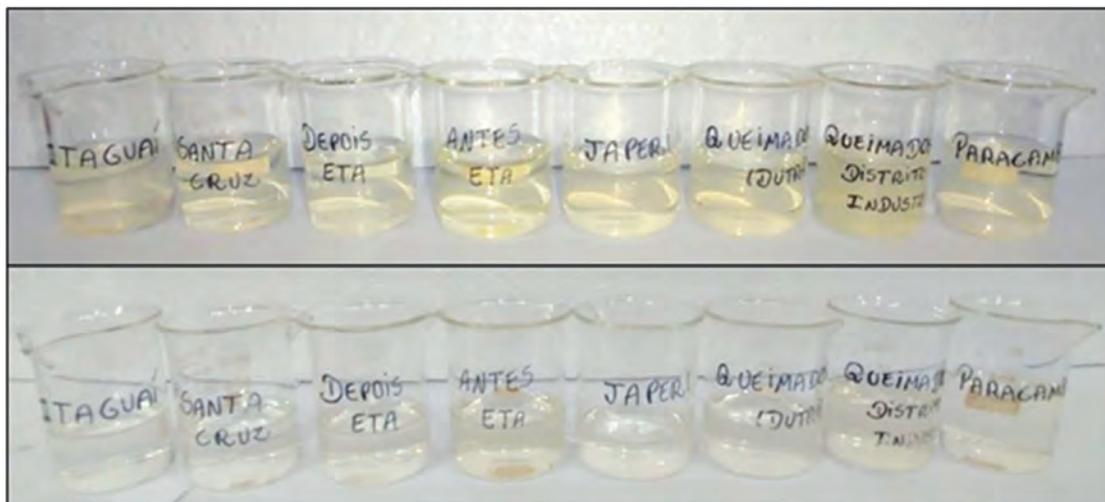


Figura 19 - Aspecto das amostras antes e após filtração (0,45 μ m), coletadas no período do Verão.

As amostras de água coletadas no período do outono apresentavam um aspecto límpido (Figura 20) antes da filtração, exceto a amostra coletada no rio Queimados (Distrito Industrial de Queimados).



Figura 20 - Aspecto das amostras antes da filtração (0,45 μ m) coletadas no período do Verão.

As análises de determinação do pH atenderam ao padrão de qualidade (6,0 - 9,0) definido pela Resolução n° 357/2005 do CONAMA de águas doces classe II (CONAMA, 2005) em todos os pontos de coleta, nas duas estações avaliadas. Os valores encontrados de pH no

verão e no outono no outono (6,25 - 7,13) apresentam valores próximos da neutralidade, com exceção dos pontos amostrais P5GR, P6GR e P8GR que apresentaram valores de pH mais altos (8,22 - 8,79) (Tabela 10).

Os resultados de condutividade apresentaram uma faixa entre 8,25 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 27,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no verão e entre 6,69 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 56,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no outono (Tabela 10). Os pontos de coleta P1GR e P7QR apresentaram os maiores valores de condutividade no verão (27,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 27,4 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e no outono (32,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 56,6 $\mu\text{S}/\text{cm}$). A faixa de aceitação de condutividade não é contemplada na resolução do CONAMA, 2005, entretanto nenhuma amostra avaliada apresentou condutividade acima de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$, condutividade descrita para águas contaminadas com efluente (BRASIL, 2006).

Tabela 10 - Localização de amostragem e parâmetros físico-químicos.

Código	Local de amostragem	Estação	pH	Condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
P1GR	Rio da Guarda (Itaguaí)	Verão	6,31	27,8	28,6
		Outono	6,99	32,5	24,2
P2GR	Rio Guandu (Rio de Janeiro)	Verão	6,53	9,2	30,6
		Outono	6,25	6,69	24,6
P3GR	Rio Guandu (Nova Iguaçu)	Verão	6,66	8,70	29,8
		Outono	6,89	9,96	24,7
P4GL	Lagoa Guandu (Nova Iguaçu)	Verão	6,39	18,8	29,8
		Outono	7,13	7,83	25,1
P5GR	Rio Guandu (Japeri)	Verão	6,53	8,38	34,0
		Outono	8,22	8,46	29,9
P6GR	Rio Guandu (Queimados)	Verão	6,52	8,82	33,9
		Outono	8,30	10,3	26,5
P7QR	Rio Queimados (Queimados)	Verão	6,35	27,4	37,1
		Outono	7,05	56,6	26,5
P8GR	Rio Guandu (Paracambi)	Verão	6,70	8,25	38,0
		Outono	8,79	8,69	29,9

Através dos resultados do monitoramento dos corpos de água doce da RH II realizado pelo INEA no ano de 2020, os pontos de amostragem de qualidade do rio da Guarda e do rio Queimados, no qual coincidem com os pontos P1GR e P7QR do presente estudo tiveram um IQA de 27,7 e 20,2 de forma respectiva classificando esses pontos com uma qualidade ruim ($50 > \text{IQA} \geq 25$), sendo águas impróprias para tratamento convencional visando abastecimento público, sendo necessários tratamentos mais avançados (INEA, 2021). O ponto P1GR que corresponde ao rio da Guarda, é um ponto importante pois possui um destaque maior sobre a ocupação antrópica ao seu entorno, sendo majoritariamente agrícola, além de receber efluentes domésticos do município de Itaguaí e efluentes industriais do Distrito Industrial de Santa Cruz, entretanto suas águas desembocam na Baía de Sepetiba, diferente do que ocorre no ponto P7QR,

o rio Queimados que deságua na lagoa do Guandu, uma lagoa formada por uma das barragens da CEDAE, ficando próximo a captação de água para ETA Guandu e influenciando de forma direta o abastecimento público (INEA, 2021).

Cabe ressaltar que no início de 2020, ano de realização do estudo, a população da Região Metropolitana do Rio de Janeiro foi atingida com uma crise no abastecimento de água, com alterações notórias em seu odor, sabor, turbidez e coloração. Sendo essas alterações ocasionadas devido à proliferação de algas e da substância geosmina, um biomarcador produzido por algas verde azuladas (cianobactérias) em ambientes aquáticos, indicando a contaminação da água de consumo humano e mostrando a ineficiência do sistema de tratamento oferecido pela ETA Guandu (CEDAE) (KLIGERMAN; SANCANARI; NOGUEIRA, 2021).

5.5.2 Avaliação da presença de fipronil e fipronil sulfona na bacia do rio Guandu

O fipronil foi quantificado em 75% (n=12) dos pontos amostrais, tanto na época seca quanto na época chuvosa. Na estação do outono, com chuvas escassas, fipronil foi detectado e quantificado em todos os pontos de amostragem (n=8). Contudo, no verão, em um período chuvoso, fipronil foi detectado e quantificado em 50% dos pontos de amostragem (n=4). A frequência de detecção e quantificação de fipronil e fipronil sulfona em ambos os períodos de amostragem (verão e outono), são mostradas na Tabela 11.

Já o fipronil sulfona foi detectado em 62,5% dos pontos amostrais em ambas as estações (verão e outono). No entanto, a frequência de quantificação em ambos os períodos de amostragem foi baixa, sendo possível quantificar em apenas um ponto de amostragem no verão e em nenhum ponto no outono.

Tabela 11 - Resumo das concentrações de fipronil e sulfona de fipronil detectadas em águas superficiais.

	MDL (µg/L)	Estação	Frequência (%)		Concentração (µg/L)		
			Detecção	Quantificação	Mín.	Máx.	Média
Fipronil	0,025	Verão	50,0	50,0	0,132	1,19	0,551
		Outono	100	100	0,252	2,44	1,38
Fipronil sulfona	0,014	Verão	62,5	12,5	< 0,050	0,135	NA
		Outono	62,5	0,0	ND	< 0,050	NA

*MDL – Limite de detecção do método

**Mín – Mínima

***Máx - Máxima

O fipronil foi o principal analito encontrado nas amostras avaliadas, estando presente em 12 das 16 amostras analisadas, com concentrações variando de 0,132–2,44 µg/L. O fipronil sulfona esteve presente em 10 das 16 amostras analisadas, sendo possível quantificar apenas em uma amostra (0,135 µg/L), enquanto no restante das amostras as concentrações foram inferiores a 0,10 µg/L (MQL) (Tabela 12). As maiores concentrações de fipronil foram determinadas em amostras coletadas no período de outono, variando de 0,252 - 2,44 µg/L.

Tabela 12 - Concentrações de fipronil e fipronil sulfona ($\mu\text{g/L}$) em oito locais de monitoramento de rios amostrados no outono e verão de 2020, no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

	Fipronil ($\mu\text{g/L}$)		Fipronil sulfona ($\mu\text{g/L}$)	
	Verão	Outono	Verão	Outono
P1GR	1,19	2,44	0,135	< 0,050
P2GR	ND	1,24	< 0,050	< 0,050
P3GR	ND	0,252	< 0,050	< 0,050
P4GL	ND	2,41	ND	< 0,050
P5GR	0,408	0,343	< 0,050	ND
P6GR	0,132	1,79	ND	ND
P7QR	0,480	1,78	< 0,050	ND
P8GR	ND	0,820	ND	< 0,050
MDL*		0,025		0,014
MQL**		0,10		0,050

*MDL - Limite de detecção do método; **MQL - Limite de quantificação do método; ***ND - Não detectável (<MDL)

O ponto P1GR apresentou as maiores concentrações de fipronil (2,44 $\mu\text{g/L}$) seguido do ponto P4GL (2,41 $\mu\text{g/L}$). O P4GL se destaca por ser o ponto de captação de água da ETA Guandu (CEDAE). A alta concentração de fipronil encontrada pode ser explicada pelo fato de ser um ponto que recebe a drenagem de rios impactados negativamente pelo lançamento de esgoto agrícola, doméstico e industrial, como os rios Poços, Ipiranga e Queimados (BIANCO *et al.*, 2020), além de apresentar baixa velocidade de troca de água, favorecendo o acúmulo de poluentes.

A concentração de agrotóxicos nos recursos hídricos depende de suas propriedades físico-químicas (solubilidade em água, meia vida, coeficiente de partição e coeficiente de adsorção no solo). Outros fatores que podem interferir na presença desses compostos em água são a época do ano, padrões de chuvas, as culturas cultivadas na bacia e o controle de pragas (CETESB, 2020).

Fipronil apresenta uma baixa solubilidade em água (3,78 mg/L), porém os valores de concentrações reportados são inferiores a esse valor, a baixa solubilidade em água também representa uma baixa tendência do composto a ser removido do solo. Além disso, apresenta um alto valor de coeficiente de adsorção ao solo ($K_{oc}=825$), reforçando sua baixa mobilidade ao solo, portanto as concentrações encontradas podem ser referentes a um lançamento direto de fipronil nesse sistema aquático.

O fipronil possui estabilidade em água sob condições aeróbicas, apresentando um tempo $t_{1/2}=14,5$ dias na água sob condições aeróbicas (CONNELLY, 2001). Através de ensaios laboratoriais foi comprovada uma persistência de até 40 dias em todos os três valores de pH estudados (5,7 e 9), no entanto a persistência foi maior sob condições ácidas (VERMA *et al.*, 2020).

A degradação de fipronil ocorre rapidamente na água ($t_{1/2}=3,6$ h) quando é exposto à luz solar (ZHAO, 2005), entretanto as amostras foram coletadas abaixo da superfície onde não há incidência da luz, não ocorrendo o favorecimento desse processo. A faixa de pH dos pontos amostrais (6,25-8,79), também não favorece o processo de hidrólise que aumenta à medida que o meio se torna alcalino em $\text{pH} \geq 9$ (GUNASEKARA *et al.*, 2007).

Os valores de concentração reportados para fipronil podem não indicar a concentração real nesse sistema aquático podendo também estar presente em organismos aquáticos, uma vez que substâncias com K_{ow} maior que 3 apresentam tendência bioacumulativa (REBELO; DUTRA CALDAS, 2014), e fipronil apresenta um K_{ow} igual a 3,75. Além da presença em sedimentos do meio aquático devido ao alto valor de coeficiente de adsorção ao solo ($K_{oc}=825$).

Períodos chuvosos ou com escassez de chuvas influenciam a concentração de agrotóxicos nas águas superficiais, isso significa que os contaminantes podem ter padrões de ocorrência sazonais ou não (GRIPP *et al.*, 2016). Através do perfil de concentrações do fipronil em dois períodos com índices pluviométricos distintos, pode se inferir que a contaminação de fipronil é proveniente de fontes pontuais, sendo o aporte desse contaminante no corpo hídrico tão elevado, que a ocorrência de chuva promove a diluição desse contaminante e de outros, ocasionando uma melhora aparente no corpo hídrico.

Devido ao amplo espectro do fipronil no Brasil, a presença dele em sistemas aquáticos pode ser oriunda do uso em diversos setores (agrícola, industrial, pecuário e residencial). Considerando que a bacia do rio Guandu é severamente afetado pelo lançamento *in natura* de esgoto doméstico, agrícola e industrial, os resultados de concentrações obtidos para o fipronil podem ser provenientes de fontes pontuais ou não, além disso cabe ressaltar que grande parte do volume de água da bacia é devido a transposição do Rio Pirai e Paraíba do Sul, esse último tem o seu curso d'água passando por dois estados (SP e MG) até chegar ao Rio de Janeiro, sendo severamente poluído ao longo do seu percurso (COMITÊ GUANDU, 2018). Devido a essa diversidade de fontes de contaminação para essa bacia, se torna complexo inferir a procedência de resíduos de fipronil neste sistema aquático.

É interessante notar que fipronil sulfona foi quantificado na água com uma menor frequência de quantificação que o composto de origem, sendo quantificado em 6,25% do total de amostras analisadas enquanto o seu precursor fipronil foi quantificado em 75% do total das amostras analisadas.

Avaliando a influência do ambiente da bacia do rio Guandu, com a baixa frequência de quantificação de fipronil sulfona, se trata de um ambiente com alta concentração de oxigênio dissolvido (OD) (INEA, 2021) o que torna o ambiente altamente oxidativo favorecendo a formação de fipronil sulfona, porém este é relatado com uma persistência três vezes maior em organismos aquáticos do que o próprio fipronil, favorecendo a bioacumulação em organismos aquáticos (KIM *et al.*, 2019; MICHEL *et al.*, 2016), o que é justificado pelo K_{ow} estimado para fipronil sulfona (4,42) ser maior do que o K_{ow} fipronil (3,78), indicando um maior caráter lipofílico da molécula (RSC, 2021; UE, 2011). Além disso esses resultados podem indicar que o produto de degradação fipronil sulfona não permanece livre na água, podendo estar fortemente adsorvido em sedimentos, devido ter um K_{oc} (2511) maior do que o fipronil ($K_{oc}=803$) (GRIPP *et al.*, 2016; GUNASEKARA *et al.*, 2007).

