

RIZIA RODRIGUES SANTOS

**EXTRAÇÃO SÓLIDO – LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA
TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ
ORGANOCLORADOS EM LODO DE ESGOTO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal, área de concentração em Produção Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientadora: Prof.^a Gevany Paulino de Pinho

Montes Claros – MG

2015

RIZIA RODRIGUES SANTOS

**EXTRAÇÃO SÓLIDO – LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA
TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ
ORGANOCORADOS EM LODO DE ESGOTO**

Prof.^a Gevany Paulino de Pinho
Orientadora (ICA/UFMG)

Aprovada em 09 de outubro de 2015.

Montes Claros – MG
2015

Ao meu Deus, à minha família e
aos meus amigos, com todo
amor dedico.

AGRADECIMENTOS

Com alegria no meu coração, agradeço ao meu bondoso Deus por me conceder a graça de findar com êxito mais uma etapa da minha vida, pois sem Seu amor e Sua misericórdia, nada seria possível.

Aos meus pais, Maria Antônia e Joel, que como sempre, estiveram ao meu lado, me apoiando e me fazendo acreditar que era possível. Amo muito vocês! Aos meus irmãos Thalita, Jessé e Lucas pelo apoio e carinho incondicional. Aos demais familiares pelo apoio.

Aos professores Gevany Paulino e Flaviano Silvério pela orientação, pelos recursos e pela infraestrutura oferecida para a realização da presente pesquisa.

À amiga Ane Cacique, que me auxiliou na condução desta pesquisa, um grande exemplo profissional e uma pessoa de coração grandioso. Que Deus a recompense de maneira grandiosa! À irmã de coração que ganhei ao longo dessa caminhada, Natanny, que esteve comigo em todos os momentos dessa caminhada, tornando-a mais leve e divertida. Também às minhas companheiras Chris e Lud, por toda cumplicidade, amizade, carinho e por não medirem esforços para me ajudar. Saibam que não tenho palavras para externar toda minha gratidão por ter ganhado a amizade de vocês, meninas!

Às grandes amigas Naruna e Taty, que estiveram presentes, compartilhando as alegrias e as dificuldades do mestrado! Aos amigos do Laboratório de Pesquisa em Agroquímica, em especial, Érica, Paula, Polly, Manu, Alisson e Ana, pela ajuda, momentos vividos e amizade.

Aos meus amigos Gih, Evelyn, Giovanni, Jhow, Tércio, Emilly, Mizin, e Gabi, pelas orações, carinho, apoio incondicional e por compreenderem minha ausência em alguns momentos... Amo vocês! Aos amigos Pedro, Débora, Giovanna e Vitor, que apesar de distantes, estão sempre presentes.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de realização do mestrado e todos que de alguma forma contribuíram para a concretização dessa etapa, muito obrigada!

"Porque necessitais de paciência, para que, depois de haverdes feito a vontade de Deus, possais alcançar a promessa."

(Hebreus 10:36)

RESUMO

Os organoclorados são compostos bioacumuláveis e com alta toxicidade. Apesar de terem o seu uso banido devido à descoberta de seus impactos ambientais, traços desses compostos podem ser encontrados em diversas matrizes ambientais, entre elas, o lodo de esgoto. Das diversas formas de disposição final dada ao lodo de esgoto, a utilização na agricultura como condicionador de solos ou como fertilizante tem ganhado destaque, entretanto é necessária a quantificação dos contaminantes orgânicos passíveis de serem encontrados em sua composição, para eliminar os riscos de contaminação ambiental provenientes dessa atividade. A presente pesquisa teve por objetivo a otimização e a validação da técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT), para quantificação dos dez organoclorados em amostras de lodo de esgoto por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). A utilização do *liner* sem lã de vidro aumentou a intensidade dos sinais cromatográficos dos organoclorados de 9 a 120 vezes, além da detecção do END. O C18 foi o adsorvente mais eficiente na remoção dos interferentes. No estudo de níveis para tempo de fortificação das amostras antes da extração, não foram verificadas diferenças significativas após seis horas. Por isso foi selecionado o tempo mínimo de seis horas para fortificação. Os parâmetros de seletividade, exatidão e precisão foram atendidos para todos os organoclorados. Foi observada linearidade na faixa de concentração trabalhada apenas para ADL e END. O efeito de matriz foi significativo apenas para LND, HCB e HPT. Os limites de quantificação foram inferiores ao LMR da EPA.

PALVRAS-CHAVE: Poluentes orgânicos persistentes. Contaminantes ambientais. Otimização. Validação.

ABSTRACT

The organochlorine are compounds bioaccumulate and with high toxicity. Despite they have their use banned due to the discovery of their environmental impacts, traces of such compounds can be found in various environmental matrices, among them, the sewage sludge. From the various forms of final disposition given to sewage sludge, the use in agriculture as conditioner soil or as fertilizer has gained prominence, however is necessary the quantification of organic contaminants likely to be found in its composition to eliminate the risk of environmental contamination from this activity. The present research aimed at the optimization and validation of solid-liquid extraction technique with purification at low temperature (SLE-LTP), to quantification the ten organochlorines in sewage sludge samples by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The use of the liner without glass wool increased the intensity of the chromatographic signals of the organochlorines from 9 to 120 times, in addition to detection of the END. The C18 was the more efficient absorber in removing the interfering. In the study of levels to time of fortification of the samples prior to extraction, no significant differences were observed after six hours. Therefore it was selected the minimum time of six hours to the fortification. The selectivity parameters, accuracy and precision were met for all organochlorine. It was observed linearity in the concentration range worked only for ADL and END. The matrix effect was significant only for LND, HCB and HPT. The quantification limits were below the MRL of the EPA.

KEYWORDS: Persistent organic pollutants. Environmental contaminants. Optimization. Validation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

FIGURA 1-	Esquema da técnica ESL-PBT.....	34
GRÁFICO 1-	Representação dos resíduos da regressão da curva analítica do composto “Y”	38
GRÁFICO 2-	Representação da probabilidade normal da curva analítica do composto “Y”	39
QUADRO 1-	Técnicas de extração de organoclorados em diferentes matrizes ambientais relatadas na literatura corrente.....	30

CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ ORGANOCORADOS EM LODO DE ESGOTO

FIGURA 1-	<i>Liner</i> cromatográfico preenchido com lã de vidro.....	56
FIGURA 2-	Cromatogramas de íons totais da solução padrão de organoclorados em acetonitrila, na concentração de $500 \mu\text{g.L}^{-1}$	57
FIGURA 3-	Cromatogramas de íons totais de extratos de lodo de esgoto, submetidos à limpeza com diferentes adsorventes, na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$	59
FIGURA 4-	Cromatograma no modo MIS do extrato de lodo de esgoto, utilizando C18 na etapa de <i>clean up</i>	61
FIGURA 5-	Via metabólica de epoxidação do aldrin em dieldrin...	64
FIGURA 6-	Reação de desalogenação do DDT.....	65
FIGURA 7-	Cromatogramas no modo MIS dos extratos de lodo de esgoto obtidos após a ESL-PBT de amostra de lodo isenta (branco) e amostra de lodo de esgoto fortificada com dez organoclorados na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$	66
GRÁFICO 1-	Comparação das áreas cromatográficas de cada	

	organoclorado em extratos obtidos pela ESL-PBT sem <i>clean up</i> e com <i>clean up</i> utilizando C18.....	62
GRÁFICO 2-	Representação exploratórias dos resíduos da regressão das curvas dos dez organoclorados submetidos à ESL-PBT, após exclusão dos valores dispersos diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife, com $\alpha = 0,05$	70
GRÁFICO 3-	Probabilidade normal das curvas dos dez organoclorados em extrato de lodo após ESL-PBT....	72
GRÁFICO 4-	Curvas de dez organoclorados em extrato de lodo....	76
GRÁFICO 5-	Gráficos das curvas de calibração, obtidas na avaliação do efeito de matriz em extrato e solvente, nas faixas de concentração estudadas, com respectivas equações e coeficientes de determinação (R^2)	81

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1-	Propriedades físico-químicas dos organoclorados.....	21
2-	Concentrações máximas permitidas dos organoclorados em solos agrícolas, segundo a Resolução CONAMA n° 420.....	28
3-	Técnicas de extração de organoclorados em lodo de esgoto relatadas na literatura corrente.....	32

CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ ORGANOCORADOS EM LODO DE ESGOTO

1-	Tempo de retenção dos organoclorados e íons selecionados para análise no CG-EM em modo MIS.....	51
2-	Níveis de concentração de cada organoclorado para a avaliação da linearidade.....	53
3-	Níveis de concentração de cada organoclorado analisado para avaliação do efeito de matriz.....	54
4-	Média da porcentagem de recuperação da ESL-PBT, em função da influência do tempo de fortificação das amostras de lodo de esgoto.....	63
5-	Limites de quantificação dos dez organoclorados obtidos na ESL-PBT, de diferentes técnicas de extração em lodo de esgoto analisados por CG-EM e os limites máximos de resíduos permitidos (LMR).....	68
6-	Equações das curvas de calibração dos extratos de lodo de esgoto fortificados com organoclorados para ensaios de linearidade e seus respectivos coeficientes de determinação.....	69
7-	Representação da homogeneidade das variâncias dos resíduos da regressão das curvas da extração dos dez organoclorados analisados pelo teste de Levene modificado.....	73

8-	Representação da independência dos resíduos da regressão das curvas analíticas dos dez organoclorados pelo teste de Durbin-Watson.....	74
9-	Estatística da análise de variância da regressão para as curvas dos dez organoclorados analisados.....	77
10-	Avaliação da linearidade das curvas analíticas preparadas em extrato da matriz para os dez organoclorados analisados.....	78
11-	Avaliação da linearidade das curvas analíticas preparadas em acetonitrila para os dez organoclorados analisados.....	79
12-	Comparações entre as interseções e inclinações das curvas analíticas preparadas em extrato da matriz com as curvas analíticas preparadas em acetonitrila para os dez organoclorados analisados.....	80
13-	Exatidão e precisão do método para determinação dos dez organoclorados em lodo de esgoto.....	82
14-	Teste de média da porcentagem de recuperação, em função do dia de extração.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ALD	Aldrin
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
c-CLD	cis-Clordano
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
CV	Coefficiente de Variação
DCE	Detector de Captura de Elétrons
DDT	Dicloro-Difenil-Tricloroetano
DLD	Dieldrin
DMFS	Dispersão da Matriz em Fase Sólida
DPR	Desvio Padrão Relativo
EFP	Extração por Fluido Pressurizado
EFS	Extração em Fase Sólida
EFSC	Extração por Fluido Supercrítico
ELL-PBT	Extração Líquido-Líquido com Purificação em Baixa Temperatura
EM	Espectrometria de Massas
END	Endrin
EPA	Environmental Protection Agency
ESL-PBT	Extração Sólido-Líquido com Purificação em Baixa Temperatura
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EUA	Estados Unidos da América
FIG	Figura
HCB	Hexaclorobenzeno
HCH	Hexaclorocicloexano
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HPT	Heptacloro

INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade
ISO	International Standard Organization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de Detecção
LND	Lindano
LQ	Limite de Quantificação
MD	Multidimensional
MEFS	Microextração em fase sólida
MELLD	Microextração Líquido-Líquido Dispersiva
min	Minutos
MIS	Monitoramento de íon seletivo
MMQO	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
MRX	Mirex
PAC	Programa de Aceleração do Crescimento
POPs	Poluentes Orgânicos Persistentes
SAEG	Sistema de Análise Estatística
TAB	Tabela
<i>t</i> -CLD	<i>trans</i> -Clordano

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1.	INTRODUÇÃO.....	16
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Lodo de esgoto.....	18
2.2	Organoclorados.....	19
2.2.1	Aldrin, Dieldrin e Endrin.....	24
2.2.2	Clordano (<i>cis</i> e <i>trans</i>).....	24
2.2.3	Heptacloro.....	25
2.2.4	DDT.....	25
2.2.5	Hexaclorobenzeno e Lindano.....	25
2.2.6	Mirex.....	26
2.3	Riscos à saúde e ao meio ambiente.....	26
2.4	Concentrações máximas permitidas.....	27
2.5	Métodos de análise e extração de organoclorados.....	28
2.5.1	Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura....	33
2.6	Validação de métodos analíticos.....	35
2.6.1	Teste de Jacknife.....	37
2.6.2	Teste de Ryan-Joiner.....	38
2.6.3	Teste de Brown & Forsythe.....	40
2.6.4	Teste de Durbin-Watson.....	41
2.6.5	Teste de Efeito de matriz.....	41
2.6.6	Teste de Exatidão e precisão.....	42
3.	OBJETIVOS.....	43
3.1	Objetivo geral.....	43
3.2	Objetivos específicos.....	43

CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ ORGANOCLORADOS EM LODO DE ESGOTO

Resumo.....	44
Abstract.....	46

1.	INTRODUÇÃO.....	47
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1	Materiais.....	50
2.2	Equipamentos.....	50
2.3	Soluções Padrão.....	51
2.	Amostras de lodo de esgoto.....	52
2.	Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura....	52
2.	Validação.....	52
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1	Condições cromatográficas de análise.....	56
3.2	Otimização da ESL-PBT.....	57
3.2.1	Limpeza dos extratos.....	57
3.2.2	Tempo de fortificação.....	62
3.3	Validação.....	66
3.3.1	Seletividade.....	66
3.3.2	Limites de detecção e quantificação.....	66
3.3.3	Linearidade.....	69
3.3.4	Efeito de matriz.....	77
3.3.5	Exatidão e precisão.....	82
4.	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

O processo de tratamento do esgoto tem sido uma técnica empregada para remover substâncias (sólidos grosseiros e matéria orgânica) presentes no esgoto, que podem causar impactos ambientais aos cursos hídricos. Após o tratamento do esgoto, é obtido um sólido, denominado lodo de esgoto, que apresenta composição química muito complexa. A sua disposição final tem se tornado um dos principais problemas para as estações de tratamento de esgoto, uma vez que a maior parte delas não possui projeto de descarte seguro, o que é imprescindível, pois, devido à sua complexidade, o descarte de forma não planejada pode acarretar impactos ambientais.