Entretanto, com todos os riscos associados aos produtos de degradação do fipronil, a revisão da legislação acerca dos padrões de potabilidade da água para consumo (BRASIL, 2021) não contempla esses produtos de degradação.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores das concentrações de fipronil e fipronil sulfona encontrados no presente trabalho na bacia do rio Guandu, bem como os encontrados por outros trabalhos que também estudaram estes analitos em diversos tipos de matrizes aquáticas.

Tabela 13 - Valores de concentração de fipronil encontrados em águas superficiais ao redor do mundo.

Local	Concentrações encontradas	Referência
EUA	0,54 - 207,27 ng / L	Wu <i>et al.</i> , 2015
EUA	0,003-2,11 µg / L	Budd <i>et al.</i> , 2015
Vietnã	0,17 µg / L	Chau <i>et al.</i> , 2015*
Alemanha	0,24 - 0,92 ng / L	Michel <i>et al.</i> , 2016
EUA	131 ± 30 ng/L	McMahen <i>et al.</i> , 2016
Holanda	11-130 ng / L	Tennekes <i>et al.</i> , 2018
EUA	0,3 ± 0,1 ng / L	Montiel-Léon <i>et al.</i> , 2018*
Brasil	29,2 ng/L	Sposito <i>et al.</i> , 2018*
Brasil	26,2 µg/L	Barizon <i>et al.</i> , 2019*
Brasil	1-22 ng/L	Montagner <i>et al.</i> , 2019*
China	0,09 - 9,46 ng / L	Li <i>et al.</i> , 2019*
Japão	0,002-0,322 µg/L	Hano <i>et al.</i> , 2019*
Brasil	4,51 ± 0,30 µg / L	Scheel <i>et al.</i> , 2020*
Vietnã	0,04 ng / L	Wan <i>et al.</i> , 2021*
Brasil	0,132-2,44 µg/L	Presente trabalho, 2021

*método para análise de multiresíduos

De acordo com Bonmatin e colaboradores (2015), o fipronil pode ser encontrado em amostras de água em níveis de concentração que variam desde o nível de ng/L (ppt) ao µg/L (ppb). Estudos relatando a presença de fipronil em águas superficiais ao redor do mundo (Tabela 12), mostram faixas de concentração de 0,54 - 207,27 ng/L (WU *et al.*, 2015) e 0,003-2,11 µg/L (BUDD *et al.*, 2015) nos EUA, 0,24 - 0,92 ng/L na Alemanha (MICHEL *et al.*, 2016), 11-130 ng/L na Holanda (TENNEKES, 2018), 0,09 - 9,46 ng/L na China (LI *et al.*, 2019), 0,002-0,322 µg/L no Japão (HANO *et al.*, 2019) e concentrações médias de 0,3 ± 0,1 ng/L (MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2018) e 131 ± 30 ng/L (MCMAHEN *et al.*, 2016) nos EUA, 0,17 µg/L (CHAU *et al.*, 2015) e 0,04 ng/L (WAN *et al.*, 2021) no sul e ao norte do Vietnã, respectivamente. Na maioria dos estudos, o fipronil foi detectado em uma escala de concentração de ng/L. No presente trabalho, fipronil foi encontrado em concentrações em níveis de µg/L, semelhante aos estudos relatados por Budd e colaboradores (2015) e Chau e colaboradores (2015).

Estudos reportam a ocorrência de traços de fipronil em águas brasileiras, na mesma faixa de concentração relatada no presente estudo ou até superior.

Na região sul do Brasil, um estudo realizado por Marchesan e colaboradores (2010) avaliou a presença de oito agrotóxicos durante o período de cultivo do arroz irrigado em rios do Rio Grande do Sul. Fipronil foi um dos agrotóxicos mais frequentemente encontrados com valores de concentração na faixa de 0,05–26,2 µg/L.

Na região centro-oeste do Brasil, Sposito e colaboradores (2018) analisaram a ocorrência de fipronil e outros contaminantes emergentes em dois importantes rios para o estado do Mato Grosso do Sul (rio Dourados e Brilhantes), utilizados para irrigação, aquicultura, pesca

e como fontes de água potável para as pessoas que vivem ao lado deles. Fipronil foi encontrado com uma concentração média de 29,2 ng/L em apenas um ponto do rio Dourados, nesse ponto também foram encontrados altos níveis de outros contaminantes avaliados, justificado pela alta taxa de urbanização ao redor.

Na região Sudeste, estado de São Paulo (SP), Montagner e colaboradores (2014), desenvolveram um método para avaliação simultânea de resíduos de 12 agrotóxicos, entre eles fipronil, em 13 rios e amostras de água potável em 9 cidades do Estado de São Paulo (Brasil), que são provavelmente contaminados devido ao uso generalizado desses produtos. Os resultados mostraram que as águas investigadas são altamente impactadas com carbendazim e atrazina, porém o fipronil não foi encontrado. Entretanto, em 2019, Montagner e colaboradores reportaram um estudo de monitoramento realizado entre 2010-2015, em diferentes cidades no estado de SP, para avaliar a ocorrência de contaminantes emergentes, entre eles fipronil, em diversos tipos de água (potável, superficial e subterrânea), além do esgoto bruto e tratado. Fipronil foi encontrado em 38% das amostras de água superficial na faixa de concentração 1-22 ng/L, enquanto em amostras de água potável foi encontrado com uma frequência de 35%, na faixa de concentração 1-13 ng/L.

Através de um monitoramento contínuo realizado pela CETESB nas águas superficiais do Estado de São Paulo, o fipronil e outros agrotóxicos foram encontrados durante o ano de 2018 e 2019. Nestes dois anos o monitoramento de agrotóxico foi realizado em 23 pontos localizados em bacias hidrográficas com maior representatividade de uso agrícola. O fipronil foi um dos agrotóxicos que apresentou uma das maiores amplitudes de concentrações nos pontos de monitoramento (2 - 692 ng/L) e uma das maiores frequências de quantificação (>70%) (CETESB, 2020).

Ainda no estado de São Paulo, Barizon e colaboradores (2019), realizaram uma análise multiresíduo na bacia do rio Camanducaia, o qual tem contribuição para o abastecimento do sistema Cantareira, que é uma das principais fontes de água para a metrópole de São Paulo e Campinas. As amostras foram coletadas em doze locais ao longo do rio Camanducaia e seus afluentes, por um período de quatro meses e em estações de alto índice pluviométrico. Foi avaliada a presença de 46 pesticidas, entre eles fipronil, no qual foi encontrado na concentração de 26,2 µg/L.

Scheel e Teixeira (2020) desenvolveram um método para determinação de fipronil, um inseticida e dois fungicidas (picoxistrobina e carbendazim) em matrizes aquáticas. Para avaliar a viabilidade do método proposto, analisaram a presença desses agrotóxicos em poços artesianos, lagos artificiais, balneários, águas costeiras, um riacho e água da chuva em diferentes cidades nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Fipronil foi encontrado com uma concentração de $4,51 \pm 0,30$ µg/L na água do mar em Guaratuba (Paraná).

Esses estudos destacam a necessidade da expansão de estudos para avaliação da presença de agrotóxicos nos recursos hídricos brasileiros, pois estudos sobre a ocorrência de agrotóxicos em água doce são escassos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2016; BARIZON *et al.*, 2020).

A bacia do rio Guandu localizada no estado do Rio de Janeiro, é seriamente afetada pelo desenvolvimento industrial, pela expansão populacional e pelas atividades humanas, recebendo diariamente 112 milhões de litros de esgotos domésticos *in natura* por dia, dos 15 municípios localizados na bacia (BIANCO *et al.*, 2020; KLIGERMAN; SANCANARI; NOGUEIRA, 2021). Entretanto, os estudos para avaliação da qualidade da água nesta área são escassos e os estudos realizados até o momento encontraram poluentes que variam desde níveis de ng/L ao µg/L (DE ARAUJO *et al.*, 2020; DIAS, 2014; FERNANDES, 2019; FERREIRA, 2014;

GONÇALVES, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2018). No entanto, relatos sobre a presença de agrotóxicos são escassos e a presença do fipronil na bacia ainda não havia sido relatada.

Diversos agrotóxicos utilizados no Brasil, não possuem padrões de qualidade (VMP) definidos na Resolução n° 357/2005 do CONAMA (BRASIL, 2005), sendo o Fipronil um deles. Para avaliação da qualidade da água nos pontos amostrados, os valores encontrados podem ser correlacionados com os valores ecotoxicológicos definidos pela USEPA (USEPA, 2017). Os valores de fipronil encontrados no presente estudo superam os critérios estabelecidos para proteção da vida aquática em 75% dos pontos avaliados (Figura 21).

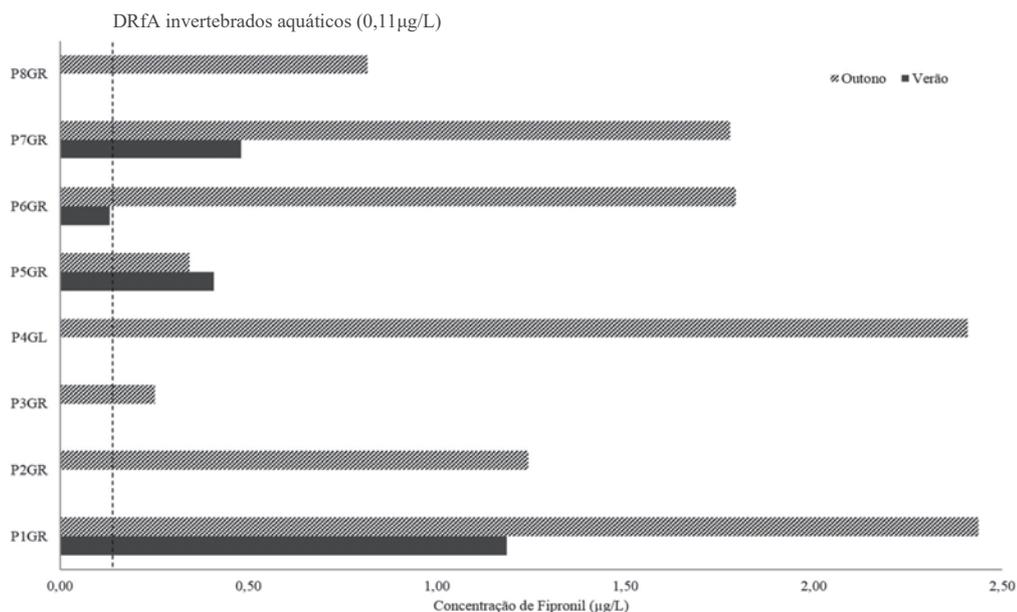


Figura 21 - Comparação da concentração de fipronil nos oito pontos de amostragem em duas diferentes estações (Verão e outono). Legenda:(---) Dose aguda de referência para invertebrados aquáticos (USEPA, 2017).

As concentrações encontradas foram superiores ao valor de dose aguda de referência para invertebrados aquáticos (0,11 µg/L) sendo a magnitude dessas ultrapassagens ao redor de 1,2 - 22,2 vezes, porém os valores encontrados foram inferiores ao valor dose aguda de referência para peixes (41,5 µg/L).

A concentração mais baixa de fipronil detectada no presente estudo (0,132 µg/L) ultrapassa a concentração limite de fipronil (0,07 ng/L) sugerida pela Holanda em águas superficiais, com base em dados ecotoxicológicos (TENNEKES, 2018).

Sendo a bacia do rio Guandu uma importante fonte de água de abastecimento para o estado do Rio de Janeiro e considerando que o fipronil foi recentemente incluído na portaria que avalia a potabilidade da água para consumo (BRASIL, 2017), através da revisão do anexo XX na Portaria n° 888/2021, do MS (BRASIL, 2021), verificamos que em quatro pontos há a ultrapassagem do limite máximo seguro desse agrotóxico estabelecido na legislação vigente (1,2 µg/L).

Dos quatro pontos onde ocorreu essa ultrapassagem do padrão de potabilidade, três pontos (Rio Guandu, Queimados-P6GR; Rio Queimados-P7QR; Lagoa Guandu – P4GL) estão localizados antes da ETA Guandu impactando a qualidade da água que é utilizada para

abastecimento, sendo um dos pontos (Lagoa Guandu – P4GL) localizado bem próximo da área de captação de água para ETA Guandu, indicando a necessidade de monitoramento contínuo na bacia do Guandu.

Embora este estudo forneça informações importantes sobre a presença de fipronil e um de seus produtos de degradação em águas superficiais no estado do Rio de Janeiro, existem algumas limitações. A análise dos demais produtos de degradação do fipronil, a ampliação do número de amostras em cada ponto de amostragem, bem como a avaliação da influência de todas as estações climáticas, análise da água potável para avaliação do impacto desse estudo para a saúde humana e a análise de sedimentos e biota aquática para determinação de fipronil sulfona, para melhor compreensão do percurso desse produto nessa bacia, são pontos relevantes a serem considerados para um monitoramento completo do fipronil e de suas frações.

Porém, este estudo agrega dados básicos necessários para futuros estudos de monitoramento em uma região de grande importância para a cidade do Rio de Janeiro e alerta para a inclusão desse agrotóxico e seus derivados na legislação, para o monitoramento em águas superficiais.

5 CONCLUSÃO

O método SPE-LC-MS desenvolvido permitiu a análise de fipronil e fipronil sulfona em um único dia de análise, utilizando apenas 100 mL de água e com um fator de concentração de 500 vezes. Mostrou-se um método robusto, simples, seguro, de baixo custo econômico permitindo a aplicação em análises de rotina para o monitoramento de fipronil e fipronil sulfona.

O desenvolvimento da metodologia proposta de SPE-LC-MS mostrou-se, com base no processo de validação, adequado para a determinação de fipronil e fipronil sulfona em amostras de águas superficiais, na faixa de concentração de $\mu\text{g/L}$.

Obtenção de limites de detecção e quantificação confiáveis para atendimento aos limites estabelecidos pelos órgãos regulatórios que garantem a proteção ambiental (USEPA) e a potabilidade da água para consumo humano (Ministério da Saúde).

A metodologia proposta demonstrou ser uma ferramenta importante para a verificação de ocorrência a presença de fipronil (0,132 a 2,44 $\mu\text{g/L}$) e fipronil sulfona (< 0,050 a 0,135 $\mu\text{g/L}$), concentrações que podem ser consideradas significativas em termos de riscos à saúde humana e ambiental, em uma bacia hidrográfica representativa no Brasil.

Este trabalho traz um fornecimento de dados básicos para futuros estudos de monitoramento e um alerta para a inclusão desse agrotóxico e seus derivados na legislação, para o monitoramento em águas superficiais.

O desenvolvimento desse trabalho fornece condições e possibilidades de otimização da técnica analítica, para diminuição do volume de solvente gerado, diminuição do tempo de análise e aumento de sensibilidade.

Outros produtos de degradação do fipronil também podem ser incluídos na metodologia analítica para avaliarmos a presença nas amostras, obtendo uma melhor compreensão da contaminação do agrotóxico nessa bacia.

Outra perspectiva deste trabalho, além de estudos de monitoramento de fipronil na bacia do rio Guandu é necessário a ampliação do número de amostras em cada ponto de amostragem na bacia e a avaliação da influência de todas as estações climáticas durante o monitoramento.

A análise de sedimentos e biota aquática para a determinação de fipronil sulfona, podem auxiliar na compreensão do percurso desse produto nessa bacia.

Devido a presença de fipronil próximo a um importante ponto de captação de água para estação de tratamento de água, faz se necessária a análise da água potável para avaliação da remoção de fipronil e fipronil-sulfona pelos processos convencionais de tratamento de água e o impacto desse estudo para a saúde humana.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACD/ChemSketch, version 2021.2.0, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2022.
- ALBUQUERQUE, A. F. *et al.* Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 7, p. 779–787, 2016.
- ANA - Agência Nacional De Águas. **Aplicativo Atlas Água e Esgoto**. Disponível em: <<https://www.snirh.gov.br/agua-esgoto/agua-tabs/informacoes>>. Acesso em: 28 maio. 2021.
- ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Monografia do ingrediente ativo F43 Fipronil**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/f/4351json-file-1/view>>. Acesso em: 5 set. 2021.
- ANVISA - Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)-Relatório das amostras analisadas no período 2017-2018.2019**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acesso em: 1 set. 2021.
- BACHA, L. *et al.* Risk of Collapse in Water Quality in the Guandu River (Rio de Janeiro, Brazil). **Microbial Ecology**, p. 1–11, 2021.
- BADGUJAR, P. *et al.* Fipronil-induced genotoxicity and DNA damage in vivo: Protective effect of vitamin E. **Human & Experimental Toxicology**, v. 36, n. 5, p. 508–519, 2017.
- BAE, J. W.; KWON, W. S. Investigating the effects of fipronil on male fertility: Insight into the mechanism of capacitation. **Reproductive Toxicology**, v. 94, p. 1–7, 2020.
- BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida. **Os pesticidas o homem e o meio ambiente**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 215 p.
- BARIZON, R. R. M. *et al.* Pesticides in the surface waters of the Camanducaia River watershed, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 3, p. 283–292, 2020.
- BARROS, A. L. DE *et al.* Perinatal exposure to insecticide fipronil: effects on the reproductive system in male rats. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 6, p. 1130–1143, 2017.
- BASTOS, L. H. P. *et al.* Possíveis fontes de contaminação do alimento leite, por agrotóxicos, e estudos de monitoramento de seus resíduos: uma revisão nacional. **Cad. saúde coletiva**, v. 19, n. 1, p. 51–60, 2011.
- BEASLEY, V. R. Direct and Indirect Effects of Environmental Contaminants on Amphibians. **Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences**, 2020.
- BIANCO, K. *et al.* Possible health impacts due to animal and human fecal pollution in water intended for drinking water supply of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua**, v. 69, n. 1, p. 70–84, 2020.
- BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C. DE; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BRAGA, A. R. C. *et al.* Global health risks from pesticide use in Brazil. **Nature Food**, v. 1, n. 6, p. 312–314, 2020.

BRANCO, F. O. L. *et al.* Contaminantes Emergentes nas Bacias Hidrográficas Brasileiras e seus potenciais efeitos a espécies ameaçadas de extinção. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 9, n. 2, p. 140–174, 2021.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 março 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 28 de dezembro de 2012. Dispõe Sobre A Aplicação dos Ingredientes ativos Imidacloprido, Clotianidina, Tiametoxam e Fipronil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 04 janeiro de 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação Nº. 5 de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 de setembro de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS Nº 888 de 04 de maio de 2021, altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 05/2017 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 de maio de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Nº 608 de 24 de setembro de 2020. Divulga a listagem completa dos atos normativos inferiores a decreto vigentes no âmbito da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), nos termos do Decreto nº 10.139, de 28 de novembro de 2019. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 de setembro de 2020

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 193 p. Disponível em :<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_nacional_vigilancia_populacoes_expostas_agrotoxicos.pdf>. Acesso em: 6 set. 2021.

BUDD, R. *et al.* Monitoring Fipronil and Degradates in California Surface Waters, 2008-2013. **Journal of Environmental Quality**, v. 44, n. 4, p. 1233–1240, 2015.

CALLICOTT, K.; HOOPER-BUI, L. An investigation of environmental concentrations of atrazine, chlorothalonil, and fipronil in a Mississippi River-influenced marsh in southern Louisiana. **Microchemical Journal**, v. 146, n. July 2018, p. 1241–1248, 2019.

CARVALHO, F. P. Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**, v. 6, n. 2, p. 48–60, 2017.

CASSIANO, N. M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021–1030, 2009.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB, 2011. 326 p

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo. 2019. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2020/09/Relatorio-da-Qualidade-das-Aguas-Interiores-no-Estado-de-Sao-Paulo-2019.pdf>>. Acesso em: 23 Nov. 2021.

CHAU, N. D. G. *et al.* Pesticide pollution of multiple drinking water sources in the Mekong Delta, Vietnam: evidence from two provinces. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 12, p. 9042–9058, 2015.

CID, Y. P. *et al.* Determination of fipronil in bovine plasma by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. **Quim. Nova**, v. 35, n. 10, p. 2063–2066, 2012.

COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA GUANDU (RJ). **Bacia Hidrográfica dos Rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim. Experiências para a gestão dos recursos hídricos.** Rio de Janeiro: INEA. 2012, 309p. Disponível em: <http://www.comiteguandu.org.br/conteudo/livroguandu2013.pdf>. Acesso em: quatro de agosto de 2021.

COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA GUANDU. **Plano estratégico de recursos hídricos das bacias hidrográficas do rio Guandu, da Guarda e Guandu Mirim.** Rio de Janeiro: 2018.

CONNELLY, P. **Environmental fate of fipronil**, Califórnia Environmental Protection Agency: Sacramento, 2001. Disponível em: <http://www.pw.ucr.edu/textfiles/fipronil.pdf>. Acesso em: 4 de agosto de 2021.

CRYDER, Z. *et al.* Fiproles in urban surface runoff: Understanding sources and causes of contamination. **Environmental Pollution**, v. 250, p. 754–761, 2019.

DA SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665–676, 2011.

DA SILVA, T. P. P.; MOREIRA, J. C.; PERES, F. Serão os carrapaticidas agrotóxicos? implicações na saúde e na percepção de riscos de trabalhadores da pecuária leiteira. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 17, n. 2, p. 311–325, 2012.

DE ARAÚJO NASCIMENTO, F. *et al.* Cultivated areas and rural workers' behavior are responsible for the increase in agricultural intoxications in Brazil? Are these factors associated? **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 30, p. 38064–38071, 2020.

DE ARAUJO, F. G. *et al.* Development and validation of an analytical method for detection and quantification of benzophenone, bisphenol A, diethyl phthalate and 4-nonylphenol by UPLC-MS/MS in surface water. **PeerJ Analytical Chemistry**, v. 2, p. e7, 2020.

DE ARAUJO, F. G. *et al.* Development and Validation of an Analytical Method for the Detection and Quantification of Bromazepam, Clonazepam and Diazepam by UPLC-MS/MS in Surface Water. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 103, n. 2, p. 362–366, 2019.

DE ARAUJO, F. G.; BAUERFELDT, G. F.; CID, Y. P. Determination of 4-Nonylphenol in Surface Waters of the Guandu River Basin by High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 10, p. 2046–2053, 2018.

DE MORAES, R. F. **Agrotóxicos no Brasil: padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória.** Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Brasília: Rio de Janeiro: IPEA, 2019.

DE MORAIS, C. R. *et al.* Assessment of the mutagenic, recombinogenic and carcinogenic potential of fipronil insecticide in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Chemosphere**, v. 165, p. 342–351, 2016.

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

DEMOLINER, Adriana. **Otimização e validação de metodologia analítica empregando SPE e LC-ESI-MS/MS para determinação de multiclases de agrotóxicos e metabólitos em**

água de superfície e de abastecimento público. 2008. 130 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

DIAS, A. C. V. *et al.* Analysis of estrogenic activity in environmental waters in Rio de Janeiro state (Brazil) using the yeast estrogen screen. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 120, p. 41–47, 2015.

DIAS, A. P. *et al.* **Agrotóxicos e Saúde - Coleção Saúde, Ambiente e Sustentabilidade2.** Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, 120 p. ,2018. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/32385/2/02agrototoxicos.pdf>. Acesso em: 4 de agosto de 2021.

DIAS, R. V. A. **Avaliação da ocorrência de microcontaminantes emergentes em sistemas de abastecimento de água e da atividade estrogênica do etinilestradiol.** 2014. 148 p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

DOS SANTOS, G. C. M. *et al.* Fipronil Tablets: Development and Pharmacokinetic Profile in Beagle Dogs. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 1, p. 9, 2020.

DYK, M. B. *et al.* Fate and distribution of fipronil on companion animals and in their indoor residences following spot-on flea treatments. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 47, n. 10, p. 913–924, 2012.

EFSA. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fipronil. **EFSA Journal**, v. 4, n. 5, p. 1–110, 2006.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EU) 2019/1792 of 17 October 2019 amending Annexes II, III and V to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for amitrole, fipronil, flupyrulfuron-methyl, imazosulfuron, isoproturon, orthosulfamuron and triasulfuron in or on certain products. Official Journal L 277/66, 17/10/2019, 2019. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R1792&from=EN>

FAO. **Pesticide residues in food – 2001.** Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues. Geneva, Switzerland, 2001

FERNANDES, J. G. **Ocorrência de poluentes emergentes nos rios Piraí, Paraíba do Sul, Guandu e na água de abastecimento da Região Metropolitana do Rio de Janeiro.** 2018. 106 f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de São Paulo, Lorena, 2018. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97131/tde-28052019-142211/publico/BIT18004_C.pdf. Acesso em: 04 ago. 2020.

FERREIRA, A. Environmental Investigation of Psychiatric Pharmaceuticals: Guandu River, Rio De Janeiro State, Southeast Brazil. **Journal of Chemical Health Risks**, v. 4, n. 3, p. 25–32, 2014.

FERREIRA, T. P. *et al.* Bioanalytical Method to Measure Fluazuron in Bovine Plasma and its Application in Pharmacokinetic Studies. **Rev. Virtual Quim**, v. 11, n. 3, 2019.

FRIEDRICH, K. *et al.* Situação regulatória internacional de agrotóxicos com uso autorizado no Brasil: potencial de danos sobre a saúde e impactos ambientais. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 4, 2021.

GAN, J. *et al.* Occurrence of Fipronil and Its Biologically Active Derivatives in Urban Residential Runoff. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 1489–1495, 2012.

GAVRILESCU, M. *et al.* Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147–156, 2015.

GOLS, R.; WALLISDEVRIES, M. F.; VAN LOON, J. J. A. Reprotoxic effects of the systemic insecticide fipronil on the butterfly *Pieris brassicae*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 287, n. 1922, p. 20192665, 2020.

GONÇALVES, E. S. **Ocorrência e distribuição de fármacos, cafeína e bisfenol-a em alguns corpos hídricos no Estado do Rio de Janeiro**. 2012. 197 p. Tese (Doutorado) - Curso de Geociências Ambiental, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

GRIPP, H. S. *et al.* Biochemical effects of fipronil and its metabolites on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant defense in tadpoles (*Eupemphix nattereri*: Leiuperidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v.136, p. 173–179, 2016.

GUNASEKARA, A. S. *et al.* Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, n. 3, p. 189–199, 2007.

HAN, K. *et al.* Multi-Residue Analysis of Fipronil and Its Metabolites in Eggs by SinChERS-Based UHPLC-MS/MS. **Food Science of Animal Resources**, v. 41, n. 1, p. 59–70, 2021.

HANO, T. *et al.* Occurrence of neonicotinoids and fipronil in estuaries and their potential risks to aquatic invertebrates. **Environmental Pollution**, v. 252, p. 205–215, 2019.

HERIN, F. *et al.* Thyroid Function Tests in Persons with Occupational Exposure to Fipronil. **Thyroid**, v. 21, n. 7, p. 701–706, 2011.

HERNÁNDEZ, F. *et al.* The role of GC-MS/MS with triple quadrupole in pesticide residue analysis in food and the environment. **Analytical Methods**, v. 5, n. 21, p. 5875–5894, 2013.

IBAMA. Relatórios de comercialização de agrotóxicos (2000-2018). Boletim Anual de Comercialização.deAgrotóxicos.Disponível.em:<<http://www.ibama.gov.br/relatorios/quimico-s-e-biologicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#boletinsanuais>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rj/japeri>>. Acesso em: 30 maio. 2021.

INEA- Instituto Estadual do Ambiente. **Como é feito o monitoramento das Águas Interiores?**Disponível.em:.<<http://www.inea.rj.gov.br/ar-agua-e-solo/como-e-feito-o-monitoramento-das-aguas-interiores/>>. Acesso em: 25 maio. 2021a.

INEA- Instituto Estadual do Ambiente. **Monitoramento sistemático rios do estado do Rio de Janeiro.2012-2020**..Disponível.em:<<http://www.inea.rj.gov.br/wp-content/uploads/2021/08/INEA-IQA-Média-ERJ-2012-2020.pdf>>. Acesso em: 24 nov. 2021b.

INEA- Instituto Estadual do Ambiente. Resolução CERHI-RJ N° 107 de 22 de maio de 2013. Aprova nova definição das regiões Hidrográficas do estado do Rio de Janeiro e revoga a Resolução CERHI N° 18 de 08 de novembro de 2006. Disponível em: <<https://www.comiteguandu.org.br/legislacoes/ResolucoesCERHI/Resolucao-CERHI-107.pdf>>. Acesso em: 4 nov. 2021.

INMETRO. DOQ-CGCRE-008-Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial, 2018.

IUPAC. **PPDB: Pesticide Properties Data Base**. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/316.htm>>.

KALAOUM, J. *et al.* Mapeamento da vulnerabilidade do sistema de aquífero do Distrito Industrial do Município de Queimados (RJ) utilizando a metodologia GOD. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 13, n. 3, p. 1069–1090, 2020.

KIM, Y. A. *et al.* Distribution of fipronil in humans, and adverse health outcomes of in utero fipronil sulfone exposure in newborns. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 222, n. 3, p. 524–532, 2019.

KLIGERMAN, D. C.; SANCANARI, S. N.; NOGUEIRA, J. M. R. Caminhos para viabilização da convergência de interesses na despoluição do Rio Guandu, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 6, 2021.