Das disposições finais do lodo de esgoto, destaca-se a utilização, na agricultura, como complemento de fertilizantes ou condicionador de solos agrícolas, devido ao elevado conteúdo de nutrientes e de matéria orgânica. Entretanto, por ser uma matriz complexa, podem ser encontrados diversos contaminantes, tais como organoclorado. O uso indiscriminado do lodo de esgoto, sem monitoramento, pode levar à contaminação de solos, da água, das plantas e a entrar na cadeia alimentar.

Os inseticidas organoclorados fazem parte dos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), devido ao alto poder de bioacumulação, elevada estabilidade, grande tempo de persistência no ambiente, capacidade de transporte pela atmosfera e, principalmente, alta toxicidade. Esses produtos foram usados no passado no controle de insetos e de doenças agrícolas. Entretanto foram banidos, pois a contaminação humana por esses compostos pode causar graves problemas à saúde, como danos ao sistema nervoso, renal e endócrino.

O uso dos organoclorados na agricultura foi banido pela Convenção de Estocolmo, devido aos impactos ambientais causados (UNEP,

1997). Entretanto ainda são encontrados em diversas matrizes ambientais. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e a *Environmental Protection Agency* (EPA) estabelecem limites de concentração de alguns organoclorados para solo e lodo de esgoto, respectivamente.

A extração em Soxhlet é a técnica oficial de extração de organoclorados em matrizes sólidas (EPA, 2007). Porém é uma técnica muito laboriosa, pois demanda elevado tempo de execução e alto gasto com solventes. Por isso, novas técnicas de análise têm sido propostas para a obtenção de melhores resultados, obtidos de forma rápida, prática e econômica.

Nesse cenário, a técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) se destaca, atendendo às exigências. O princípio da técnica surgiu do trabalho de Anglin e Mckinley (1960) ao extraírem o DDT, que é um dos principais organoclorados, de vegetais. Nos últimos anos, a técnica apresentou várias modificações e tem se mostrado eficiente na extração de organoclorados, em diversas matrizes. A presente pesquisa visou otimizar e validar a técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT), para extração dos dez organoclorados em amostras de lodo de esgoto e quantificação por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Lodo de esgoto

O crescimento da população mundial e o aumento na geração de resíduos urbanos têm se tornado uma das principais preocupações ambientais na atualidade. A contaminação dos efluentes receptores de esgotos e águas residuais tem se tornado um problema de âmbito internacional (DANESHVAR *et al.*, 2012).

No processo de tratamento do esgoto, há a formação de um resíduo sólido chamado lodo de esgoto ou biossólido (MARIA *et al.*, 2007). A disposição final desse produto tem sido uma das maiores dificuldades encontradas, pois esses resíduos são produzidos em grandes volumes, e as estações de tratamento não possuem projetos adequados de descarte. Tal prática requer cuidados especiais que garantam o equilíbrio do meio ambiente e a preservação da saúde humana.

Das opções de disposição final tinham-se os aterros sanitários, incineração, conversão em óleo combustível, disposição no solo (*landfarming*), disposição oceânica, reutilização na indústria (fabricação de tijolos, produção de cimento, etc.) e uso agrícola (BETTIOL; CAMARGO, 2006). A disposição na agricultura é considerada mais promissora que a incineração e *landfarming* (ROIG *et al.*, 2012), pois as demais práticas são de custo elevado e/ou causam maiores danos ao meio ambiente (PIERZYNSKI, 1994), seu uso tem sido indicado para paisagismo, recuperação de áreas degradadas, silvicultura e agricultura em geral.

Na agricultura, o lodo de esgoto tem sido utilizado como fertilizante ou condicionador de solos agrícolas, devido ao elevado teor de material orgânico, que proporciona melhorias na textura do solo, bem como fonte de nutrientes essenciais às plantas, como nitrogênio e fósforo (JURADO-GUERRA *et al.*, 2013). Já há relatos de uso na agricultura para as culturas de arroz, aveia, trigo, pastagens, feijão, soja, girassol, café e

pêssego (BETTIOL; CAMARGO, 2006) em alguns países, como na Inglaterra e País de Gales, que tradicionalmente adotaram o uso do lodo de esgoto na agricultura como medida de disposição final (KELESSIDIS; STASINAKIS, 2012).

No Brasil, o uso do lodo de esgoto é proibido pela Resolução Conama n° 375, de 2006, em pastagens, em cultivo de olerícolas, em tubérculos, em raízes, em culturas inundadas e demais culturas cuja parte comestível entre em contato com o solo (BRASIL, 2006). Isso porque, no lodo de esgoto podem ser encontrados patógenos e contaminantes orgânicos e inorgânicos de diversas classes (HARRISON *et al.*, 2006). A presença dos contaminantes está relacionada à composição do esgoto, que, juntamente com o processo de tratamento, proporcionam composições complexas e heterogeneias ao lodo de esgoto, sendo necessário o conhecimento da sua composição química antes da aplicação no solo, evitando contaminação do solo e das plantas (ANDREOLI, 2009; SINGH; AGRAWAL, 2008). O desconhecimento dos efeitos de contaminação das plantas por substâncias químicas, decorrentes do uso de lodo de esgoto na agricultura, é o principal entrave para o seu uso, tornando-se necessário o monitoramento para realização dessa prática (BETTIOL; CAMARGO, 2006).

Alguns contaminantes químicos já foram quantificados no lodo de esgoto, como bifenilas policloradas (GUO *et al.*, 2009), compostos farmacêuticos (VOM EYSER *et al.*, 2015), compostos perfluorados (RUAN *et al.*, 2015), drogas ilícitas (GAGO-FERRERO *et al.*, 2015), estrogênios (VYMAZAL; BŘEZINOVÁ; KOŽELUH, 2015), ftalatos (SABLAYROLLES *et al.*, 2005), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (BARBOSA *et al.*, 2014; OLESZCZUK; ZIELINSKA; CORNELISSEN, 2014), metais pesados (COLLIN; DOELSCH, 2010), organobromados (GORGA *et al.*, 2013), organoclorados (LIU *et al.*, 2013) e policarbonatos (YU *et al.*, 2015).

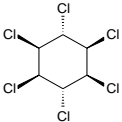
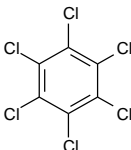
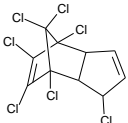
2.2 Organoclorados

Os organoclorados possuem como característica principal a presença de átomos de cloro, além do carbono e do hidrogênio na sua

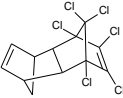
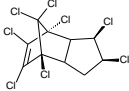
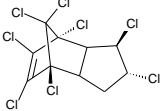
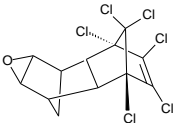
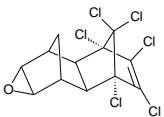
estrutura química. Sua alta estabilidade é conferida pela estruturação das moléculas, basicamente compostas por ligações de C-H, C-C e C-Cl, o que lhes atribui um tempo muito grande de degradação na natureza (BARBOSA, 2004). Suas propriedades físico-químicas estão descritas na TAB 1. Além disso, são compostos com características altamente tóxicas, são transportados pela atmosfera e depositados em locais de longo alcance (BOER; FIEDLER, 2013). Devido a essas características e à ação de bioacumulação na cadeia alimentar, os organoclorados são classificados como poluentes orgânicos persistentes (POPs).

TABELA 1

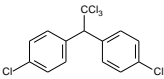
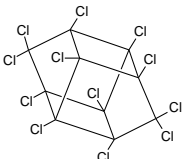
Propriedades físico-químicas dos organoclorados

Organoclorado	Estrutura química	Massa molar (g mol)	Solubilidade em H ₂ O (mg L ⁻¹)	Temperatura de ebulição (°C)	Pressão de vapor (mPa)	Coefficiente de adsorção (log K _{oc})	Coefficiente de partição-octanol-água (log K _{ow})	Meia-vida (dias)
Lindano ⁽⁵⁾		290,83	7,300 (20°C)	323,4	4,3 × 10 ⁻⁹ (20 °C)	-	3,20 – 3,70	>365 ⁽⁶⁾
Hexaclorobenzeno ⁽¹⁾		284,78	3,2 × 10 ⁻³ (20°C)	323-326	1,5 × 10 ⁻⁹ (20 °C)	2,56 - 4,54	3,03 - 6,42	365 - 7305 ⁽⁴⁾
Heptacloro ⁽⁷⁾		373,32	0,056 (25-29°C)	135 - 145	53,0 (25 °C)	4,38	4,40 - 5,5	210 - 730 ⁽⁶⁾

Continuação...

Aldrin ⁽⁷⁾		364,91	0,027 (27°C)	145	8,6 (20 °C)	2,61- 4,69	5,17 - 7,4	730 - 14245 ⁽²⁾
<i>cis</i> -Clordano ⁽¹⁾		409,78	0,056 (20°C)	175	$1,3 \times 10^{-9}$ (20 °C)	4,58 - 5,57	6,000	730 - 5479 ⁽²⁾
<i>trans</i> -Clordano ⁽¹⁾		409,78	0,056 (20°C)	175	$1,3 \times 10^{-9}$ (20 °C)	4,58 - 5,57	6,000	730 - 5479 ⁽²⁾
Dieldrin ⁽⁷⁾		380,91	0,186 (20°C)	330	0,4 (20 °C)	4,08 - 4,55	3,692-6,200	1095 - 1460 ⁽⁶⁾
Endrin ⁽⁷⁾		380,91	0,230 (25°C)	245	$2,0 \times 10^{-5}$ (20 °C)	5,34	3,209-5,339	4380 ⁽⁶⁾

Continuação...

DDT ⁽¹⁾		354,49	$5,5 \times 10^{-3}$ (25°C)	185	$2,1 \times 10^{-11}$ (20 °C)	5,15 - 6,26	4,890-6,914	395 - 1215 ⁽⁶⁾
Mirex ⁽⁷⁾		545,59	0,200 (24°C)	485	0,1 (20 °C)	5,28	3,763	4383 ⁽³⁾

Fonte: Adaptação de ⁽¹⁾UNEP (1998); ⁽²⁾Gaynor (2001), ⁽³⁾Fernícola (2002); ⁽⁴⁾Oliveira (2002); ⁽⁵⁾WHO (2004); ⁽⁶⁾Almeida *et al.* (2007); ⁽⁷⁾McBean(2012).

São conhecidos doze POPs: os inseticidas aldrin, dieldrin, endrin, clordano (*cis* e *trans*), DDT, heptacloro, mirex e toxafeno; os químicos de aplicação industrial, como as bifenilas policloradas (PCBs) e hexaclorobenzeno; os resíduos ou subprodutos não intencionais, como as dioxinas e os furanos (FERNÍCOLA; OLIVEIRA, 2002).

2.2.1 Aldrin, Dieldrin e Endrin

Entre as décadas de 1950 e 1970, aldrin e dieldrin foram amplamente utilizados como inseticidas de solo em diversas culturas alimentares, como milho e algodão, e em tratamento de sementes. Entretanto, seu uso era regulamentado pela *Environmental Protection Agency* (EPA) como cupinicida, formicida e no controle de insetos vetores (ATSDR, 2002; EPA, 2003).

Sobre condições ambientais, o aldrin é amplamente convertido em dieldrin por meio de processos biológicos e abióticos (EPA, 2003). O endrin teve sua fabricação a partir da década de 1950, nos Estados Unidos, e, como aldrin e dieldrin, foi utilizado até a década de 1970, no controle de *lepidoptera* em culturas de algodão, milho, cana-de-açúcar, arroz, dentre outras (WHO, 1991). Também era utilizado como avicida em pomares e rodenticida, em espécies florestais (EPA, 1973). Entretanto a sua principal entrada no ambiente era por meio das aplicações agrícolas (EPA, 1978). O endrin é considerado o composto de maior toxicidade do grupo dos organoclorados ciclodienos, ou seja, dos que apresentam em sua estrutura um composto cíclico oriundo da Síntese de Diels - Alder entre um dieno e um dienófilo (EPA, 1973).

2.2.2 Clordano (*cis* e *trans*)

O clordano é uma mistura composta das formas *cis* e *trans* (CETESB, 2012). A sua produção comercial iniciou no ano de 1947, nos Estados Unidos (WHO, 1988a). Durante a década de 1980, o uso do clordano era aprovado apenas como inseticida doméstico para o controle de cupins,

mas já havia sido utilizado em culturas agrícolas, gramados e jardins como fumigante (ATSDR, 1994).

2.2.3 Heptacloro

O uso do heptacloro se iniciou nos Estados Unidos, no ano de 1952, no controle de pragas agrícolas, com aplicação foliar e via solo, e no controle da malária e de pragas domésticas (WHO, 1988b; ATSDR, 2007).

2.2.4 DDT

O diclorodifenil-tricloroetano (DDT) teve a sua capacidade inseticida descoberta no ano 1939, e em 1942, passou a ser comercializado em grande escala (BARBOSA, 2004). Também foi utilizado no controle de insetos vetores de doenças durante a Segunda Guerra Mundial (WHO, 1979 e 1990). Em alguns países subdesenvolvidos, era utilizado no controle da malária (CLARKE *et al.*, 2010).