KOSLOWSKI, S. *et al.* Long-Term Fipronil Treatment Induces Hyperactivity in Female Mice. **International Journal of Environmental Research and Public Health** 2020, Vol. 17, Page 1579, v. 17, n. 5, p. 1579, 2020.

LACROIX, M. Z. *et al.* Quantification of fipronil and its metabolite fipronil sulfone in rat plasma over a wide range of concentrations by LC/UV/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 22, p. 1934–1938, 2010.

LANÇAS, F. M.; **Extração em Fase Sólida (SPE)**, RiMa: São Carlos, 2004

LEITE, F. **Validação em análise química**. 5ª ed. Campinas: Editora Átomo, 2008.

LI, X. *et al.* Determination of residual fipronil and its metabolites in food samples: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 185–195, 2020.

LI, X. *et al.* Simultaneous determination of neonicotinoids and fipronil and its metabolites in environmental water from coastal bay using disk-based solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 234, p. 224–231, 2019.

LI, Z.; JENNINGS, A. Worldwide Regulations of Standard Values of Pesticides for Human Health Risk Control: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 7, p. 826, 2017.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, p. 518–534, 2018.

MAGALHÃES, J. Z. *et al.* Fipronil: usos, características farmacológicas e toxicológicas. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 11, n. 1, 2018.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Consulta de Produtos Formulados**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 2 nov. 2021a.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informações Técnicas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>>. Acesso em: 8 maio. 2021b.

MARCHESAN, E. *et al.* Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1053–1059, 2010.

MCMAHEN, R. L. *et al.* Comparison of fipronil sources in North Carolina surface water and identification of a novel fipronil transformation product in recycled wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 569–570, p. 880–887, 1 nov. 2016.

MCMAHEN, R. L. *et al.* Identification of fipronil metabolites by time-of-flight mass spectrometry for application in a human exposure study. **Environment International**, v. 78, p. 16–23, 2015.

MICHEL, N. *et al.* Fipronil and two of its transformation products in water and European eel from the river Elbe. **Science of The Total Environment**, v. 568, p. 171–179, 2016.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO REGIONAL. SNIS - Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento. **Painel de Informações sobre saneamento 2019**. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>>. Acesso em: 24 out. 2021.

MONTAGNER, C. C. *et al.* Trace analysis of pesticides and an assessment of their occurrence in surface and drinking waters from the State of São Paulo (Brazil). **Analytical Methods**, v. 6, n. 17, p. 6668–6677, 2014.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MONTAGNER, C. *et al.* Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 3, p. 614–632, 2018.

MONTEIRO, M. *et al.* Development and Validation of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Methods for Determination of Beta-Lactams, Macrolides, Fluoroquinolones, Sulfonamides and Tetracyclines in Surface and Drinking Water from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 4, p. 801–813, 2017.

MONTIEL-LEÓN, J. M. *et al.* Evaluation of on-line concentration coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry for the quantification of neonicotinoids and fipronil in surface water and tap water. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 11, p. 2765–2779, 2018.

MOUTINHO, M. F. *et al.* Herbicides employed in sugarcane plantations have lethal and sublethal effects to larval *Boana pardalis* (Amphibia, Hylidae). **Ecotoxicology** 2020 29:7, v. 29, n. 7, p. 1043–1051, 2020.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 123, p. 115772, 2020.

OKUMURA, F. *et al.* Electrochemical and Quantum Chemical Investigations of the Insecticide Fipronil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 5, p. 925–932, 2016.

OVERMYER, J. P. *et al.* Toxicity of fipronil and its enantiomers to marine and freshwater non-targets. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 42, n. 5, p. 471–480, 2007.

PARK, H. *et al.* Developmental toxicity of fipronil in early development of zebrafish (*Danio rerio*) larvae: Disrupted vascular formation with angiogenic failure and inhibited neurogenesis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 385, p. 121531, 2020.

PEREIRA, A. DOS S. *et al.* Desafios da química analítica frente às necessidades da indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 28, SUPPL., p. S107–S111, 2005.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

PERKINS, R. *et al.* Potential role of veterinary flea products in widespread pesticide contamination of English rivers. **Science of the Total Environment**, v. 755, p. 143560, 2021.

PETROVIĆ, M. *et al.* Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, n. 1–2, p. 1–14, 2005.

PISA, L. *et al.* An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, 2017.

PISA, L. W. *et al.* Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 68–102, 2015.

QIAN, Y. *et al.* Exposure of low-dose fipronil enantio selectively induced anxiety-like behavior associated with DNA methylation changes in embryonic and larval zebrafish. **Environmental Pollution**, v. 249, p. 362–371, 2019.

QU, H. *et al.* Environmental behavior of the chiral insecticide fipronil: Enantioselective toxicity, distribution and transformation in aquatic ecosystems. **Water Research**, v. 105, p. 138–146, 2016.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68–76, 2001.

RAFAELLA TOMAZINI *et al.* Development of a simple method to quantify fipronil and its intermediates in soil. **Analytical Methods**, v. 12, n. 25, p. 3242–3249, 2020.

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

RAVETON, M. *et al.* Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation. **Chemosphere**, v. 69, n. 7, p. 1124–1129, 2007.

REBELO, R. M.; DUTRA CALDAS, E. AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DE AMBIENTES AQUÁTICOS AFETADOS PELO USO DE AGROTÓXICOS. **Quim. Nova**, v. 37, n. 7, p. 1199–1208, 2014.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, F. A. D. L. *et al.* Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164–171, 2008.

ROZET, E. *et al.* Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1–2, p. 111–125, 2007.

RSC. **Royal Society of Chemistry -Chemspider**. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2336427.html?rid=4c2bd126-ba86-4ea6-bb2c-def12b229481>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

SADARIA, A. M. *et al.* Retrospective nationwide occurrence of fipronil and its degradates in U.S. wastewater and sewage sludge from 2001 - 2016. **Water Research**, v. 155, p. 465–473, 2019.

SCHEEL, G. L.; TEIXEIRA TARLEY, C. R. Simultaneous microextraction of carbendazim, fipronil and picoxystrobin in naturally and artificial occurring water bodies by water-induced supramolecular solvent and determination by HPLC-DAD. **Journal of Molecular Liquids**, v. 297, p. 111897, 2020.

SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL- SEMADS. **Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macrorregião Ambiental 2 - Bacia da Baía de Sepetiba**. Rio de Janeiro: SEMADS, 2001, 79p.

SIMON-DELISO, N. *et al.* Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 1, p. 5–34, 2015.

SINGH, N. S. *et al.* A comprehensive review of environmental fate and degradation of fipronil and its toxic metabolites. **Environmental Research**, v. 199, p. 111316, 2021.

SOTERO-MARTINS, A. *et al.* Quality of raw water in the Guandu Basin of Rio de Janeiro state during water crisis of 2020. **Revista Ambiente & Água**, v. 16, n. 4, 2021.

SOUSA, J. C. G. *et al.* A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 146–162, 2017.

SPOSITO, J. C. V. *et al.* Emerging contaminants in Brazilian rivers: Occurrence and effects on gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Chemosphere**, v. 209, p. 696–704, 2018.

SPRINGER. **Sustainable Agriculture Reviews** 47. Cham: Springer International Publishing, 2021. v. 47

TEERLINK, J.; HERNANDEZ, J.; BUDD, R. Fipronil washoff to municipal wastewater from dogs treated with spot-on products. **Science of The Total Environment**, v. 599–600, p. 960–966, 2017.

TENNEKES, H. A. Fipronil in Surface Water: An Environmental Calamity Remaining Under Radar in the Netherlands. **Journal of ecology and toxicology**, v. 2, n. 1, p. 5–6, 2018.

TESTA, C. *et al.* Occurrence of Fipronil in residential house dust in the presence and absence of pets: a hint for a comprehensive toxicological assessment. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 54, n. 6, p. 441–448, 2019.

THUYET, D. Q.; WATANABE, H.; OK, J. Effect of pH on the degradation of imidacloprid and fipronil in paddy water. **Journal of Pesticide Science**, v. 38, n. 4, p. 223–227, 2013.

TINGLE, C. C. D. *et al.* Fipronil: Environmental Fate, Ecotoxicology, and Human Health Concerns. In: **Reviews of environmental contamination and toxicology**. Springer, New York, NY, 2003. v. 176, p. 1–66.

TINGLE, C. C. D. *et al.* Health and Environmental Effects of Fipronil, Briefing paper for Pesticides Action Network, UK, 2000.

UE. Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal products on the market - Fipronil Product-type PT18 (insecticides, acaricides and products to control other arthropods). Disponível em: <http://dissemination.echa.europa.eu/Biocides/ActiveSubstances/003318/0033-18_Assessment_Report.pdf>. Acesso em: 16 set. 2019.

URUGUAI. Resolución No 531/012 - Dispónenselas condiciones de registro, venta y uso de insecticidas formulados en base a fipronil. MONTEVIDEO: Boletín Oficial No 28.538, 23 de agosto de 2012, pág.12,2012. Disponível em: <<https://www.ecolex.org/details/legislation/resolucion-no-531012-disponense-las-condiciones-de-registro-venta-y-uso-de-insecticidas-formulados-en-base-a-fipronil-lex-faoc115813/?q=fipronil>>. Acesso em: 28 abr. 2020

USEPA. **Aquatic life benchmarks and ecological risk assessments for registered pesticides**. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/aquatic-life-benchmarks-and-ecological-risk#ref_1>. Acesso em: 22 fev. 2021.

USEPA. **Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Revision 2**, dez. 2016. Disponível em: <www.epa.gov>. Acesso em: 19 set. 2021

USEPA. **Drinking water contaminant candidate list 5 - Draft Federal Register**, 19 jul.2021. Disponível em: <<https://www.federalregister.gov/documents/2021/07/19/2021-15121/drinking-water-contaminant-candidate-list-5-draft>>. Acesso em: 5 set. 2021

USEPA. **Fipronil - Review of incident report for three products** Washington, 1998.

USEPA. **SW-846 Test Method 8000D: Determinative Chromatographic Separations**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-8000d-determinative-chromatographic-separations>>. Acesso em: 1 mar. 2021.

VERMA, A. *et al.* Effect of Sunlight and Ultraviolet Light on Dissipation of Fipronil Insecticide in Two Soils and Effect of pH on its Persistence in Aqueous Medium. **Air, Soil and Water Research**, v. 7, n. 1, p. 69–73, 2014.

WAN, Y. *et al.* Neonicotinoids, fipronil, chlorpyrifos, carbendazim, chlorotriazines, chlorophenoxy herbicides, bentazon, and selected pesticide transformation products in surface water and drinking water from northern Vietnam. **Science of The Total Environment**, v. 750, p. 141507, 2021.

WANG, X. *et al.* Fipronil insecticide toxicology: oxidative stress and metabolism. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 46, n. 10, p. 876–899, 2016.

WESTON, D. P.; LYDY, M. J. Toxicity of the Insecticide Fipronil and Its Degradates to Benthic Macro invertebrates of Urban Streams. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 1290–1297, 2014.

WU, J. *et al.* Occurrence and ecological risks from fipronil in aquatic environments located within residential landscapes. **Science of The Total Environment**, v. 518–519, n. 51, p. 139–147, 2015.

ZHANG, W. Global pesticide use: Profile, trend, cost / benefit and more. **Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences**, v. 8, p. 1–27, 2018.

ZHAO, X. Fipronil. **Encyclopedia of Toxicology**, 2^a Ed, p. 334–336, 2005

ANEXOS

Anexo A – Cromatogramas dos pontos de amostragem (Figura 22 a 37).

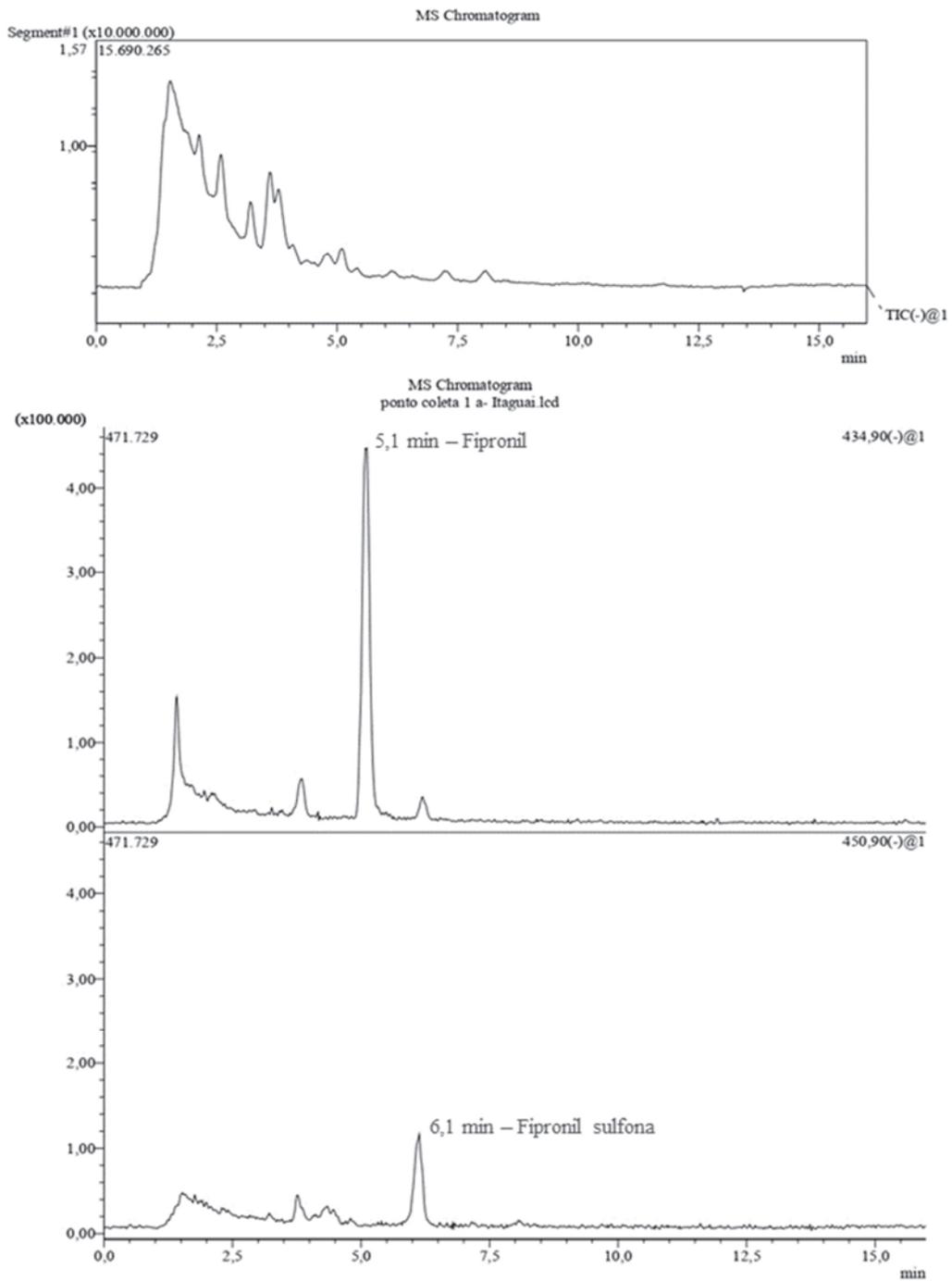


Figura 22 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem no rio da Guarda em Itaguaí (P1GR-verão).