2.2.5 Hexaclorobenzeno e Lindano

Até 1965, o principal uso do hexaclorobenzeno era como fungicida, mas também era utilizado na indústria para fabricação de borracha, fogos de artifício e munições (EPA, 1992). Apesar de não ser mais produzido comercialmente, o hexaclorobenzeno é um subproduto na produção de hidrocarbonetos, produtos clorados no processo de combustão de resíduos urbanos (ATSDR, 2013).

O lindano é um dos isômeros do hexaclorocicloexano (γ -HCH) que foram amplamente utilizados como inseticida em culturas agrícolas, em animais e em instalações agrícolas. Apesar de ter a sua fabricação suspensa na década de 1970, era possível encontrar esse produto na formulação de medicamentos prescritos para tratamento de sarna e piolho humano (ATSDR, 2005).

2.2.6 Mirex

O mirex era aplicado como inseticida para controle de formigas de fogo (*Solenopsis invicta*), além de ser utilizado como aditivo na indústria de plástico, borracha, tinta, papel e produtos elétricos (ATSDR,1995). Foi amplamente utilizado nos países da América do Sul e na África do Sul (ORRIS *et al.*, 2000).

2.3 Riscos à saúde e ao meio ambiente

Os organoclorados são considerados os principais fatores de poluição ambiental e humana da atualidade (MOSTAFALOU; ABDOLLHI, 2013). Os organoclorados, ao entrarem em contato com o solo, podem ser lixiviados, gerando impactos ambientais (APARICIO *et al.*, 2009). Para avaliar a contaminação ambiental, várias matrizes têm sido estudadas, tais como sedimentos marinhos (VAGI *et al.* 2007), plantas (SOJINU *et al.* 2012), espécies aquáticas (AEL *et al.*, 2013), partículas atmosféricas (BECOUZE *et al.*, 2011), água (CORTADA *et al.*, 2009), dentre outros.

A associação dos organoclorados ao lodo de esgoto ocorre no processo de tratamento do esgoto, na fração sólida suspensa, durante a sedimentação de partículas grosseiras. Isso ocorre devido à característica hidrofóbica desses compostos, que, conseqüentemente, tendem a adsorver nessas partículas (SAITO, 2007; SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2008).

Em trabalho recente, foi observado que frutos de tomate cultivados em solos poluídos com clordano não foram contaminados, diferentemente dos frutos de abobrinha, que foram altamente afetados (CABIDOCHÉ; LEUSUEUR-JANNOYER, 2012). O risco de contaminação da população que se alimenta com vegetais contaminados por organoclorados é advindo de sua estabilidade e não-biodegradação ao longo do tempo (SHEN; XIA; DAI, 2013).

A intoxicação humana por organoclorado pode gerar sérios problemas à saúde, causando danos ao sistema nervoso central e ao sistema de defesa do organismo, acarretando lesões hepáticas e renais (FLORES *et al.*, 2004). Os compostos lindano, hexaclorobenzeno e dieldrin podem ocasionar alterações no sistema linfático (MICHAŁOWICZ, 2013). A exposição ao hexaclorocicloexano e mirex está associada ao risco de endometriose (UPSON *et al.*, 2013). A intoxicação crônica com clordano pode provocar perturbações neuroelétricas (HYDE; FALKENBERG, 1976). Ainda, doenças como comprometimento das funções intelectuais em crianças (ABELSOHN *et al.*, 2002), diabetes (LEE *et al.*, 2007) e hipertensão (HÁ *et al.*, 2009) são relatadas como consequência da intoxicação por organoclorados.

No Brasil, há relatos de áreas contaminadas em aterros (FILHO *et al.*, 2003) e planícies costeiras (NASCIMENTO *et al.*, 2004). Na cidade de Paulínia-SP, a empresa Shell é responsável pela contaminação do solo e lençol freático, devido a vazamento de aldrin, endrin e dieldrin da sua produção (ALMEIDA *et al.*, 2007). Em Duque de Caxias-RJ, no bairro Cidade dos Meninos, a contaminação ocorreu devido ao abandono de cerca de 400 t de hexaclorobenzeno, produzidos pelo Instituto de Malariologia, vinculado ao Ministério da Saúde (KOIFMAN *et al.*, 2008).

2.4 Concentrações máximas permitidas

Por meio da Convenção de Estocolmo, os POPs tiveram o uso banido na agricultura (UNEP, 1997). Em alguns países, como a Jordânia, a comercialização e o uso de organoclorados pertencentes ao grupo dos POPs já haviam sido proibidos desde a década de 1980 (AHMAD *et al.*, 2010).

No cenário mundial, algumas leis foram criadas para regulamentar o uso do lodo de esgoto. Dentre essas, destaca-se a Lei de Proteção ao Ambiente de 1970 (*Environment Protection Act*, 1970), na Austrália, que estabelece medidas a respeito das descargas seguras do bio-sólido no meio ambiente (EPA VICTORIA, 2004). No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) regulamenta o uso do lodo de esgoto

na agricultura, por meio da Resolução n° 375, de 2006, vigente até o presente momento. Entretanto, nela não são estabelecidos limites máximos de resíduos (LMR) para organoclorados em lodo (BRASIL, 2006). Na Resolução n°420, de 2009, são encontrados LMR para solo em áreas agrícolas (BRASIL, 2009) (TAB. 2).

TABELA 2

Concentrações máximas permitidas dos organoclorados em solos agrícolas segundo a Resolução CONAMA n° 420

Organoclorados	Agrícola APMax* (mg kg⁻¹ de peso seco)
Aldrin	0,003
Aldrin + Dieldrin	-
Clordano	-
DDT	0,550
DDT+DDD+DDE	-
Dieldrin	0,200
Hexaclorobenzeno	
Endrin	0,400
Lindano	0,001

Fonte: Adaptada da Resolução CONAMA n° 420, de 2009 (BRASIL, 2009)

Nota: *APMax - Área de Proteção Máxima .

2.5 Métodos de análise e extração de organoclorados

Para a determinação de contaminantes orgânicos em baixos níveis de concentração em amostras ambientais, é necessária a realização da extração dos analitos da matriz, purificação dos extratos (*clean up*), identificação e quantificação (QUEIROZ *et al.*, 2009). A identificação e a quantificação de organoclorado podem ser feitas pela cromatografia gasosa (CG), utilizando detector de captura de elétrons (DCE) (BOER; BLOK; BALLESTEROS-GÓMEZ, 2014; WU *et al.*, 2015) e espectrômetro de massas

(EM) (ARNHOORN *et al.*, 2015. SURMA; SADOWSKA-ROCIK; CIEŚLIK, 2014) e pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) se o detector de arranjo de díodos (PADRON, RODRIGUEZ, 2006) e ultravioleta (UV) (JANI *et al.*, 1991; MORENO; FERRERA; RODRIGUEZ, 2006).

A extração dos organoclorados em matrizes ambientais pode ser feita utilizando-se diversos métodos analíticos, como a extração em fase sólida, dispersão da matriz em fase sólida, microextração por fase sólida, microextração líquido-líquido dispersiva, extração assistida por micro-ondas, soxhlet, ultrassom, extração por fluido pressurizado, extração por fluido supercrítico e microextração em gota suspensa (QUADRO 1). Na extração em fase sólida (EFS), ocorre a separação do analito de interesse contido no extrato por eluição em cartuchos contendo sorventes, onde o analito permanece retido e é retirado com um solvente em que ele possui afinidade (SCHEURER; BRAUCH; LANGE, 2009). Já a dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) consiste na mistura da matriz da amostra com um material de suporte sólido num almofariz. A amostra é totalmente triturada e há formação de uma fase, que é eluída em coluna para separação dos analitos (TADEO *et al.*, 2010). Na microextração por fase sólida (MEFS), a extração e a pré-concentração dos analitos ocorrem em bastão de fibra ótica, de tamanho reduzido, recoberto com solvente. A extração ocorre mergulhando o bastão recoberto na amostra. Ocorre a migração e concentração dos analitos de interesse da matriz para o solvente no bastão (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

QUADRO 1

Técnicas de extração de organoclorados em diferentes matrizes ambientais descritas na literatura corrente

Matriz	Técnica de extração
Água	Microextração líquido-líquido dispersiva ⁴ , Microextração em gota suspensa ⁹ , Extração em fase sólida ¹⁰ , Microextração em fase sólida ¹²
Sedimentos	Micro-ondas ¹ , Ultrassom ¹³
Solo	Micro-ondas ² , Extração por fluido pressurizado ³ , Soxhlet ⁷ , Ultrassom ⁷ , Microextração em fase sólida ¹⁴ , Dispersão da matriz em fase sólida ¹¹
Vegetais	Microextração líquido-líquido ⁵ , Dispersão da matriz em fase sólida ⁸ , Extração por fluido supercrítico ⁶

Fonte: Adaptado de ¹ Silgoner *et al.* (1998); ² Concha-Graña *et al.* (2003); ³ Concha-Graña *et al.* (2004); ⁴ Cortada *et al.* (2009); ⁵ Bedendo, Carasek (2010); ⁶ Quan *et al.* (2010); ⁷ Quinete *et al.* (2011); ⁸ Vazquez-Quintal *et al.* (2012); ⁹ Rajabi (2015); ¹⁰ Yazdanfar; Yamini, Ghambarian (2014); ¹¹ Pham; Phan, Nguyen (2014); ¹² Dias *et al.* (2015); ¹³ Yang *et al.* (2015); ¹⁴ Zhao *et al.* (2015).

A microextração líquido-líquido dispersiva (MELLD) utiliza microlitros de um solvente orgânico como fase extratora. A fase de extratora é misturada com dispersor e colocada na amostra, gerando turbulência, o que forma pequenas gotículas dispersas ao longo da amostra aquosa. Forma-se uma solução turva, e o estado de equilíbrio é alcançado e os analitos são separados (REZAEI; YAMINI; FARAJI, 2010).

Na extração assistida por micro-ondas, diferentes substâncias químicas absorvem em diferentes extensões de ondas transmitidas, devido às suas propriedades dielétricas. Em amostras que contenham várias espécies químicas dispersas num ambiente homogêneo, é possível produzir um aquecimento seletivo de componentes da amostra, proporcionado a separação (ESKILSSON; BJÖRKLUND, 2000).

Para a extração em soxhlet, a amostra é colocada em um dedal, e o solvente extrator é condensado a partir de um balão de destilação até atingir o nível de transbordamento. Quando isso ocorre, o solvente passa pelo dedal, lavando a amostra e volta para o balão de destilação, levando os analitos extraídos a uma cuba, sendo esse processo repetido até se conseguir a extração completa (CASTRO; GARCIA-AYUSO, 1998).

Durante a extração por ultrassom, há formação de ondas que acarretam em implosões de bolhas de cavitação, que, na superfície da amostra, fazem com que esse choque resulte em erosão e na desagregação das partículas. Esse efeito proporciona uma exposição de novas superfícies, liberando o analito de interesse (VILKHU *et al.*, 2008).

No processo de extração por fluido supercrítico (EFSC), é empregada a temperatura para aumentar a capacidade de extração do solvente, que é disperso no sistema, atingindo equilíbrio termodinâmico (OLIVEIRA; SILVESTRE; SILVA, 2011). Quando empregada a extração por fluido pressurizado (EFP), são utilizados solventes líquidos à temperatura e pressão elevadas, que melhoram o desempenho da extração (MUSTAFA; TURNER, 2011). Na microextração por gota suspensa (MEGS), ocorre a concentração dos analitos orgânicos, utilizando-se uma gota de solvente orgânico suspenso, a partir da ponta de uma agulha de seringa, o qual é imerso na amostra colocado e colocado em frasco fechado (FRAGUEIRO; LAVILLA; BENDICHO, 2006).

As técnicas oficiais para extração de organoclorados de amostras sólidas recomendadas pela EPA são: soxhlet, extração de fluido pressurizado, extração em micro-ondas, extração em ultrassom e extração com fluido supercrítico (EPA, 2007).

Os métodos de análise desenvolvidos para a determinação de agrotóxicos no lodo de esgoto e relatados na literatura científica disponível se concentraram, principalmente, na determinação de organoclorados (TADEO *et al.*, 2010). Dentre as técnicas de extração mais utilizadas, destaca-se a soxhlet, porém é uma técnica muito laboriosa, pois demanda elevado tempo de execução, alto gasto com solventes, baixa frequência analítica e geração de resíduos. Entretanto novas técnicas são estudadas para a extração de

contaminantes em amostras sólidas ou semi-sólidas (ZULOAGA *et al.*, 2012). Para o lodo de esgoto, essas técnicas analíticas estão descritas na TAB 3.

TABELA 3

Técnicas de extração de organoclorados em lodo de esgoto relatadas na literatura corrente

Técnica de extração	Quantidade de amostra (g)	Quantidade de solvente (mL)	Tempo de execução (horas)	Referência
DMFS	3	3 – 6	0,1	Sánchez-Brunete; Miguel; Tadeo (2008)
EFP	1- 5	11 - 60	20	Helaleh <i>et al.</i> (2005); Al-Rashdan <i>et al.</i> (2010); Liu <i>et al.</i> (2013)
EFSC	3	-	0,5	Berset; Holzer (1999)
Soxhlet	2,5	150 - 200	16 - 24	Falandysz; Strandberg (2004); Helaleh <i>et al.</i> (2005); Ju <i>et al.</i> (2009)
Soxtec	2,5	50	3	Helaleh <i>et al.</i> (2005)
Ultrassom	1,0	45 - 60	0,3 - 1	Lega <i>et al.</i> (1997); Katsoyiannis; Samara (2004); Wang <i>et al</i> (2007)

Notas: DMFS: Dispersão da matriz em fase sólida, EFP: extração por fluido pressurizado; EFSC: extração por fluído supercrítico.