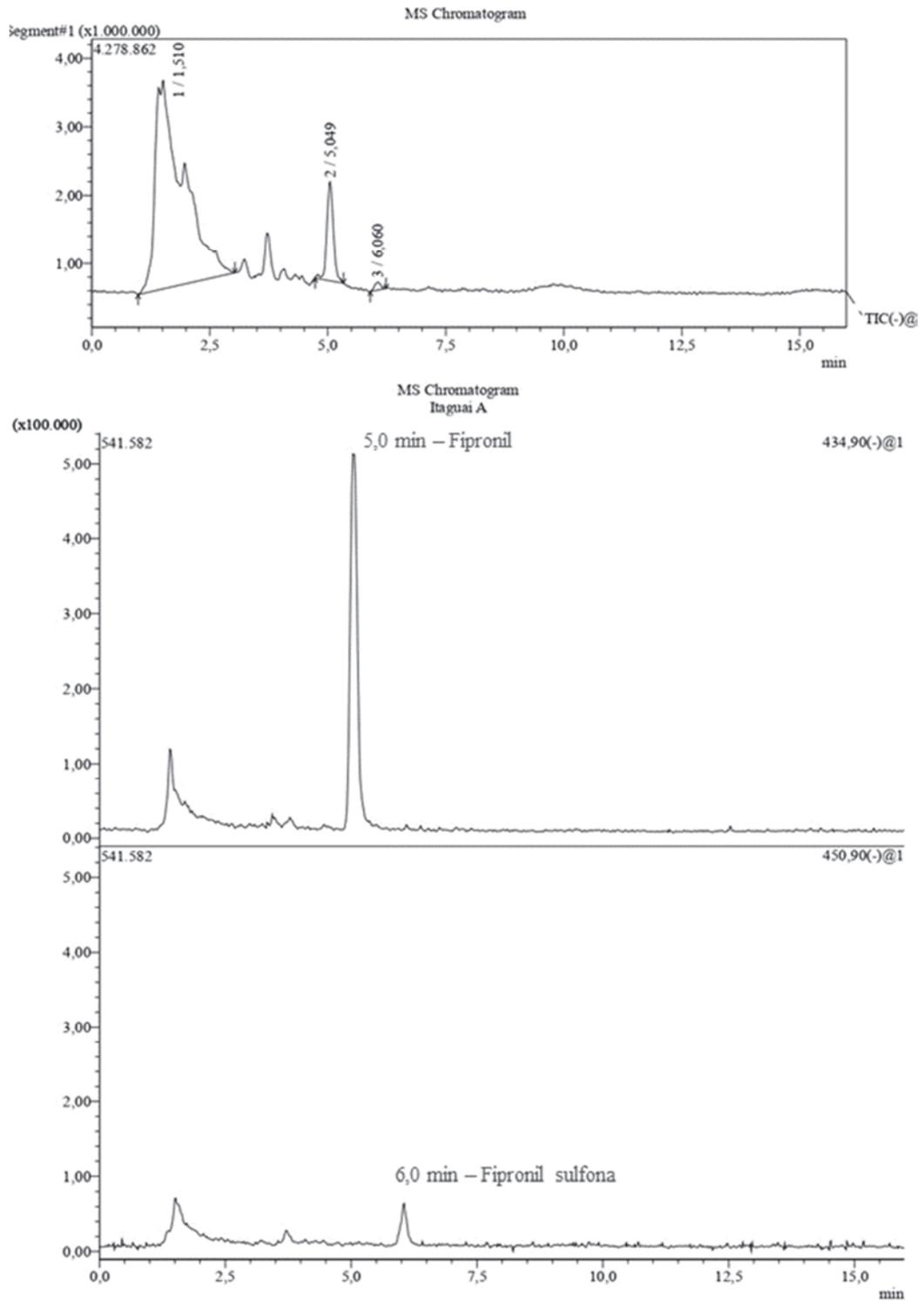


Figura 23 - Cromatograma da amostra de água de superfície do ponto de amostragem no rio da Guarda em Itaguaí (PIGR-outono).

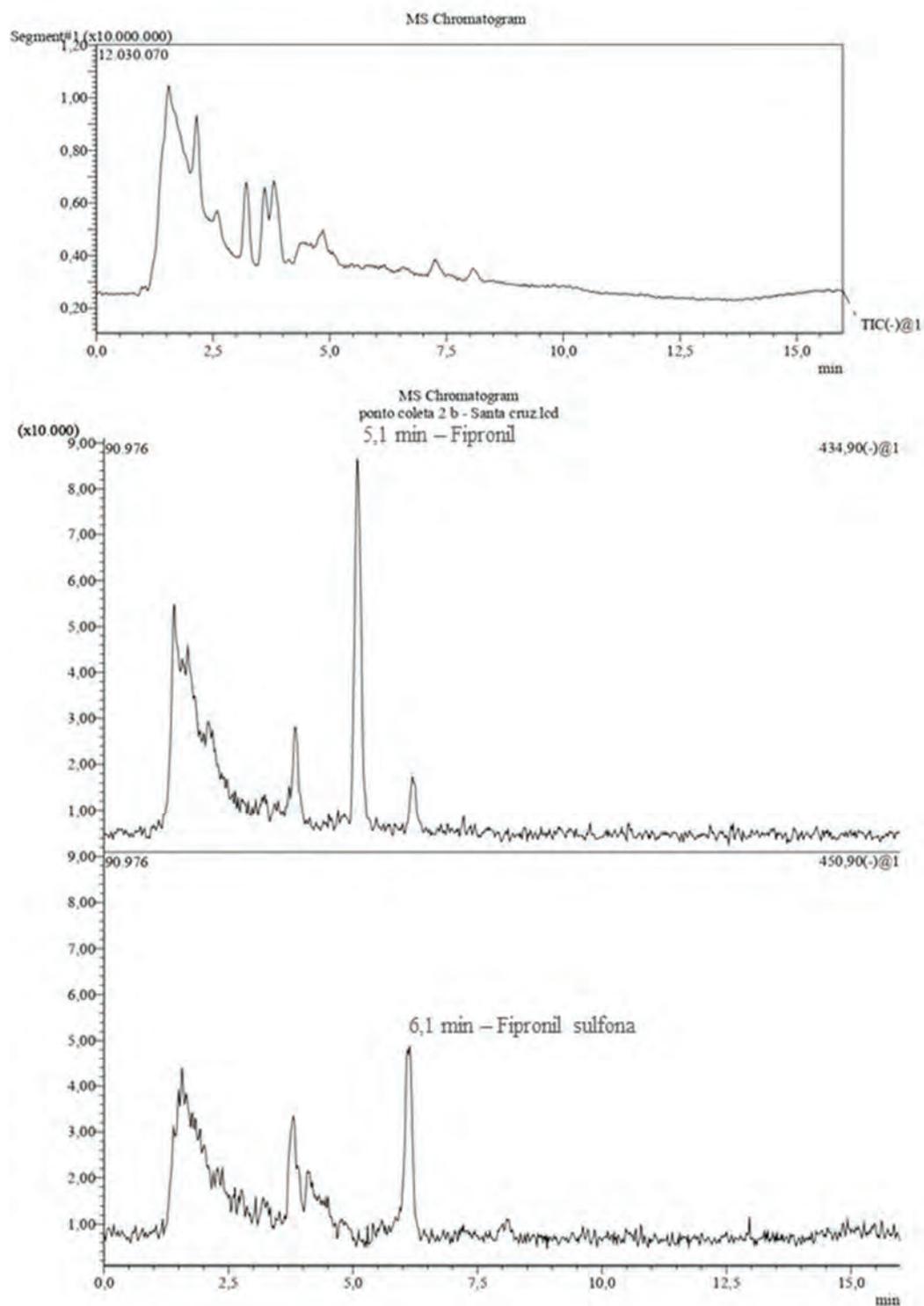


Figura 24 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Santa Cruz (P2GR-verão).

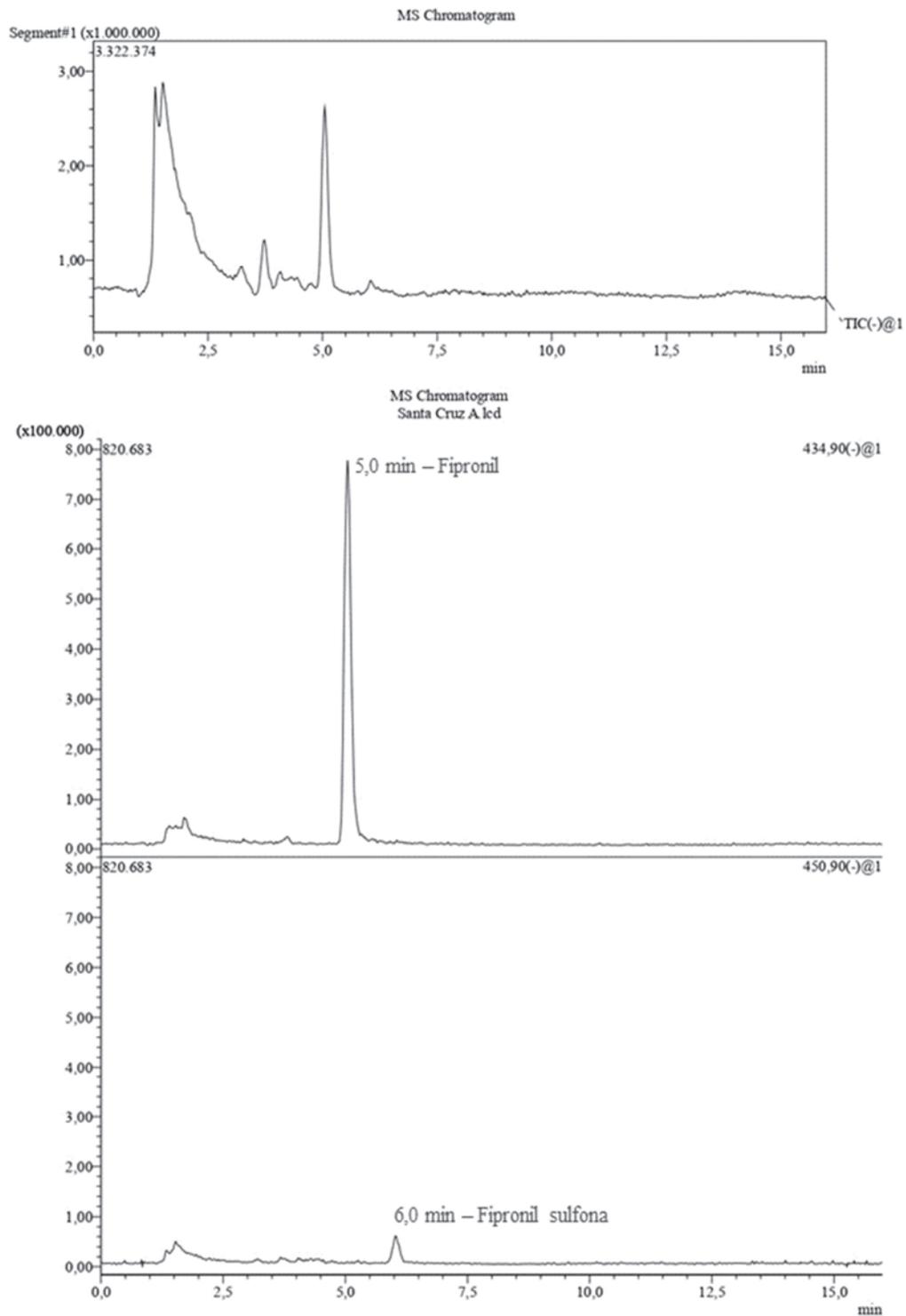


Figura 25 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Santa Cruz (P2GR-outono).

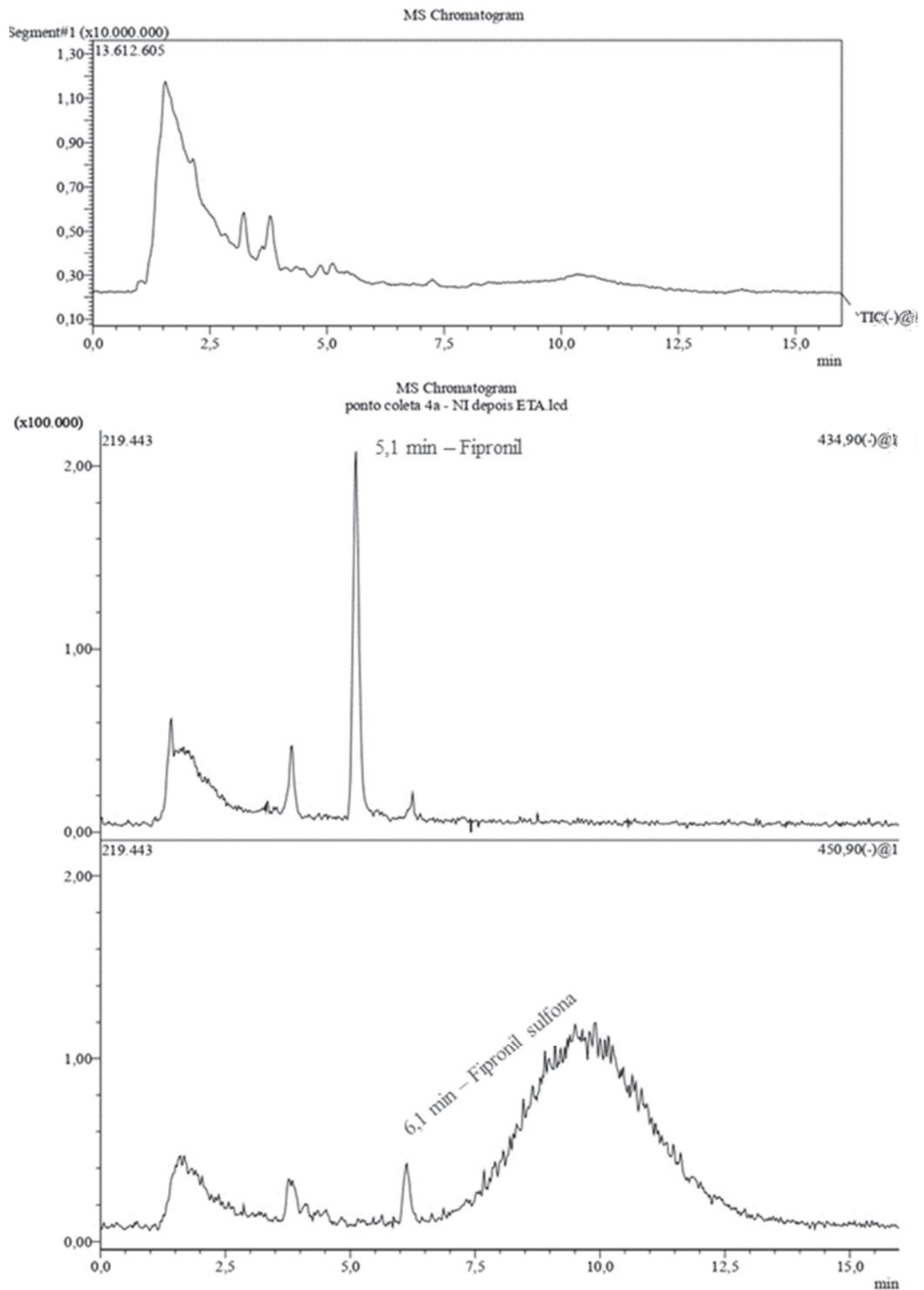


Figura 26 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Nova Iguaçu (P3GR-verão)