A maioria das técnicas de extração baseadas na extração sólido-líquido em lodo de esgoto não é seletiva, tornando-se necessária a limpeza dos extratos. Para isso, técnicas como extração em fase sólida, fase normal, reversa, mistura de adsorventes e extração de permeação em gel são empregadas (ZULOAGA *et al.*, 2012). Para o *clean up* de extratos de lodo de esgoto contendo organoclorado é comum utilizar o adsorvente C18 (BERSET;

HOLZER, 1999; S'ANCHEZ-BRUNETE, 2008) e mistura dos adsorventes sílica e alumina (HELALEH, 2005; STEVENS, 2003).

2.5.1 Extração sólido - líquido com purificação em baixa temperatura

A extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) é baseada no princípio proposto por Anglin e Mckinley (1960), que empregaram a purificação em baixa temperatura para análise de DDT em extratos de plantas. Os autores utilizaram a acetona como solvente extrator a uma temperatura de congelamento de -70°C . A técnica foi novamente empregada por Mcculley e Mckinley (1964) para a análise de organoclorados em óleo. Em 1997, Juhler congelou amostras de carne e gorduras a -10°C para análise de organofosforados em carne e em gorduras. No ano de 2001, Lentza-Rizos, Avramides e Cherasco otimizaram a técnica como alternativa na extração de organoclorados organofosforados em azeite por precipitação em baixa temperatura. Em 2004, Goulart otimizou e validou a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides no leite.

A ESL-PBT ou ELL-PBT é uma técnica de fácil execução, que consiste em colocar a amostra líquida ou sólida em contato com solvente menos denso que a água e com ponto de fusão abaixo de -20°C . A escolha do solvente extrator é baseada na polaridade do composto de interesse de extração (analíto). Depois da adição do solvente extrator e da água à amostra, o sistema é agitado e levado ao refrigerador (FIG. 1). Após um determinado período, a fase é congelada com a amostra. O extrato orgânico é secado com sulfato de sódio e analisado por cromatografia (PINHO *et al.*, 2010a).



FIGURA 1 – Esquema da técnica ESL-PBT: 1) Amostra de lodo de esgoto contendo organoclorados e interferentes da matriz; 2) Adição da fase extratora (solvente orgânico + água) para extração dos organoclorados; 3) Homogeneização do sistema; 4) O sistema é colocado em repouso e os organoclorados migram para o solvente orgânico; 5) Congelamento do sistema para a separação do extrato (solvente orgânico + organoclorados); 6) Após o congelamento, é feito o recolhimento do extrato; 7) O extrato obtido é levado para a análise cromatográfica

A ESL-PBT mostrou-se promissora na análise de organoclorados em leite (GOULART *et al.*, 2008), tomate (PINHO *et al.*, 2010), água (GOULART *et al.*, 2010; SILVÉRIO *et al.*, 2012; VIEIRA *et al.*, 2007), batata (RIGUEIRA *et al.*, 2013), abacaxi (MORAIS *et al.*, 2014), grão de milho (FREITAS *et al.*, 2014), morango (HELENO *et al.*, 2014), ovos de crocodilo (SOUSA *et al.*, 2014), alface (COSTA *et al.*, 2015) e solo (PASSOS *et al.*, 2015). Também tem se demonstrado promissora na química forense (FRANÇA *et al.*, 2015). Recentemente foi empregada para quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e clorobenzenos em lodo de esgoto (BARBOSA *et al.*, 2014; PINHO *et al.*, 2014).

2.6 Validação de métodos analíticos

O processo de validação consiste no estabelecimento de limites que confirmem à técnica estudada aplicabilidade ao longo de sua execução. Para a obtenção desses limites, são aplicadas figuras de mérito que garantam qualidade nas medidas instrumentais e confiabilidade estatística dos cálculos (RIBEIRO; FERREIRA, 2008). A validação é uma etapa de estudo exigida para os métodos não normalizados, métodos criados e/ou desenvolvidos pelo próprio laboratório, métodos normalizados usados fora dos escopos para os quais foram concebidos, ampliações e modificações de métodos normalizados (INMETRO, 2011).

No estudo da validação, é necessário que os dados analisados sejam representativos e as concentrações estudadas sejam adequadas ao tipo de amostra avaliada (RIBANI *et al.*, 2004). Para que isso aconteça, há agências que sugerem roteiros de validação, como a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC) e a Organização Internacional de Normalização (ISO), dentre outras. As agências disponibilizam protocolos que reconhecem a aptidão do laboratório em fornecer dados de alta qualidade e a confiabilidade da técnica de análise empregada laboratório (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) são responsáveis pela disponibilidade desses protocolos.

O processo de validação pode ser feito interlaboratorial, quando a metodologia desenvolvida é validada em laboratório externo àquele que a desenvolveu, ou no próprio laboratório que desenvolveu a metodologia (*in-house*). Esse último é de suma importância, pois corrige erros referentes a parâmetros de desempenho, assegurando a viabilidade do método (SOUZA; PINTO; JUNQUEIRA, 2007).

Com o objetivo de fornecer uma verificação básica de pressupostos livres de erros, várias figuras de mérito são empregadas

(THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Dentre elas, destacam-se seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, exatidão e precisão (INMETRO, 2010; RIBANI *et al.*, 2004). Para matrizes complexas, também é feito o parâmetro de efeito de matriz.

A validação de um método analítico está relacionada ao seu desenvolvimento metodológico no laboratório. Ao longo das etapas, alguns parâmetros já são avaliados ou adquire-se um conjunto de experiências capaz de avaliar parâmetros (HOLCOMBE *et al.*, 1998). É o caso da seletividade e dos limites (LD e LQ). A seletividade de um método é dada pela capacidade de distinguir analitos um dos outros, obtendo resposta que se distingue de todas as outras (TAVERNIERS; LOOSE; BOCKSTAELE, 2004). O LD consiste na menor concentração possível de ser detectada, porém não é possível a sua quantificação. O LQ representa a menor concentração possível de ser quantificada. Os dados de LD e LQ podem ser obtidos com base na avaliação visual, na relação sinal/ruído, no desvio padrão da resposta e da inclinação, no desvio padrão do branco e na curva de calibração (ICH, 1995).

A linearidade é a capacidade do método em obter resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito dentro de um determinado intervalo de concentração (SHABIR, 2003). O modelo linear de resposta é obtido quando, na análise de regressão do sinal analítico (Y) em função da concentração do analito (C) estabelecido na curva analítica, produz resposta esperada (GONZÁLEZ; HERRADOR, 2007). Porém a equação produzida pela regressão dos dados não é suficiente para averiguar a linearidade, fazendo-se necessária a utilização do método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) no auxílio. Para aceitar o modelo de regressão, tal como o MMQO, o padrão de resíduos deve ser homogêneo, distribuição normal e independente (HUBERT *et al.*, 1999). Para isso, são empregados os testes de Jackknife, teste de Ryan-Joiner, teste de Brown & Forsythe – Levene modificado (homoscedasticidade) e teste de Durbin-Watson. A ausência desses pressupostos pode acarretar na ineficiência do MMQO e em inferências incorretas.

2.6.1 Teste de Jacknife

O desacordo dos dados ao modelo de regressão montado pode ser decorrente de diversas situações, dentre elas, erros grosseiros nas variáveis, quer de resposta ou explicativas; inadequação ao modelo linear para descrever a estrutura sistemática dos dados; desajuste na escala de análise dos dados; a distribuição de erro para a variável resposta pode ser consideravelmente maior do que a distribuição normal. Desse modo, a utilização do MMQO, o melhor método de fixação do modelo (ATKINSON *et al.*, 1984). No MMQO é feita a observação visual da distribuição univariada de cada variante para ver se há alguma estranheza (*outliers*) e são examinados os diagramas de dispersão dos resíduos (BELSLEY; KUH; WELSCH, 1980).

O teste de Jacknife (QUENOUILLE, 1956) para resíduos padronizados avalia a dispersão dos resíduos, permitindo a exclusão sucessiva até que não haja mais dados discrepantes, respeitando-se o limite máximo de exclusão de 22, 2% dos dados originais (HORWITZ, 1995). Não é permitida a exclusão de todo um nível de concentração, devendo permanecer ao menos uma repetição em cada nível (BAZILIO *et al.*, 2012).

A estatística do teste de Jacknife é dada pela análise do resíduo padronizado de Jacknife (J_{ei}), calculado, utilizando-se a seguinte equação:

$$J_{ei} = r_i \sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-r_i^2}}$$

Onde o resíduo padronizado (r_i) é dado por $r_i = e_i/S_{ei}$, (e_i = erro absoluto, S_{ei} = erro padrão do resíduo), p = número de parâmetros do modelo e n = número de pontos da curva analítica (SOUZA, 2007). No gráfico representativo dos resíduos da curva analítica de um dado composto “Y” submetido ao teste de Jacknife (GRAF. 1), as linhas pontilhadas horizontais correspondentes a $\pm t_{(1-\alpha/2; n-2)} S_{res}$ indicam a faixa de variação

aceitável para os resíduos da regressão representados no gráfico (SOUZA, 2007), sendo s_{res} o desvio padrão dos resíduos da regressão. Os *outliers* diagnosticados pelo teste encontram-se fora desse limite padronizado.

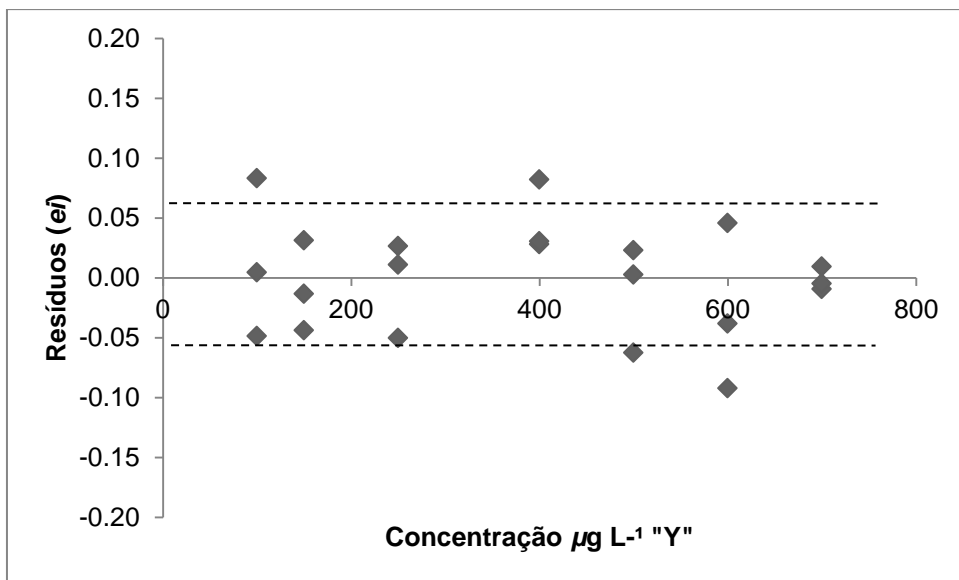


GRÁFICO 1 – Representação dos resíduos da regressão da curva analítica do composto "Y"

2.6.2 Teste de Ryan-Joiner

Outro parâmetro que é estudado para verificar a adequação do modelo linear a uma curva analítica é a normalidade. Para isso pode ser aplicado o teste de Ryan-Joiner (RYAN; JOINER, 1976), utilizando o coeficiente de correlação de Ryan-Joiner (R_{eq}). Quando coeficientes de correlação calculados são maiores que os valores críticos estabelecidos para esses coeficientes, os resíduos seguem distribuição normal (SOUZA, 2007), ou seja, os desvios da normalidade não são significativos (GRAF. 2).

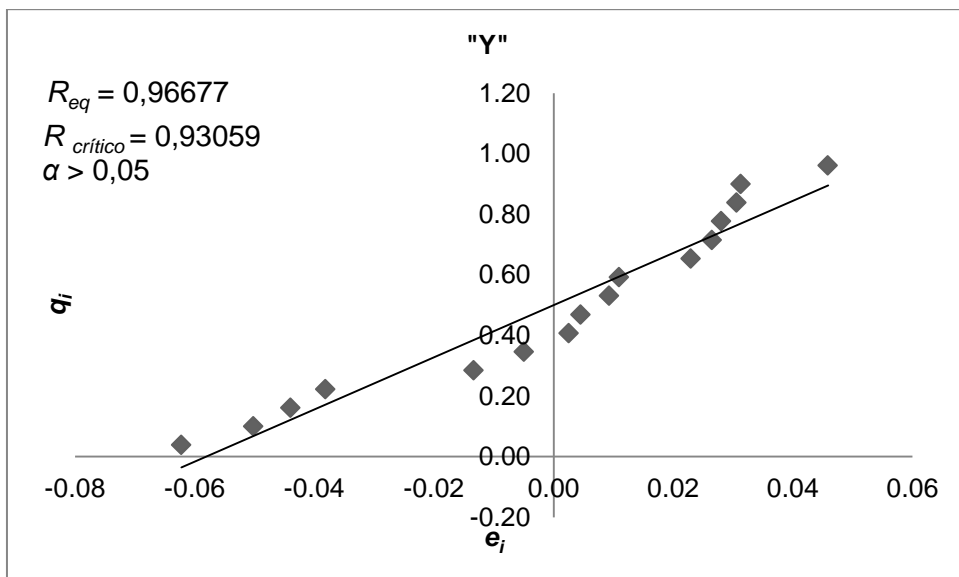


GRÁFICO 2 – Representação da probabilidade de distribuição normal da curva analítica do composto “Y”.