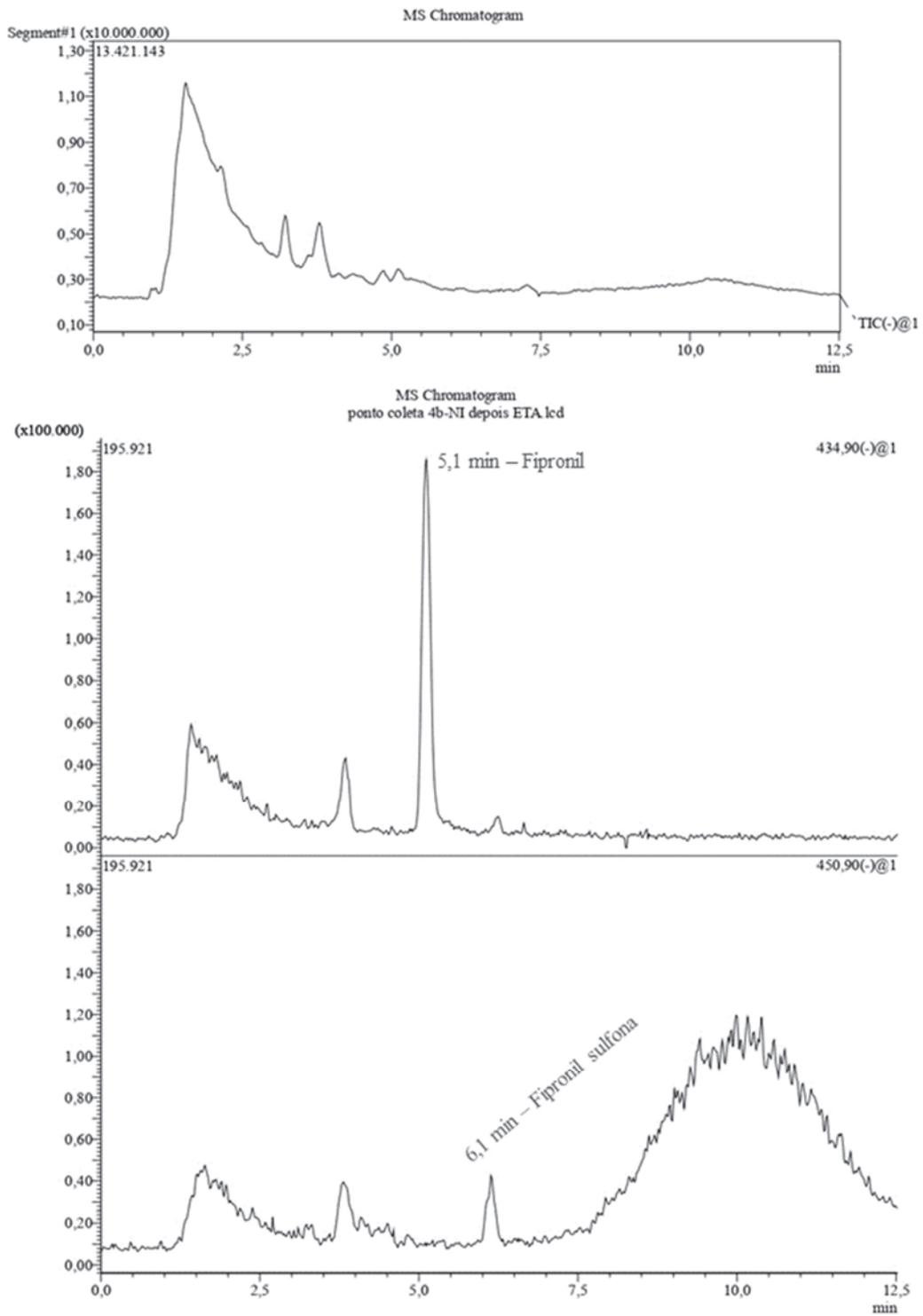


Figura 27 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Nova Iguaçu (P3GR-outono).

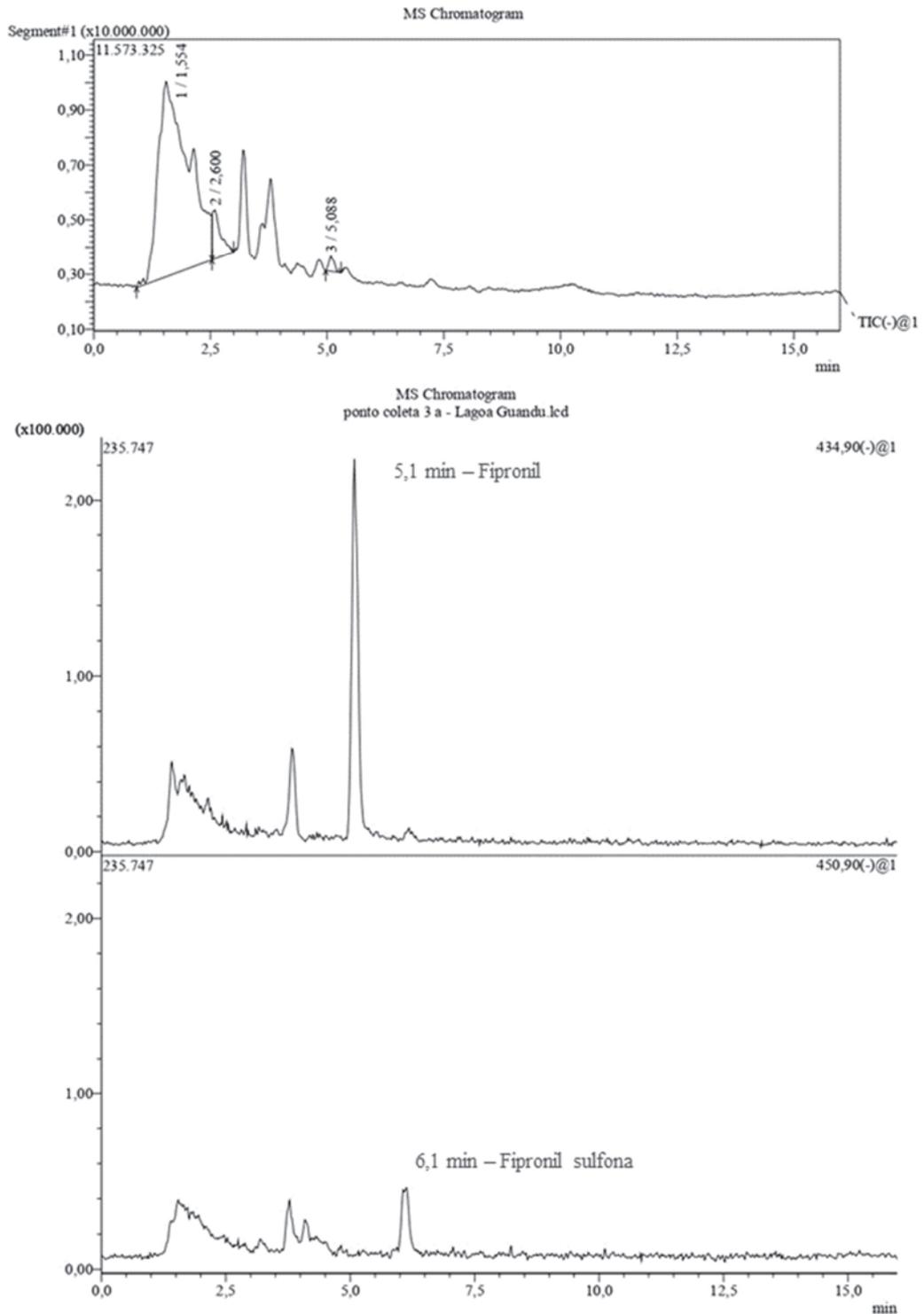


Figura 28 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem da Lagoa Guandu em Nova Iguaçu (P4GL-verão).

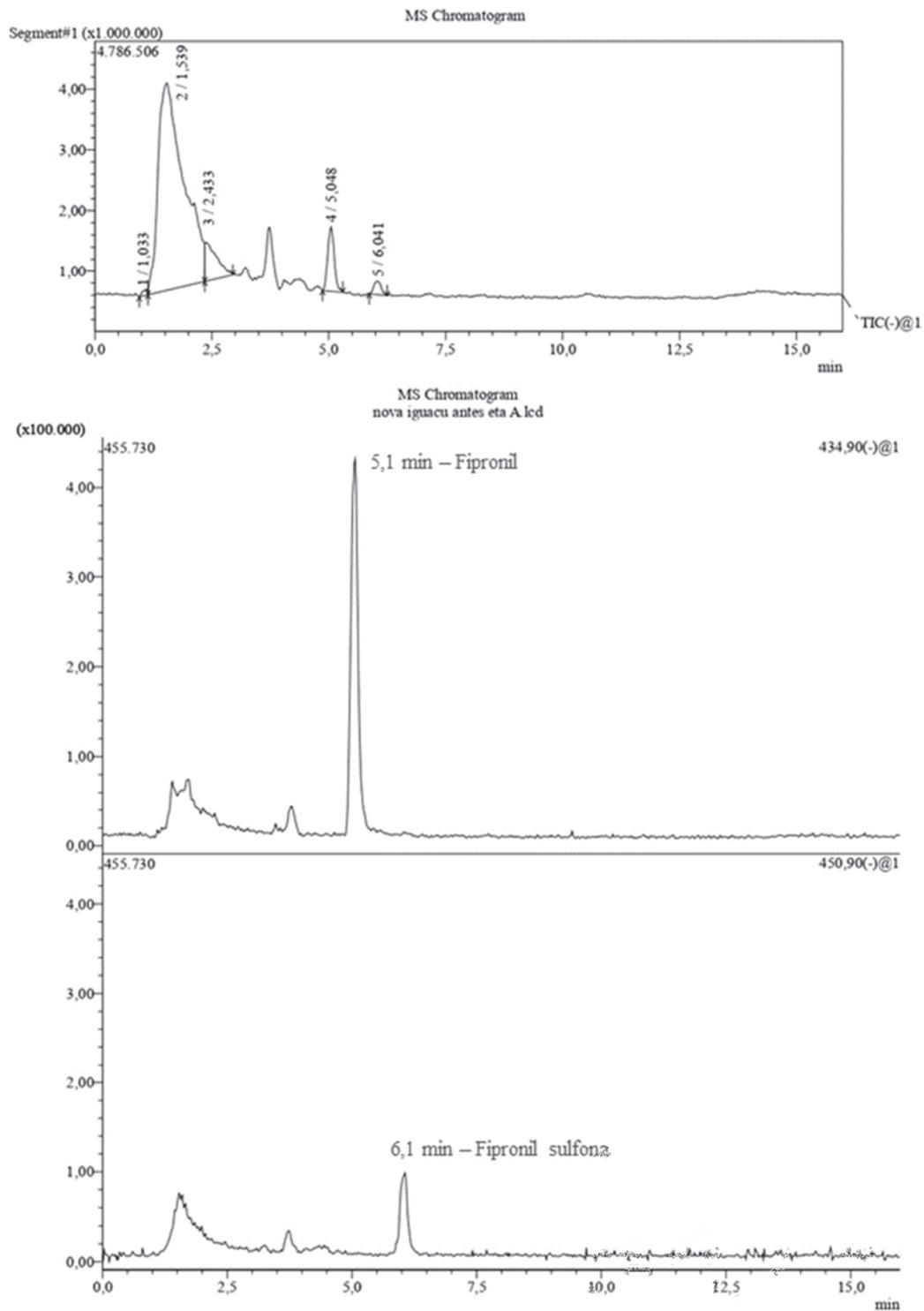


Figura 29 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem da Lagoa Guandu em Nova Iguaçu (P4GL-outono).