Os resíduos são organizados em ordem crescente. Um gráfico dos valores dos resíduos ordenados e_i e versus os valores dos percentis estimados para uma distribuição normal reduzida q_i (quantis normais – valor normal esperado) é construído (BAZILIO *et al.*, 2012). Os quantis normais são obtidos pela equação:

$$q_i = \varphi^{-1} \left\{ \frac{i - 3/8}{n + 1/4} \right\} \quad i = 1, \dots, n$$

Sendo φ^{-1} inverso de uma função de distribuição normal padrão. Assim, temos que O coeficiente de correlação (R_{eq}) entre i e q_i , que é calculado pela equação:

$$R_{eq} = \frac{S_{eq}}{\sqrt{S_{ee} - S_{qq}}}$$

Do qual S_{eq} é a somatória dos produtos cruzados de e (resíduos da linearidade) e q (quantis), S_{ee} é a soma dos quadrados dos desvios da média de e , e, por fim, S_{qq} , a soma dos quadrados dos desvios da média de q (BAZILIO *et al.*, 2012). Já o coeficiente de correlação crítico para gráficos de probabilidade normal em nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$) pode ser obtido por interpolação polinomial (SOUZA, 2007), pela equação:

$$R_{crit(n)} \approx 1,0063 - \frac{0,1288}{\sqrt{n}} - \frac{0,6118}{n} + \frac{1,3505}{n^2}$$

2.6.3 Teste de Brown & Forsythe – Levene modificado

A verificação da homogeneidade dos resíduos é feita pelo teste de Levene (LEVENE, 1960), modificado por Brown e Forsythe (1974). Nele, os resíduos são intercalados em dois grupos distintos, sem promover a separação de repetições do mesmo nível, para os cálculos das medianas dos resíduos de cada grupo (\tilde{e}_1 e \tilde{e}_2), o valor absoluto das diferenças entre os resíduos e as medianas dos respectivos grupos ($d_{1j} = |\tilde{e}_1 - e_{1j}|$ e $d_{2j} = |\tilde{e}_2 - e_{2j}|$), a média das diferenças d_k e a soma dos quadrados dos desvios SQD_k dos valores d_{kj} de cada k grupo (BAZILIO *et al.*, 2012). O F de Levene (F_L) é a estatística desse teste, mas, no caso de 2 grupos, ou seja, 1 grau de liberdade de tratamentos, em que $t = \sqrt{F}$ pode-se calcular a estatística t de Levene (t_L). Quando a estatística t_L calculada for maior que o t crítico $t_{(1-\alpha/2; n_1+n_2-2)}$, não há homoscedasticidade. Calcula-se o t_L pela equação:

$$t_L = \frac{(\bar{d}_1 - \bar{d}_2)}{\sqrt{(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2})S_p^2}}$$

Considera-se d_k = média dos módulos das diferenças entre o j -ésimo resíduo, a mediana de cada grupo $k = 1$ e $k = 2$; n_k = número de observações em cada grupo e a variância combinada (s_p^2) (SOUZA, 2007).

2.6.4 Teste de Durbin-Watson

O teste de Durbin-Watson avalia se os resíduos são independentes (DURBIN; WATSON, 1951). A estatística do teste (d) é definida pela equação:

$$d = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2}$$

Há dois limites críticos d_L (limite inferior) e d_U (limite superior). Se o valor de d estiver entre esses dois limites, o teste não tem conclusão. Valores de $d < d_L$ indicam autocorrelação e os resíduos não são independentes a um nível de significância de 2α , enquanto valores de $d > d_U$ indicam independência dos resíduos e não há autocorrelação entre os resíduos. Nesse último, o resultado é ideal (SOUZA, 2007). Calculam-se d_L e d_U para $\alpha=0,05$ pelas seguintes equações:

$$d_L = 1,9693 - \frac{2,8607}{\sqrt{n}} - \frac{3,4148}{n} - \frac{16,6400}{n^2}$$

$$d_U = 1,9832 - \frac{3,0547}{\sqrt{n}} - \frac{1,3862}{n} - \frac{16,3662}{n^2}$$

2.6.5 Efeito de matriz

Efeito de matriz é o nome dado às mudanças que o analito sofre em sua resposta cromatográfica devido aos componentes da matriz quando essa é uma matriz complexa, podendo provocar taxas de recuperação acima

de 100% (HAJŠLOVÁ *et al.*, 1998). Para a determinação do efeito de matriz, é utilizado o teste F , que caracteriza a homogeneidade das variâncias das curvas do padrão preparado na matriz e no solvente, e o teste t , que comprova o efeito de matriz. A estatística do teste F é descrita por:

$$F = \frac{S_{res1}^2}{S_{res2}^2}$$

Tem-se: 1 = variância maior, e 2 = variância menor. $F_{crítico}$ por $F_{(1-\alpha/2;n1-2;n2-2)}$. Para o teste t , são utilizadas as seguintes equações:

$$t'_a = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{\frac{S_{res1}^2 \sum x_1^2}{n_1 S_{xx1}} + \frac{S_{res2}^2 \sum x_2^2}{n_2 S_{xx2}}}} \quad e \quad t'_b = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{\frac{S_{res1}^2}{n_1 S_{xx1}} + \frac{S_{res2}^2}{n_2 S_{xx2}}}}$$

Dado $t_{crítico}$ por $t_{(1-\alpha/2;n1+n2-4)}$.

2.6.6 Exatidão e precisão

A exatidão do método é um parâmetro de fundamental importância, pois está diretamente relacionada às características quantitativas (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Ela pode ser avaliada por experimentos de fortificação/recuperação. A precisão, por sua vez, garante a qualidade na quantificação do método final, podendo ser trabalhada em três níveis: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade (RIBANI *et al.*, 2004). É avaliada pelo cálculo do desvio padrão relativo (DPR):

$$DPR(\%) = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

S é o desvio padrão absoluto, e \bar{X} , a média do determinado grupo de dados avaliados.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Otimizar e validar a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura para quantificação de dez organoclorados em amostras de lodo de esgoto.

3.2 Objetivos específicos

- Estabelecer as condições de análise simultânea dos organoclorados: aldrin, dieldrin, endrin, lindano, clordano (*cis* e *trans*), heptacloro, DDT, mirex e hexaclorobenzeno por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).
- Otimizar a quantificação dos multirresíduos em amostras de lodo fortificados, empregando-se a técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT).
- Validar a metodologia otimizada.

CAPÍTULO 2 – EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PURIFICAÇÃO EM BAIXA TEMPERATURA: UMA TÉCNICA EFICIENTE PARA A EXTRAÇÃO DE DEZ ORGANOCORADOS EM LODO DE ESGOTO

RESUMO

Lodo de esgoto é um resíduo sólido gerado nas estações de tratamento de esgotos. Esse material pode ser utilizado como complemento de fertilizantes ou condicionador de solos agrícolas, devido ao elevado conteúdo de matéria orgânica. Entretanto essa prática pode levar à contaminação e à acumulação de organoclorado em solos, água, plantas e à sua entrada na cadeia alimentar. Esta pesquisa teve como objetivo a otimização e validação da metodologia de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) de dez organoclorados, sendo eles: aldrin (ALD), dieldrin (DLD), endrin (END), lindano (LND), *cis*-clordano (*c*-CLD), *trans*-clordano (*t*-CLD), hexaclorobenzeno (HCB), heptacloro (HPT), DDT e mirex (MRX), em amostras de lodo de esgoto e, posteriormente, análise por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Na otimização da técnica, foram avaliados os parâmetros tempo de fortificação e *clean up* dos extratos. Os resultados revelaram que o tempo ideal de fortificação foi de seis horas e o *clean up* utilizando o adsorvente C18 resultou em extratos com menos interferentes nas análises cromatográficas. Na etapa de validação, foi observada linearidade na faixa de concentração trabalhada apenas para ADL e END. O efeito de matriz foi significativo apenas para LND, HCB e HPT. Os limites de quantificação atenderam à Resolução Conama 420/2009. São 0,002 mg kg⁻¹ para HCB, 0,004 mg kg⁻¹ para *c*-CLD e *t*-CLD, 0,008 mg kg⁻¹ para DDT, HPT e MRX, 0,015 mg kg⁻¹ para DLD e END. Os compostos ALD e LND não atenderem à legislação, com limite de 0,008 e 0,040 mg kg⁻¹, respectivamente. Porém permaneceram abaixo dos valores estabelecidos pela EPA, assim como os demais. A exatidão e a precisão do método foram

demonstradas com recuperações acima de 90% para a maioria dos compostos e DPR abaixo de 17%.

PALAVRAS-CHAVE: Biossólido. Contaminantes ambientais. Métodos de extração.

CHAPTER 2 SOLID-LIQUID EXTRACTION WITH PURIFICATION IN LOW TEMPERATURE: AN EFFICIENT TECHNIQUE FOR EXTRACTION OF TEN ORGANOCHLORINES IN SEWAGE SLUDGE

ABSTRACT

Sewage sludge is a solid waste generated in sewage treatment plants. This material can be used as a complement to fertilizer or conditioner agricultural soils due to the high content of organic matter. However, this practice can lead to contamination and accumulation of organochlorine in soils, water, plants and its entry into the food chain. This research aimed at the optimization and validation of solid-liquid extraction methodology with purification at low temperature (SLE-LTP) of ten organochlorine, namely: aldrina (ALD), dieldrin (DLD), endrin (END), lindane (LND), cis-chlordane (*c*-CLD), trans-chlordane (*t*-CLD), hexachlorobenzene (HCB), heptachlor (HPT), DDT and mirex (MRX) in sewage sludge samples and subsequently chromatography analysis gas, coupled with mass spectrometry (GC-MS). In the optimization of the technic, we evaluated the parameters time of fortification and clean up of extracts. The results revealed that the optimal time of fortification was six hours and the clean up using the C18 sorbent resulted in extracts with less interfering in the chromatographic analysis. In the validation stage, it was observed linearity in the concentration range worked only for ADL and END. The matrix effect was significant only for LND, HCB and HPT. The limits of quantification attended the CONAMA Resolution 420/2009. Are 0.002 mg kg⁻¹ for HCB 0.004 mg kg⁻¹ for *c*-CLD and *t*-CLD, 0.008 mg kg⁻¹ for DDT, HPT and MRX, 0.015 mg kg⁻¹ for DLD and END. The ALD and LND compounds do not comply with the legislation, with a limit of 0.008 and 0.040 mg kg⁻¹, respectively. However remained below the levels set by the EPA, as well as the others. The accuracy and precision of the method was demonstrated with recoveries above 90% for most compounds and STDEV below 17%.

KEYWORDS: Biosolids. Environmental contaminants. Extraction methods.

1 INTRODUÇÃO

O lodo de esgoto ou biossólido é o nome dado ao produto gerado do tratamento do esgoto oriundo de diversas fontes, tais como residências e indústrias (UYSAL; YILMAZEL; DEMIRER, 2010). Várias são as disposições finais dadas a esse produto: aterros sanitários, incineração (WANG *et al.*, 2006), extração de óleo (KWON; LEE, 2015), degradação aeróbia por micro-organismos (CHI *et al.*, 2011; CUKJATI *et al.*, 2012) e uso em construções (CHIANG *et al.*, 2009; CUSIDO; CREMADES, 2012). Porém a utilização na agricultura ainda é considerada a forma mais sustentável ao meio ambiente (PIERZYNSKI, 1994; SMITH, 2009). O lodo pode ser usado como fertilizante ou condicionador de solos agrícolas, devido ao elevado conteúdo de matéria orgânica e elementos essenciais às plantas, como nitrogênio e fósforo (GUO *et al.*, 2009; LEIVA *et al.*, 2010; OZCAN *et al.*, 2013). O uso do lodo na agricultura reduz os gastos com fertilizantes, diminuindo os impactos ambientais causados por esses, além de ser 30 a 40% mais barato que as demais técnicas de disposição (ANTILLE 2011; LIU *et al.*, 2013).

Entretanto o uso na agricultura sem análise química pode causar contaminação ambiental e degradação do solo quando este é tratado com lodo de esgoto (OLESZCZUK; HOLLERT, 2011). Considerado uma matriz complexa, sua composição pode conter diversas classes de contaminantes (BARAN; OLESZCZUK, 2002; SINGH; AGRAWAL, 2008). Dentre essas, encontram-se os organoclorados (LIU *et al.*, 2013), que são classificados como poluentes orgânicos persistentes (POPs).

Apesar de terem o seu uso banido pela Convenção de Estocolmo (UNEP, 1997), os organoclorados são facilmente encontrados em diversas matrizes ambientais, por serem estáveis, bioacumulativos e de fácil transporte atmosférico (BOER; FIEDLER, 2013). A alta toxicidade dos organoclorados pode causar danos à saúde, como o aumento do risco à endometriose, pela exposição ao hexaclorobenzeno e ao mirex (UPSON *et al.*, 2013), ocasionar alterações no sistema linfático, devido à contaminação

com lindano, hexaclorobenzeno e dieldrin (MICHAŁOWICZ *et al.*, 2013) e perturbações neurológicas provocadas pela intoxicação crônica com clordano (HYDE; FALKENBERG, 1976).