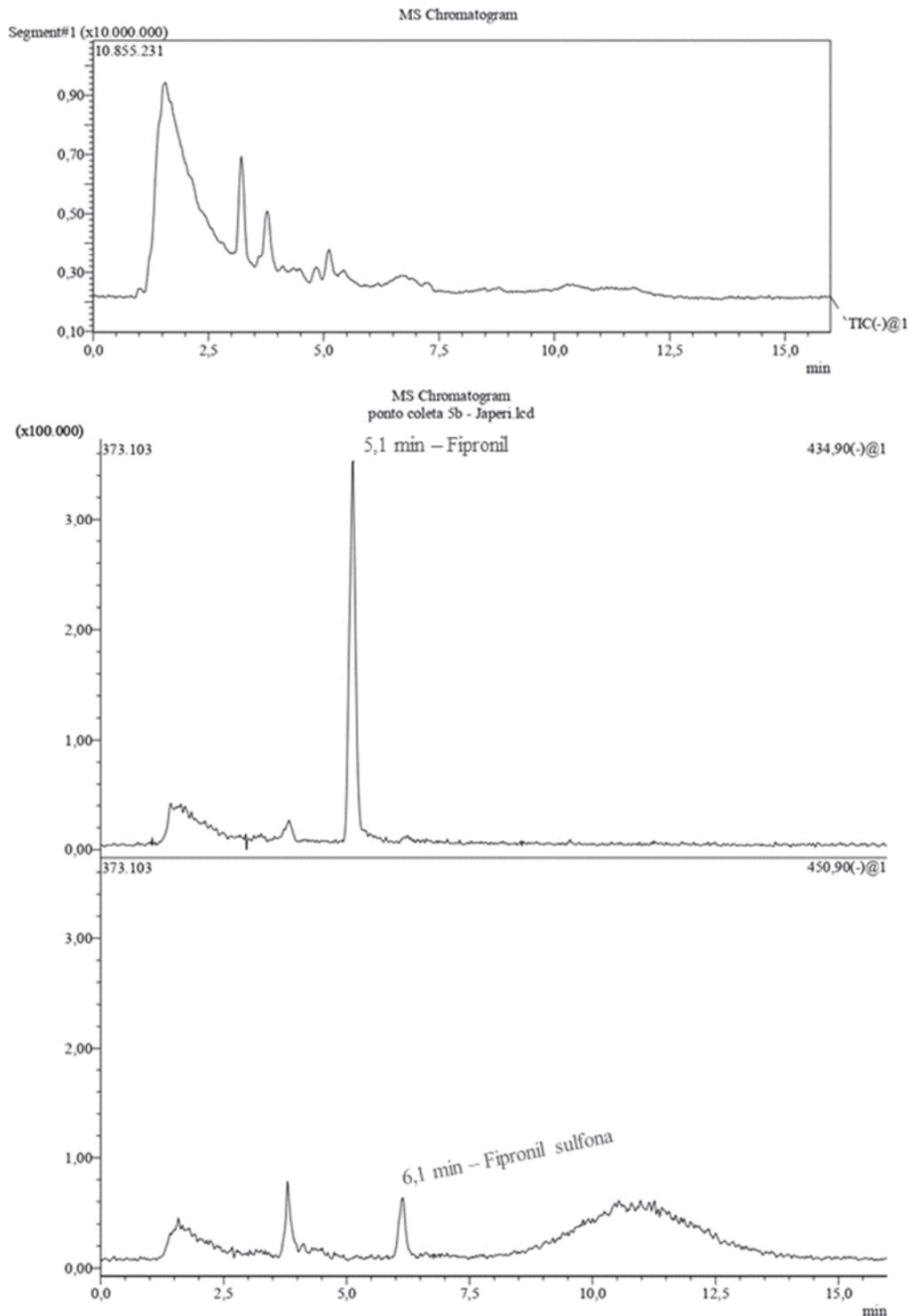


Figura 30 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Japeri (P5GR-verão).

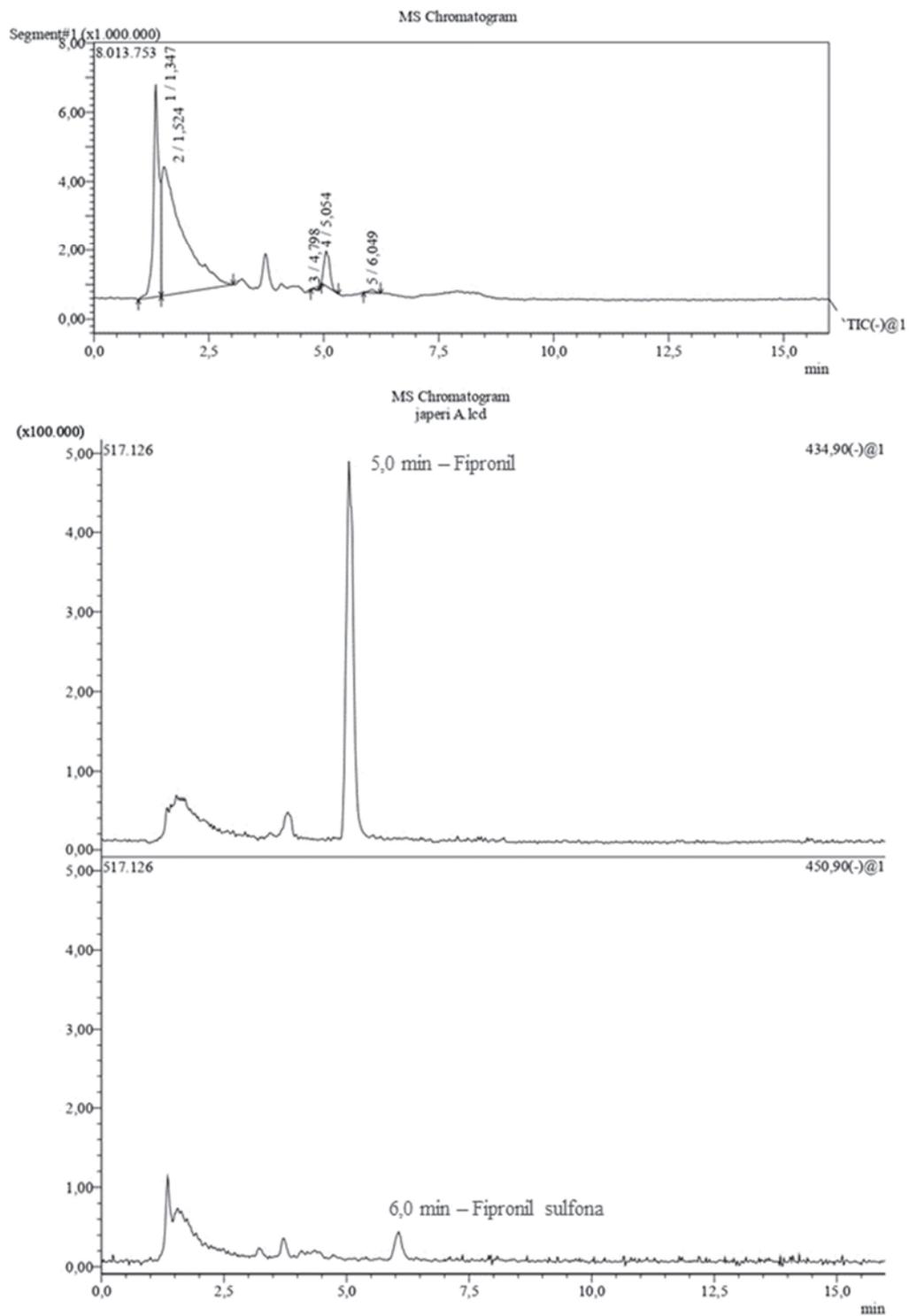


Figura 31 -Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Japeri (P5GR-outono).

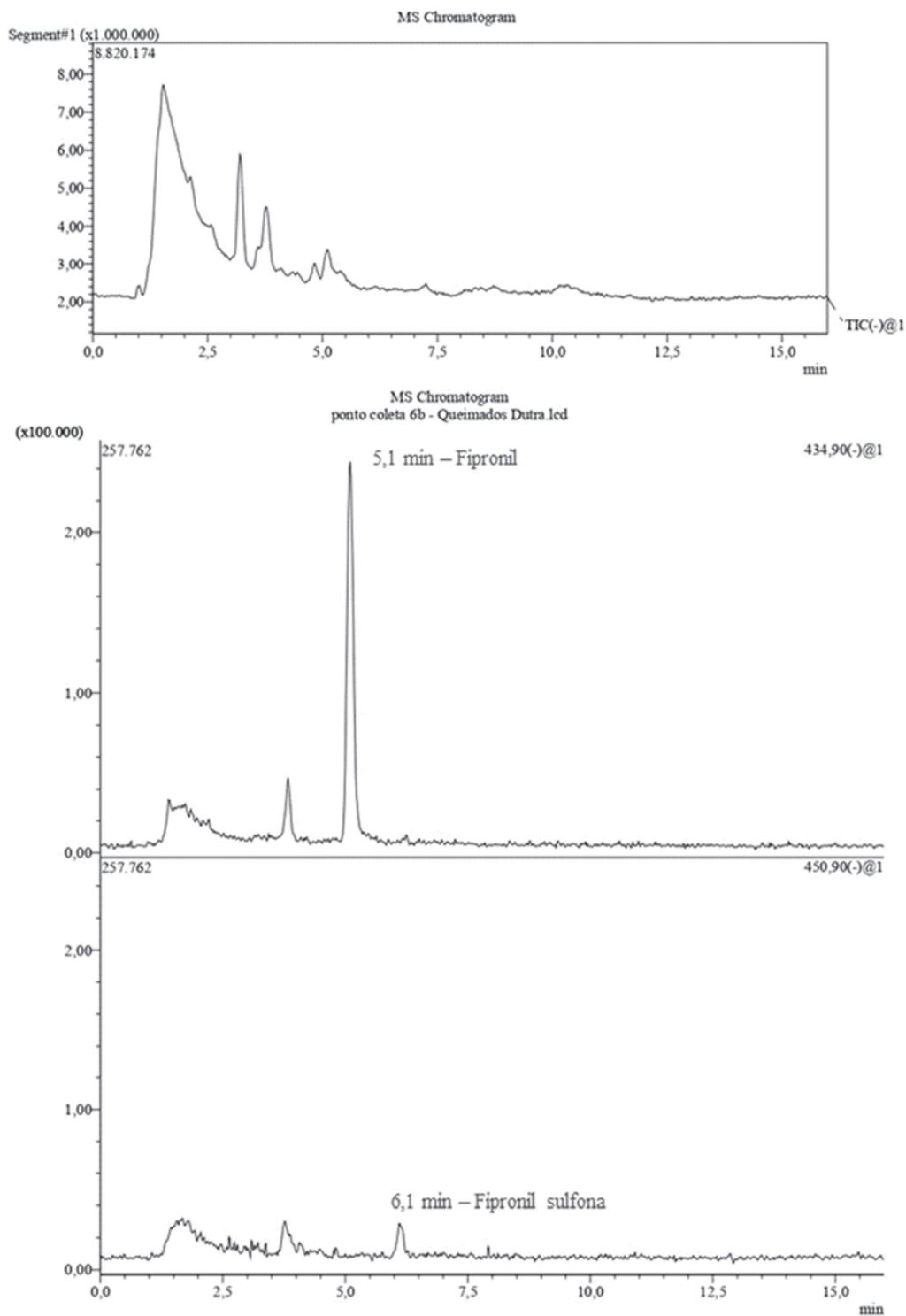


Figura 32 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Queimados (P6GR-verão).

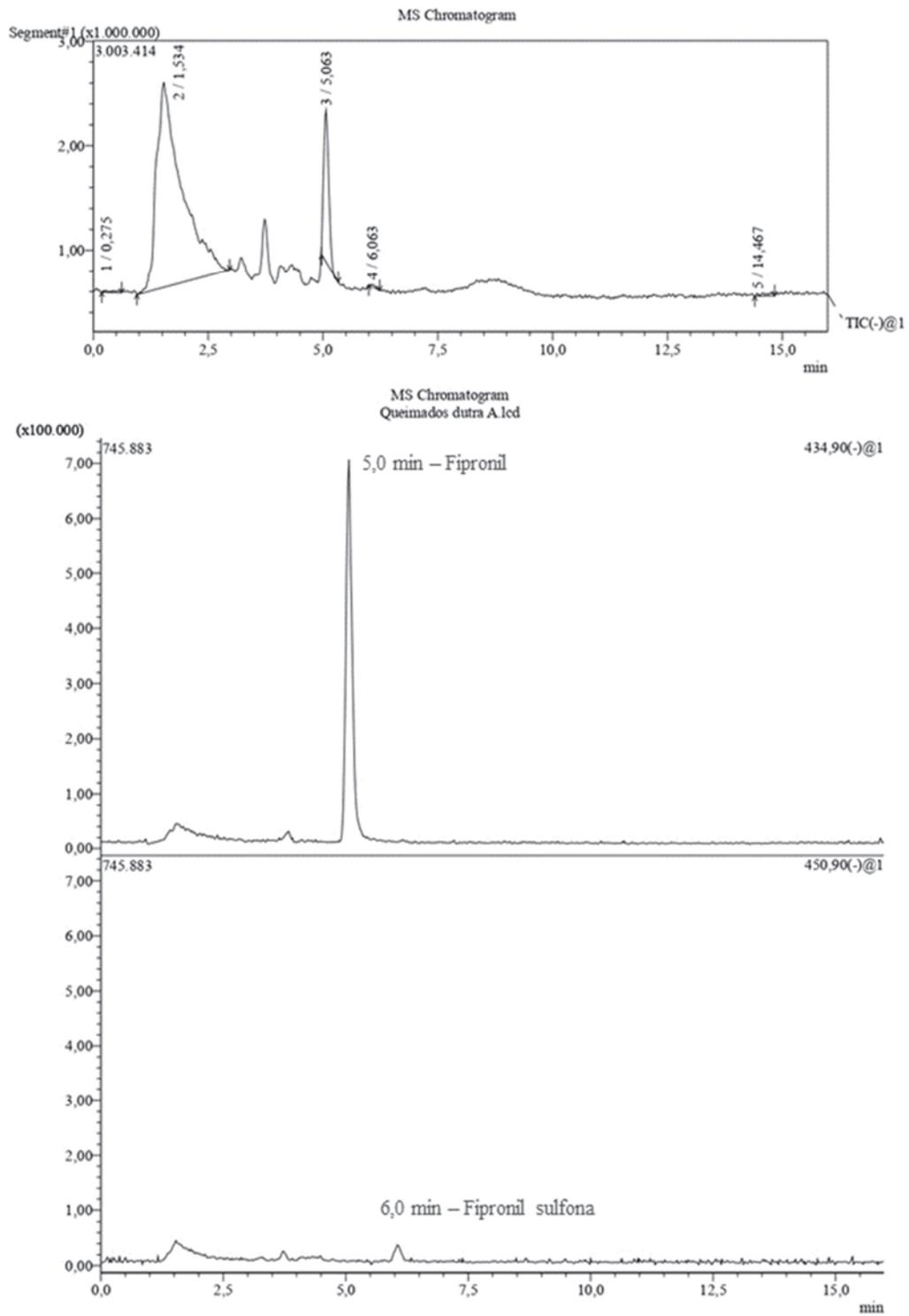


Figura 33 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Queimados (P6GR-outono).