A quantificação de organoclorado pode ser feita por cromatografia gasosa (CG), utilizando-se detector de captura de elétrons (DCE) (BOER; BLOK; BALLESTEROS-GÓMEZ, 2014; WU *et al.*, 2015) e espectrômetro de massas (EM) (ARNHOORN *et al.*, 2015; SURMA; SADOWSKA-ROCIK; CIEŚLIK, 2014), e por cromatografia líquida, utilizando-se o detector ultravioleta (UV) (JANI *et al.*, 1991; MORENO; FERRERA; RODRIGUEZ, 2006) ou arranjo de diodos (PADRON; FERRERA; RODRIGUEZ, 2006).

A extração dos organoclorados em lodo é realizada pelas técnicas sohxlet (ZAO, DONG, WANG, 2013) e extração líquido pressurizado (LIU *et al.*, 2013; MUSCALU *et al.*, 2011), que são recomendadas pela EPA. Mas outras técnicas, como QuEChERS e extração líquido pressurizado (MASIÁ *et al.*, 2015), são empregadas a fim de obter maior agilidade e menores custos. Recentemente, a técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) foi empregada em lodo de esgoto para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e clorobenzenos (BARBOSA *et al.*, 2014; PINHO *et al.*, 2014). Essa técnica tem se destacado na análise de organoclorados em diversas matrizes, tais como tomate (PINHO *et al.*, 2010), batata (RIGUEIRA *et al.*, 2013), abacaxi (MORAIS *et al.*, 2014), grão de milho (FREITAS *et al.*, 2014), morango (HELENO *et al.*, 2014), ovos de crocodilo (SOUSA *et al.*, 2014), alface (COSTA *et al.*, 2015) e solo (PASSOS *et al.*, 2015).

O princípio da técnica consiste em colocar a amostra sólida em contato com um solvente menos denso que a água e com ponto de fusão abaixo de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, geralmente acetonitrila. O sistema é agitado e levado ao freezer. Após um determinado período, a fase aquosa é congelada e separada da fase orgânica contendo o analito de interesse (PINHO *et al.*, 2010a).

Com o intuito de atender à necessidade de novas técnicas de extração, a presente pesquisa teve por objetivo otimizar e validar a técnica de

ESL-PBT de dez organoclorados em lodo de esgoto, analisados por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os padrões analíticos dos organoclorados aldrin (ALD), dieldrin (DLD), endrin (END), lindano (LND), *cis*-clordano (*c*-CLD), *trans*-clordano (*t*-CLD), hexaclorobenzeno (HCB), heptacloro (HPT), DDT e mirex (MRX) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), com pureza de 99,9%. Acetonitrila (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) grau HPLC e sulfato de sódio (Dinâmica, Diadema, Brasil) foram os reagentes utilizados. Para o *clean up*, foram utilizados alumina (Micro Abrasives, Westfield, USA), florisil (Mallinckrodt Chemicals, St. Louis, USA), carvão ativado (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), C18 (Fluka, Milwaukee, USA), PSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e sílica gel, 230-400 mesh (Carvalhaes, Alemanha).

2.2 Equipamentos

Na etapa de preparo de amostra, foi utilizado vórtex (Phoenix, São Paulo, Brasil) e centrífuga (Kindly, São Paulo, Brasil).

As análises foram realizadas utilizando-se cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC7890A), acoplado a espectrômetro de massas (MS5975C) e coluna capilar DB-5 MS (Agilent Technologies) com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme interno). Hélio (99,9999% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 1 mL min⁻¹. O injetor foi mantido a 270 ° C. A programação de temperatura foi 100 ° C, 20 ° C min⁻¹ até 200 ° C, 10 ° C min⁻¹ até 280 ° C. O volume injetado de amostra foi de 1 µL no modo de injeção sem divisão de fluxo (*splitless*), com *liner* sem lâ de vidro, utilizando-se injetor Combi PAL. O espectrômetro de massas foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV. O analisador de massas tipo quadrupolo. A interface foi mantida a 280 ° C e a fonte de íons, a 230 ° C. O controle do instrumento e a aquisição de dados foram

feitos com o software ChemStation (E.02.02.1431 copyright© 1989-2011), da Agilent Technology. Para espectrômetro de massas operando no modo MIS, foram escolhidos três íons de cada analito (TAB. 1).

TABELA 1

Tempo de retenção dos organoclorados e íons selecionados para análise no CG-EM no modo MIS

Organoclorados	Tempo de retenção - t_r (min)	Íons (m/z)
LND	7,607	181, 183, 219
HCB	7,680	282, 284, 286
HPT	9,703	272, 273, 274
ALD	10,450	263, 265, 269
<i>t</i> -CLD	11,739	373, 375, 377
<i>c</i> -CLD	11,995	373, 375, 377
DLD	12,563	263, 265, 277
END	12,993	263, 317, 345
DDT	14,030	165, 235, 237
MRX	16,098	237, 272, 274

2.3 Soluções padrão

Soluções padrão estoque individuais de cada organoclorado foram preparadas em acetonitrila, a uma concentração de 500 mg L⁻¹. Foi preparada uma solução intermediária, contendo, simultaneamente, os organoclorados na concentração de 25 mg L⁻¹, a partir da diluição da solução estoque, com exceção do DLD. Para o DLD, preparou-se uma solução de 20 mg L⁻¹. A partir dessas soluções, foi preparada uma solução de trabalho, na concentração de 4 mg L⁻¹, contendo todos os organoclorados. As soluções foram armazenadas a 4 ° C no refrigerador em frascos âmbar.

2.4 Amostras de lodo de esgoto

Para a etapa de otimização da técnica, foi utilizado o lodo da estação de tratamento de esgoto da cidade de Juramento-MG, Brasil. As amostras de lodo foram peneiradas em tamiz de 1 mm de diâmetro e armazenadas em frascos de vidro no refrigerador.

2.5 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura

Para a otimização da ESL-PBT, foram medidas 4,0000 g de amostras de lodo e fortificadas com 100 μL da solução de trabalho dos organoclorados, obtendo-se a concentração de 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$. As amostras foram deixadas em repouso por 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 172 horas. Foram adicionados às amostras 2 mL de água e 8 mL de acetonitrila. O sistema foi homogeneizado e levado à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante uma hora, para congelamento da amostra. Foram transferidos 2 mL do sobrenadante para tubo falcon de 15 mL, contendo 375 mg de sulfato de sódio e 60 mg de adsorvente. O tubo foi homogeneizado em vórtex por 30 segundos e levado para centrifuga durante 10 minutos, com rotação de 4000 rpm. Depois, 1 mL do extrato foi transferido para *vial* de injeção e submetido à análise cromatográfica. Os adsorventes otimizados univariadamente para a limpeza dos extratos foram alumina, C18, carvão ativado, florisil, lã de vidro, PSA e sílica.

2.6 Validação

Os parâmetros avaliados para a validação foram limites de detecção e quantificação, seletividade, linearidade, efeito de matriz, precisão e exatidão. Para a avaliação da linearidade do método, foram preparadas curvas analíticas, fortificando amostras de lodo com solução padrão dos organoclorados em sete níveis de concentração (TAB. 2), em triplicata para cada nível.

TABELA 2

Níveis de concentração de cada organoclorado para a avaliação da linearidade do método

Organoclorados	Níveis de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
LND	20,0; 30,0; 40,0; 60,0; 70,0; 80,0; 90,0
HCB	1,0; 11,0; 21,0; 31,0; 51,0; 71,0; 81,0
HPT	4,0; 14,0; 24,0; 34,0; 54,0; 74,0; 84,0
ALD	4,0; 14,0; 34,0; 44,0; 54,0; 74,0; 84,0
<i>t</i> -CLD	2,0; 12,0; 22,0; 32,0; 52,0; 72,0; 82,0
<i>c</i> -CLD	2,0; 12,0; 32,0; 52,0; 62,0; 72,0; 82,0
DLD	7,5; 17,5; 27,5; 37,5; 57,5; 77,5; 87,5
END	17,5; 27,5; 37,5; 57,5; 67,5; 77,5; 87,5
DDT	4,0; 14,0; 24,0; 54,0; 64,0; 74,0; 84,0
MRX	4,0; 14,0; 34,0; 44,0; 54,0; 74,0; 84,0

Após a obtenção dos dados experimentais, foi aplicado o método dos mínimos quadrados ordinários, para estimar a consistência dos dados da regressão. A dispersão dos valores foi investigada e tratada pelo método dos resíduos padronizados de Jackknife, com exclusão máxima de 22,2% dos dados. As premissas dos resíduos da regressão e o ajuste ao modelo linear foram validadas por meio da verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Ryan-Joiner; homoscedasticidade dos resíduos pelo teste de Brown-Forsythe, independência dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson e teste *F*, para verificar a significância da regressão e ajuste do modelo linear.

Para avaliar o efeito de matriz, duas curvas analíticas foram preparadas: uma em extrato da matriz (branco) e outra em acetonitrila. As concentrações para cada organoclorado são apresentadas na TAB. 3 e os experimentos foram realizados em triplicata. As duas curvas analíticas (matriz e solvente) foram avaliadas pelos testes de Ryan-Joiner, Brown-Forsythe, Durbin-Watson e teste *F* da regressão, para avaliar a linearidade dos dados

para cada composto. Em seguida, os dados das duas curvas foram submetidos ao teste F , para verificar a homogeneidade das variâncias dos resíduos das regressões. Quando o teste indicou homoscedasticidade, as inclinações e interseções das curvas de solvente e matriz foram comparadas pelo teste t de variâncias combinadas. Quando o teste indicou heterocedasticidade, o teste t foi empregado, utilizando-se as variâncias amostrais de cada curva.

TABELA 3

Níveis de concentração de cada organoclorado analisado para avaliação do efeito de matriz

Organoclorados	Níveis de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
LND	20,0; 30,0; 40,0; 60,0; 70,0; 90,0; 100,0
HCB	1,0; 11,0; 21,0; 31,0; 41,0; 71,0; 81,0
HPT	4,0; 14,0; 24,0; 34,0; 44,0; 54,0; 74,0
ALD	4,0; 14,0; 24,0; 34,0; 54,0; 7,04; 84,0
t -CLD	2,0; 12,0; 22,0; 32,0; 42,0; 52,0; 72,0
c -CLD	2,0; 12,0; 22,0; 32,0; 42,0; 52,0; 72,0
DLD	7,5; 17,5; 27,5; 37,5; 57,5; 77,5; 87,5
END	7,5; 17,5; 27,5; 37,5; 57,5; 77,5; 87,5
DDT	14,0; 24,0; 3,04; 44,0; 64,0; 74,0; 84,0
MRX	4,0; 14,0; 34,0; 44,0; 54,0; 64,0; 74,0

A seletividade da técnica foi estudada qualitativamente, avaliando as amostras de lodo de esgoto isentas de organoclorados (branco) em seis replicatas independentes, para checar a interferência dos componentes da matriz. Outros interferentes, tais como derivados do solvente, vidrarias, adsorventes e reagentes, foram investigados pela repetição do método, sem utilizar o lodo.

Para determinar os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), foram fortificadas amostras de lodo de esgoto com os organoclorados nas menores concentrações aceitáveis. Após a ESL-PBT e análise por CG-

EM, os limites foram considerados como três e dez vezes o sinal da linha de base para o LD e LQ, respectivamente.

A exatidão foi realizada, avaliando-se injeções das amostras fortificadas nas concentrações $1 \times \text{LQ}$, $1 \times \text{LQ} + 10 \mu\text{g kg}^{-1}$ e LMR ($100 \mu\text{g kg}^{-1}$) em triplicata, para cada composto. Para cada nível, valores de recuperação foram considerados aceitáveis quando entre 70 e 120% (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). A precisão intermediária foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR), obtido em experimentos de fortificação/recuperação dos organoclorados do lodo em dois dias distintos. Os ensaios foram realizados na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, correspondendo a $100 \mu\text{g Kg}^{-1}$. O método foi considerado preciso quando o $\text{DPR} \leq 20\%$ (RIBANE *et al.*, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Condições cromatográficas de análise

As análises cromatográficas dos dez organoclorados foram realizadas inicialmente no modo de injeção *splitless*, utilizando-se *liner* de vidro desativado. Dentro do *liner*, na posição central, foi colocada uma lâ de vidro (FIG. 1). A função dessa lâ é remover da matriz partículas não voláteis e compostos polares que podem danificar a coluna cromatográfica (HO; YU, 2004).

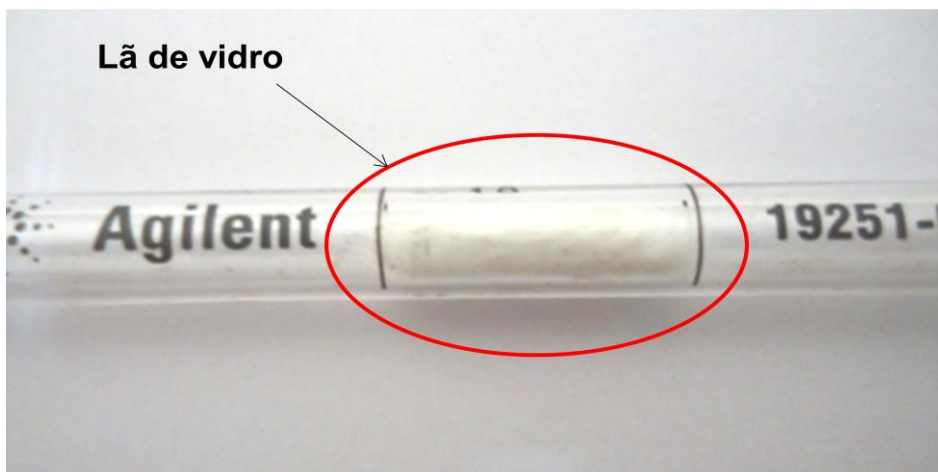


FIGURA 1 – *Liner* cromatográfico preenchido com lâ de vidro

Entretanto o sinal do END não foi detectado e os demais compostos foram detectados com sinais de baixa intensidade (FIG. 2). A remoção da lâ de vidro aumentou a intensidade dos organoclorados de 9 a 120 vezes, além da detecção do END. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Wylie e Uchyama (1996), os quais analisaram organofosforados, utilizando-se o mesmo modo de injeção, por CG-EM. Os organoclorados adsorvem nos grupos silanóis da lâ de vidro, dificultando a

entrada na coluna cromatográfica e, conseqüentemente, uma pequena ou nenhuma quantidade dos compostos é detectada pelo espectrômetro de massas (SINTON; LACOURSE, 2001). No caso do END, isso acontece, pois as suas características físico-químicas lhe conferem um grau de polaridade, possibilitando a sua adsorção nos sítios ativos da lã de vidro, mesmo eles sendo polares.

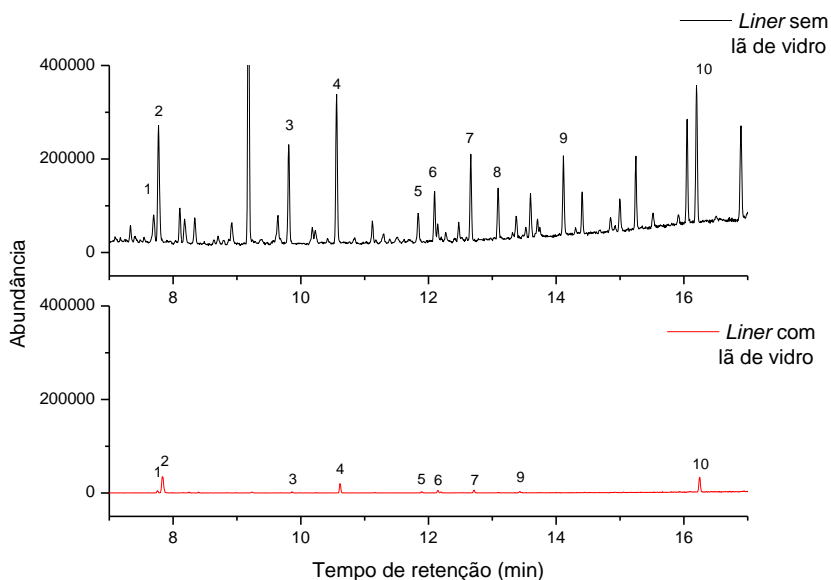


FIGURA 2 - Cromatogramas de íons totais da solução padrão de dez organoclorados em acetonitrila, na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$

Nota: Os números referem-se aos organoclorados: 1. LND; 2. HCB; 3. HPT; 4. ALD; 5. *t*-CLD; 6. *c*-CLD; 7. DLD; 8. END; 9. DDT; 10. MRX.

3.2 Otimização da ESL-PBT

3.2.1 Limpeza dos extratos

A técnica ESL-PBT proporciona a extração dos organoclorados e *clean up* dos extratos durante a etapa de congelamento. Porém, devido à complexidade do lodo de esgoto, foi necessária uma etapa de *clean up*

adicional para remover componentes da matriz remanescentes no extrato. Para isso, os adsorventes alumina, octadecil-silica (C18), carvão ativado, florisil, lã de vidro, amina primária-secundária (PSA) e sílica foram avaliados.

O C18, o carvão ativado e a lã de vidro proporcionaram melhor limpeza dos extratos, pois removeram maior quantidade de interferentes da matriz (FIG. 3). O C18 é uma sílica com estrutura modificada que possui grupo alquila octadecil, conferindo-lhe característica apolar. Ele é altamente eficiente na adsorção de compostos hidrofóbicos (PICHON, 1998), como compostos lipídicos presentes no lodo. Os organoclorados também são hidrofóbicos, entretanto são solúveis em acetonitrila, o que garante a eficiência da limpeza sem haver perda do analito (S'ANCHEZ-BRUNET; MIGUEL; TADEO, 2008).

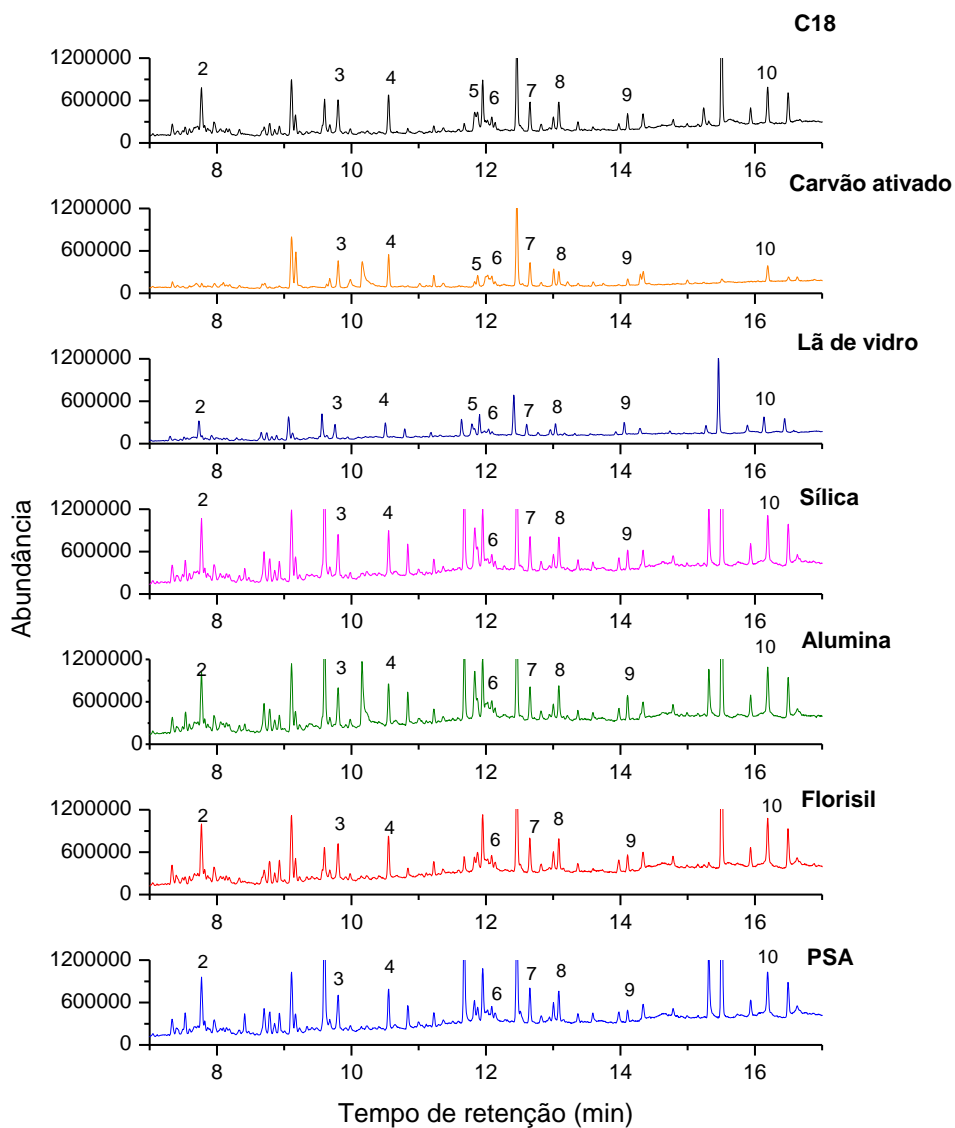


FIGURA 3 - Cromatogramas de íons totais de extratos de lodo de esgoto, submetidos à limpeza com diferentes adsorventes, na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$

Nota: Os números referem-se aos organoclorados: 1. LND; 2. HCB; 3. HPT; 4. ALD; 5. *t*-CLD; 6. *c*-CLD; 7. DLD; 8. END; 9. DDT; 10. MRX.

O uso do carvão ativado como adsorvente na etapa de *clean up* é comprometido devido à alta capacidade de adsorção de organoclorados, demonstrada pelos resultados obtidos. Houve adsorção total do HCB e redução da resposta cromatográfica dos demais compostos. (FIG. 3). O princípio do *clean up* empregado baseia-se na remoção dos interferentes do extrato pelo adsorvente, permanecendo apenas o analito de interesse. Entretanto o carvão ativado pode adsorver 80% dos organoclorados contidos em uma solução (MURAYAMA *et al.*, 2003). Respostas semelhantes foram obtidas utilizando a lã de vidro como adsorvente. Além de adsorver os interferentes da matriz, houve acentuada redução da resposta cromatográfica dos compostos ALD, DLD, HCB e HPT (FIG. 3). Os resultados demonstraram diferença na resposta de adsorção entre sílica e lã de vidro. Isso porque, além da sílica, a lã de vidro possui, em sua composição, óxidos de alumínio e ferro, que compreendem 28% de sua massa (LUND; YUE, 2008) e que podem atuar como sítios de adsorção.

Apesar de apresentarem menor eficiência de limpeza, quando comparadas com o C18, a sílica e a alumina são utilizadas em colunas na etapa de *clean up* nas técnicas de extração com fluido supercrítico e soxhlet, na extração de organoclorados (BERSET; HOLZER, 1999; HELALEH, 2005; STEVENS, 2003). O emprego desses adsorventes pode estar relacionado ao fato deles apresentarem menor adsorção de organoclorados (FIG. 3). Semelhantemente, o florisil também apresentou baixa adsorção dos organoclorados e baixa remoção de interferentes da matriz (FIG. 3). Embora não tenha demonstrado eficiência na fase de *clean up* da ESL-PBT, o florisil apresenta eficiência quando utilizado no *clean up* para lodo de esgoto em coluna, com solventes de eluição de menor polaridade que a da acetoneitrila (GRANDE; REZENDE; ROCHA, 2003).

Os resultados obtidos utilizando o PSA demonstraram baixa eficiência de limpeza dos extratos, apesar da baixa adsorção de organoclorados (FIG. 3). O PSA demonstra-se eficiente quando empregado no método QuEChERS para a extração simultânea de diversos contaminantes orgânicos em lodo de esgoto (CERQUEIRA; CALDAS;

PRIMEL, 2014). Em nenhuma das análises em modo SCAM foi observado o sinal do LND, fato esse que pode estar relacionado à baixa intensidade do sinal do LND em relação aos ruídos da linha de base, além da possibilidade de adsorção por carvão ativado e lã de vidro (FIG. 3).

Os extratos obtidos na ESL-PBT e *clean up* com C18 foram analisados no modo MIS (FIG. 4). No cromatograma, observou-se redução no número de sinais de componentes da matriz, utilizando-se o C18, melhorando a relação sinal/ruído. Conseqüentemente, observou-se o sinal do LND, que não era perceptível no cromatograma de íons totais. Constatou-se, também, que a adsorção dos organoclorados pelo C18 foi mínima, quando comparadas às áreas dos extratos submetidos à ESL-PBT sem o processo de *clean up* (GRAF. 1).

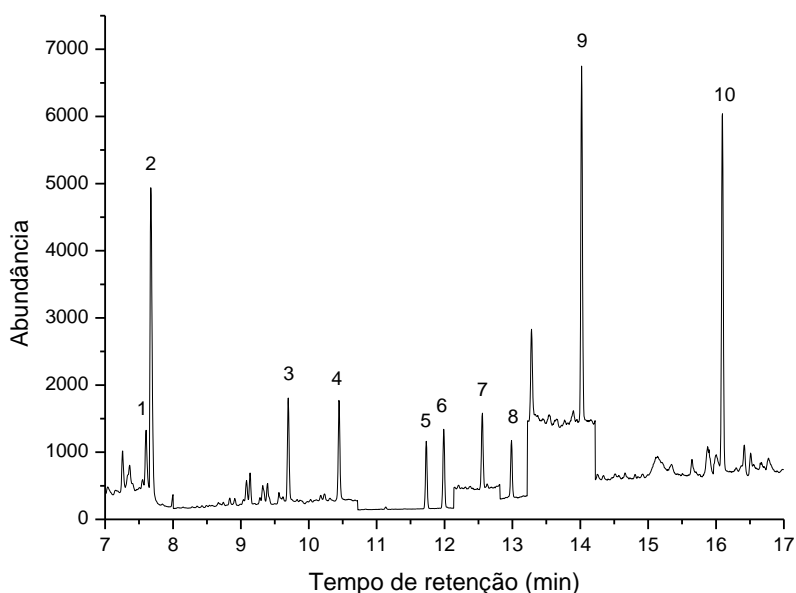


FIGURA 4 - Cromatograma no modo MIS do extrato de lodo de esgoto, utilizando C18 na etapa de *clean up*

Nota: Os números referem-se aos organoclorados: 1. LND; 2. HCB; 3. HPT; 4. ALD; 5. *t*-CLD; 6. *c*-CLD; 7. DLD; 8. END; 9. DDT; 10. MRX, na concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

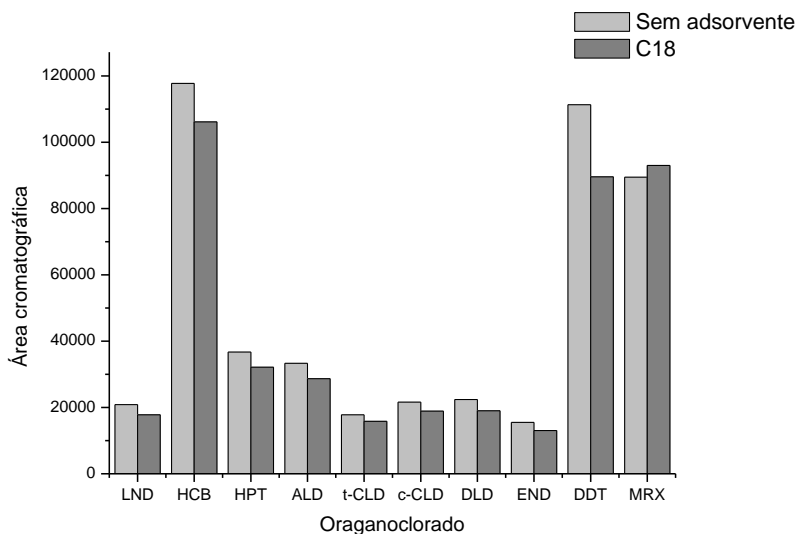


GRÁFICO 1 – Comparação das áreas cromatográficas de cada organoclorado analisado em extratos obtidos após ESL-PBT sem *clean up* e com *clean up*, utilizando C18.