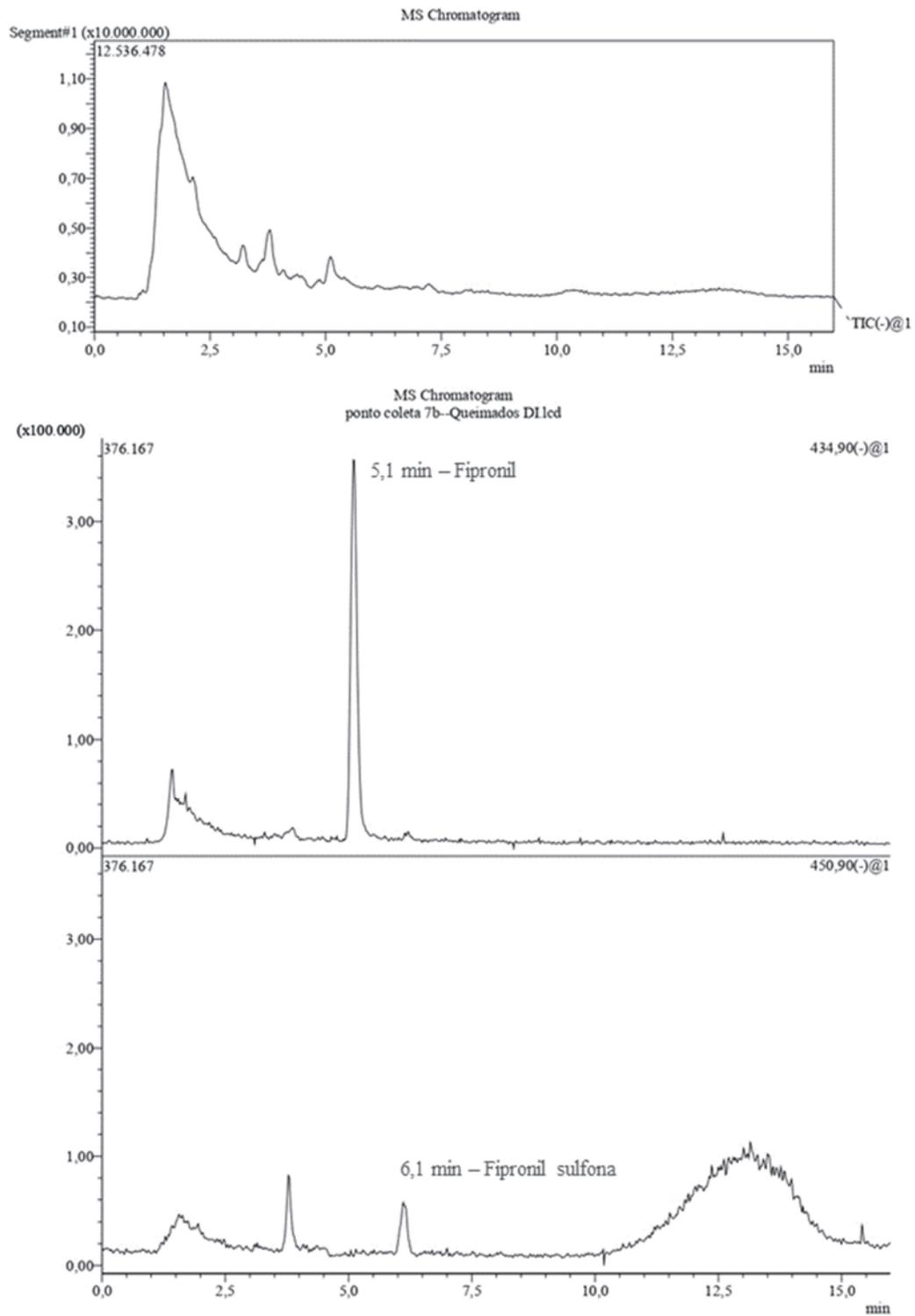


Figura 34 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Queimados no Distrito Industrial em Queimados (P7QR-verão).

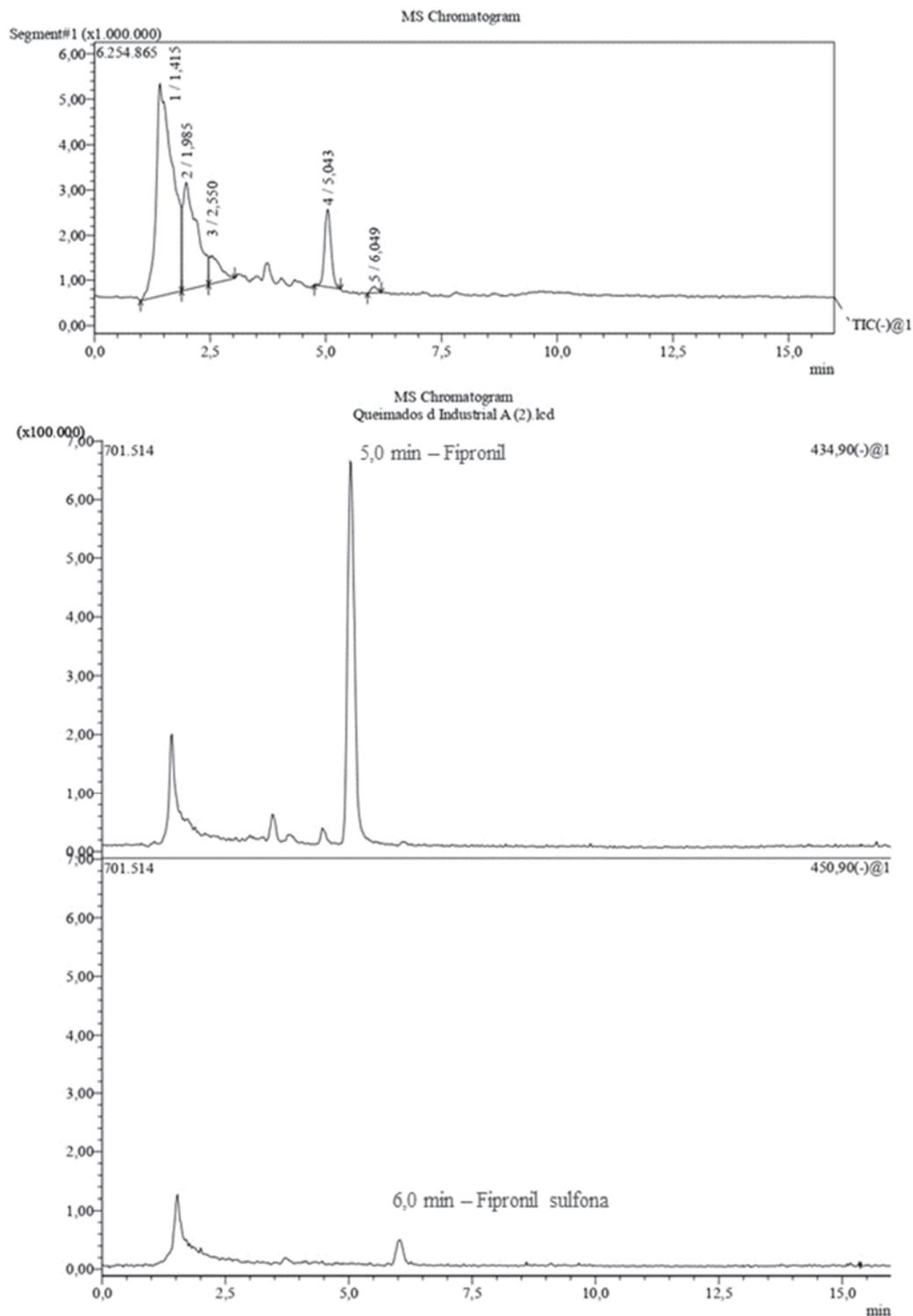


Figura 35 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Queimados no Distrito Industrial em Queimados (P7QR-outono).

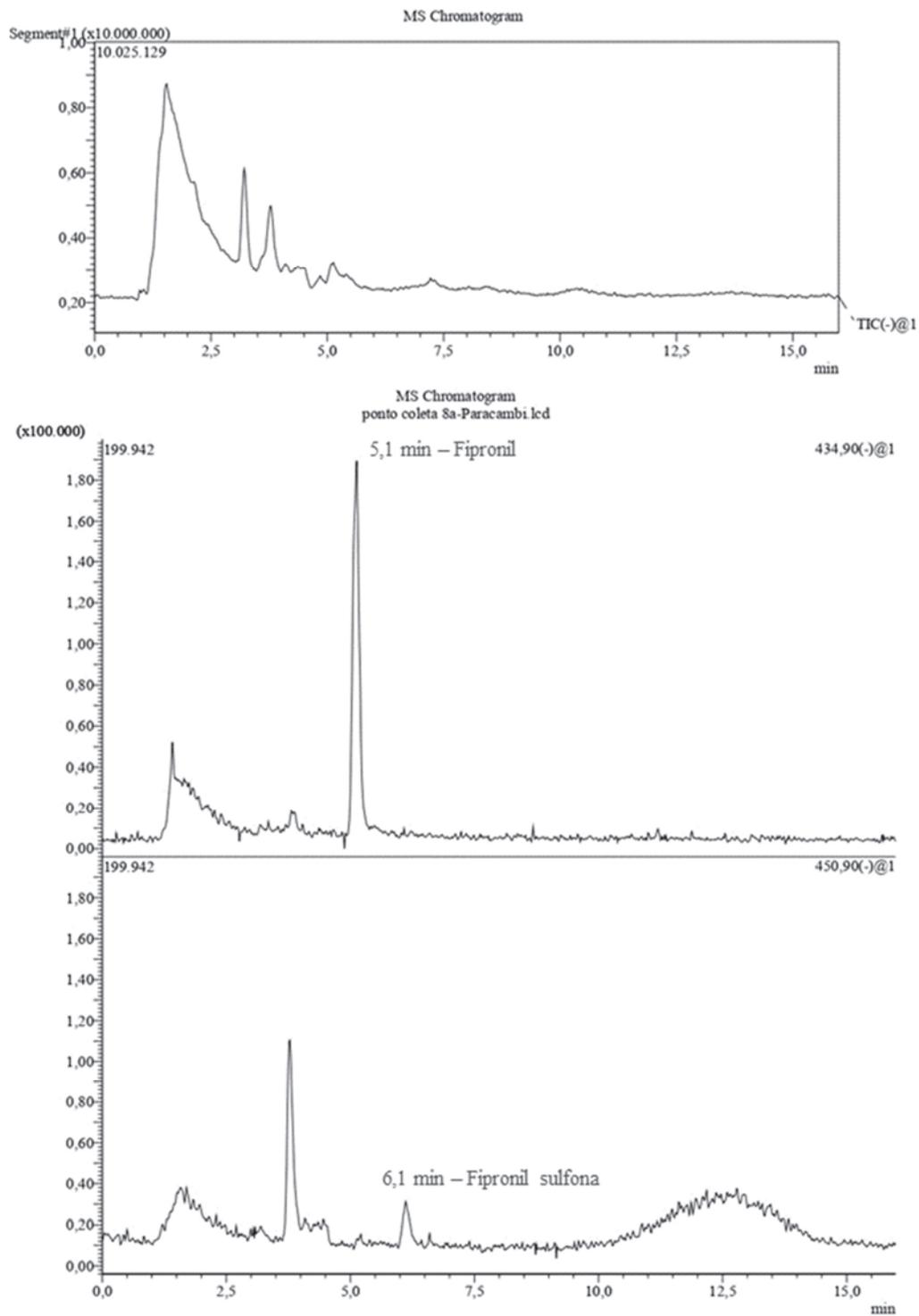


Figura 36 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Paracambi (P8GR-verão).

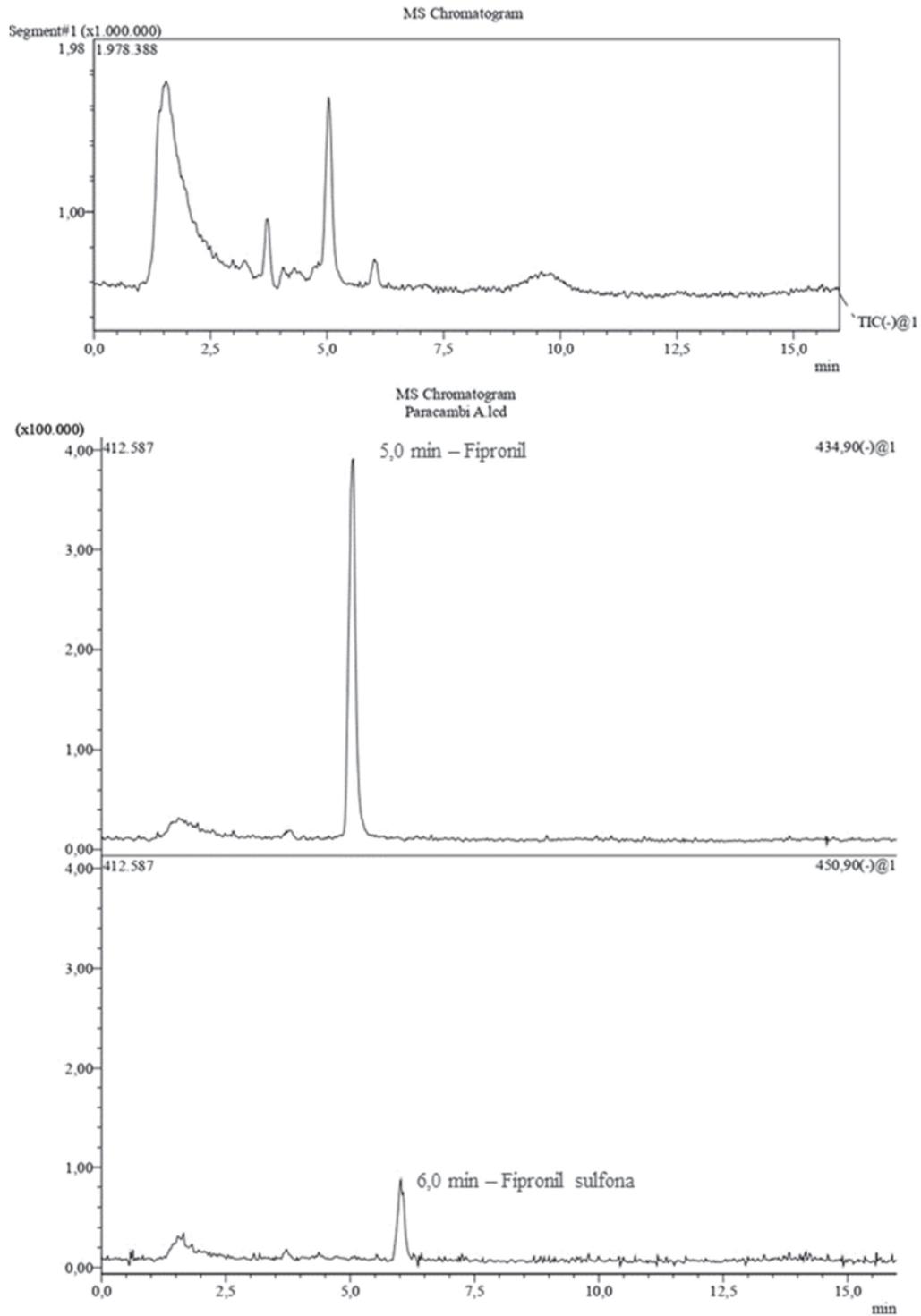


Figura 37 - Cromatograma (LC-ESI-MS) da amostra de água de superfície do ponto de amostragem do rio Guandu em Paracambi (P8GR-outono).