3.2. 2 Tempo de fortificação

O tempo de contato dos organoclorados com amostras de lodo de esgoto pode influenciar na porcentagem de recuperação, por causa de fenômenos de adsorção e/ou degradação dos analitos. Dessa forma, as amostras foram fortificadas e deixadas em repouso por 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 162 horas e, somente depois, foram submetidas à ESL-PBT. Somente os organoclorados ALD e DDT obtiveram influência do tempo de fortificação na porcentagem de recuperação, pelo teste Tukey com 95% de probabilidade (TAB. 4).

TABELA 4

Média da porcentagem de recuperação da ESL-PBT, em função da influência do tempo de fortificação das amostras de lodo de esgoto

Tempo de Fortificação (horas)	Organoclorados									
	LND	HCB	HPT	ALD	<i>t</i> -CLD	<i>c</i> -CLD	DLD	END	DDT	MRX
0	107 a	79 a	94 a	86 a	93 a	93 a	98 a	97 a	124 a	71 a
3	104 a	73 a	86 a	80 ab	88 a	87 a	92 a	94 a	97 b	66 a
6	109 a	78 a	99 a	88 a	97 a	97 a	101 a	104 a	105 ab	71 a
12	101 a	75 a	89 a	81 ab	93 a	92 a	97 a	95 a	84 b	69 a
24	107 a	76 a	98 a	79 ab	93 a	90 a	95 a	94 a	102 b	76 a
48	100 a	69 a	93 a	70 bc	88 a	87 a	89 a	90 a	91 b	68 a
72	100 a	74 a	96 a	74 ab	92 a	93 a	95 a	90 a	93 b	67 a
168	101 a	66 a	94 a	55 c	89 a	89 a	92 a	103 a	95 b	62 a
C. V. (%)	4,828	7,273	5,579	6,269	5,164	5,064	5,251	6,480	7,854	6,565

Nota: Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey 5% realizado no programa estatístico SAEG.

O lodo de esgoto é uma fonte de micro-organismos capazes de degradar compostos orgânicos (SEMPLE; REID; FERMOR, 2001). Dentre as reações de degradação do ALD no lodo de esgoto, destaca-se a epoxidação (HILL; MCCARTY, 1967), que se baseia na quebra da ligação dupla entre os átomos de carbono e adição de um oxigênio à molécula, por enzimas oxigenases, formando o DLD (FIG. 5), que é mais resistente a transformações (TU; HARRIS, 1968; EPA, 1987). Entretanto outras transformações são passíveis de acontecerem ao ALD. Em lodo de esgoto, o processo de descloração do aldrin pode formar compostos análogos, tendo átomos de cloro substituídos por hidrogênio (BACZYNSKIA; GROTENHUISB; KNIPSCHEER, 2004). Esse processo acontece porque o lodo de esgoto possui bactérias capazes de remover cloro de ciclodienos clorados (EEKERT; SCHRAA, 2001). A redução da porcentagem de recuperação do ALD pode estar correlacionada à descloração do composto, pois não foi observado aumento na concentração de DLD.

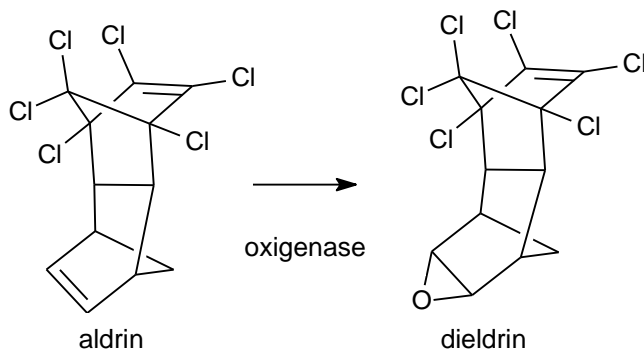


FIGURA 5 – Via metabólica de epoxidação do aldrin em dieldrin

Fonte: Adaptado de Hill e Mccarty (1967)

Apesar de sua alta estabilidade química, o DDT pode sofrer reações de biodegradação, dando origem a moléculas semelhantes, realizadas por micro-organismos anaeróbicos facultativos em condições

ambientais ótimas (FOGHT *et al.*, 2001). Uma das reações de biodegradação do DDT é a desalogenação redutiva, que consiste na remoção de um substituinte de halogênio, a partir de uma molécula com a adição simultânea de elétrons para a molécula, sendo que, no caso do DDT, ocorre o processo de hidrogenólise (FIG. 6), é a substituição de um substituinte de halogênio de uma molécula por um átomo de hidrogênio (MOHN; TIEDJE, 1992). Substratos como adubação verde, lodo de esgoto e alfafa foram utilizados para estimular a desalogenação de DDT em solos (MOHN; TIEDJE, 1992), sendo o lodo de esgoto eficiente por ser fonte de micro-organismos anaeróbicos capazes de realizarem esse processo (HILL; MCCARTY, 1967; LIANG *et al.*, 2014). O processo de desalogenação pode ter biodegradado uma pequena parte do DDT contido no lodo de esgoto, reduzindo a porcentagem de recuperação do mesmo.

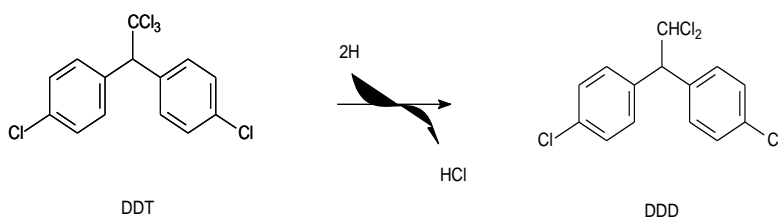


FIGURA 6 – Reação de desalogenação do DDT

Fonte: Adaptado de Mohn e Tiedje (1992)

Baseado nos resultados obtidos no teste de médias, Tukey com 95% de probabilidade (TAB. 4), foi otimizado o tempo de 6 horas de fortificação das amostras de lodo com a solução trabalho contendo os organoclorados.

3.3 Validação

3.3.1 Seletividade

A seletividade do método foi demonstrada por meio da ausência de interferentes no tempo de retenção dos dez organoclorados durante as análises de extratos de lodo. Na FIG. 7 é comparado o cromatograma de extrato de lodo isento dos organoclorados (branco) com o cromatograma de extratos de lodo obtidos, após a ESL-PBT de amostras fortificadas com os organoclorados.

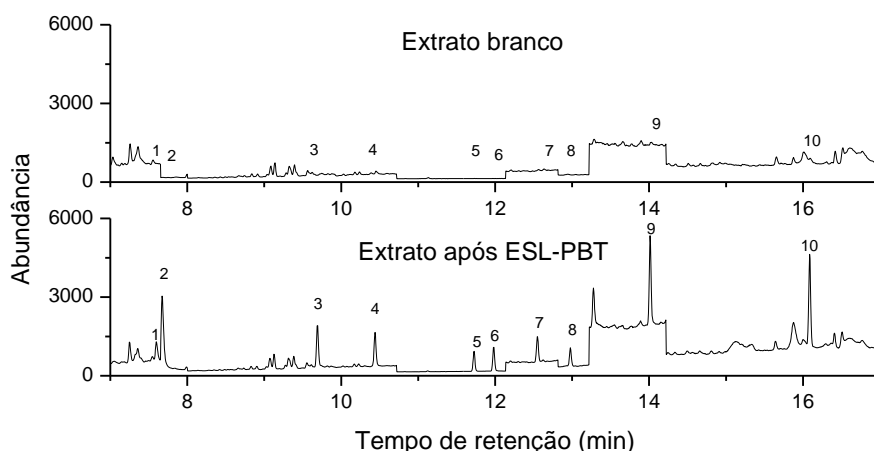


FIGURA 7 – Cromatogramas no modo MIS dos extratos de lodo de esgoto obtidos após a ESL-PBT de amostra isenta (branco) e amostra de lodo de esgoto fortificada com dez organoclorados, na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$

Nota: Os números referem-se aos organoclorados: 1. LND; 2. HCB; 3. HPT; 4. ALD; 5. *t*-CLD; 6. *c*-CLD; 7. DLD; 8. END; 9. DDT; 10. MRX, na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.2 Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação dos organoclorados estão descritos na TAB. 5. Apesar de apresentar LQ's superior aos das demais técnicas para a maioria dos compostos, a técnica demonstra-se

eficiente na quantificação de organoclorados, pois os compostos apresentaram LQ abaixo do LMR estabelecido pela Resolução Conama nº420 para solo, com exceção do LND e ALD. Entretanto todos os valores de LQ encontrados nesta pesquisa estão abaixo dos valores de LMR estabelecidos pela EPA Victória (2004) para lodo de esgoto grau C1, na Austrália. A classificação C1 é baseada em valores rigorosos de LMR, para garantir proteção à saúde humana, ao meio ambiente e à segurança alimentar (TAB. 5).

TABELA 5

Limites de quantificação dos dez organoclorados obtidos na ESL-PBT, de diferentes técnicas de extração em lodo de esgoto analisados por CG-EM e os limites máximos de resíduos permitidos (LMR)

Organoclorado	ESL-PBT		DMFS ⁴	EFP ⁶	EFS ¹	Soxhlet ⁵	Soxtec ²	Ultrassom ³	*Resolução		**EPA
									Conama		
	LD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)							LQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
LND	12,00	40,00	0,30	1,93	5,20	1,66	6,25	0,04	1,00	50,00	
HCB	1,00	2,00	0,50	5,02	1,30	8,03	-	0,06	5,00	50,00	
HPT	2,00	8,00	0,30	-	3,70	-	8,30	-	-	50,00	
ALD	2,00	8,00	0,30	-	4,50	-	3,28	-	3,00	50,00	
<i>t</i> -CLD	1,00	4,00	-	2,50	-	0,34	-	-	-	50,00	
<i>c</i> -CLD	1,00	4,00	-	2,38	-	0,32	-	-	-	50,00	
DLD	5,00	15,00	2,00	-	-	0,74	1,85	-	200,00	50,00	
END	5,00	15,00	1,70	-	-	-	66,67	-	400,00	-	
DDT	2,00	8,00	1,30	-	7,50	-	1,90	0,10	550,00	500,00	
MRX	2,00	8,00	-	-	-	31,2	-	-	-	-	

Notas: ¹ Berset; Holzer (1999); ² Helaleh *et al.* (2005); ³ Wang *et al.* (2007); ⁴ Sánchez-Brunete; Miguel; Tadeo (2008); ⁵ Ju *et al.* (2009); ⁶ Liu *et al.* (2013); * LMR estabelecido para solo; ** LMR estabelecido para lodo de esgoto.

3.3.3 Linearidade

As equações das curvas de calibração e os coeficientes de determinação (R^2) estão demonstrados na TAB. 6. Todos os organoclorados obtiveram R^2 acima de 0,95, valor superior ao recomendado pelo INMETRO (0,90) (2010). Os valores dispersos identificados pelo $\pm t_{(1-\alpha/2;n-2)} S_{res}$ foram confirmados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife. Foram detectados dois valores dispersos para ALD, no nível $84 \mu\text{g L}^{-1}$; dois valores dispersos para c-CLD, no nível $82 \mu\text{g L}^{-1}$; três valores dispersos para END, nos níveis $65,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $75,5 \mu\text{g L}^{-1}$; um valor para DLD e MRX, no nível $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $34 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O número máximo de exclusão de valores extremos determinados pelo teste foi de quatro, correspondendo a 22,2% dos 21 dados originais (GRAF. 2).

TABELA 6

Equações das curvas de calibração dos extratos de lodo de esgoto fortificados com organoclorados para ensaios de linearidade e seus respectivos coeficientes de determinação

Organoclorados	Dados da calibração	
	Equação	R^2
LND	$y = 580,88x - 10673$	0,9852
HCB	$y = 2379,1x - 16463$	0,9702
HPT	$y = 1022x - 111446$	0,9610
ALD	$y = 690,68x - 4813,6$	0,9611
t-CLD	$y = 424,58x - 2952$	0,9789
c-CLD	$y = 488,93x - 2580,9$	0,9803
DLD	$y = 699,61x - 7789,9$	0,9799
END	$y = 487,73x - 9642$	0,9834
DDT	$y = 2684,8x - 21533$	0,9606
MRX	$y = 2220,6x - 15126$	0,9770

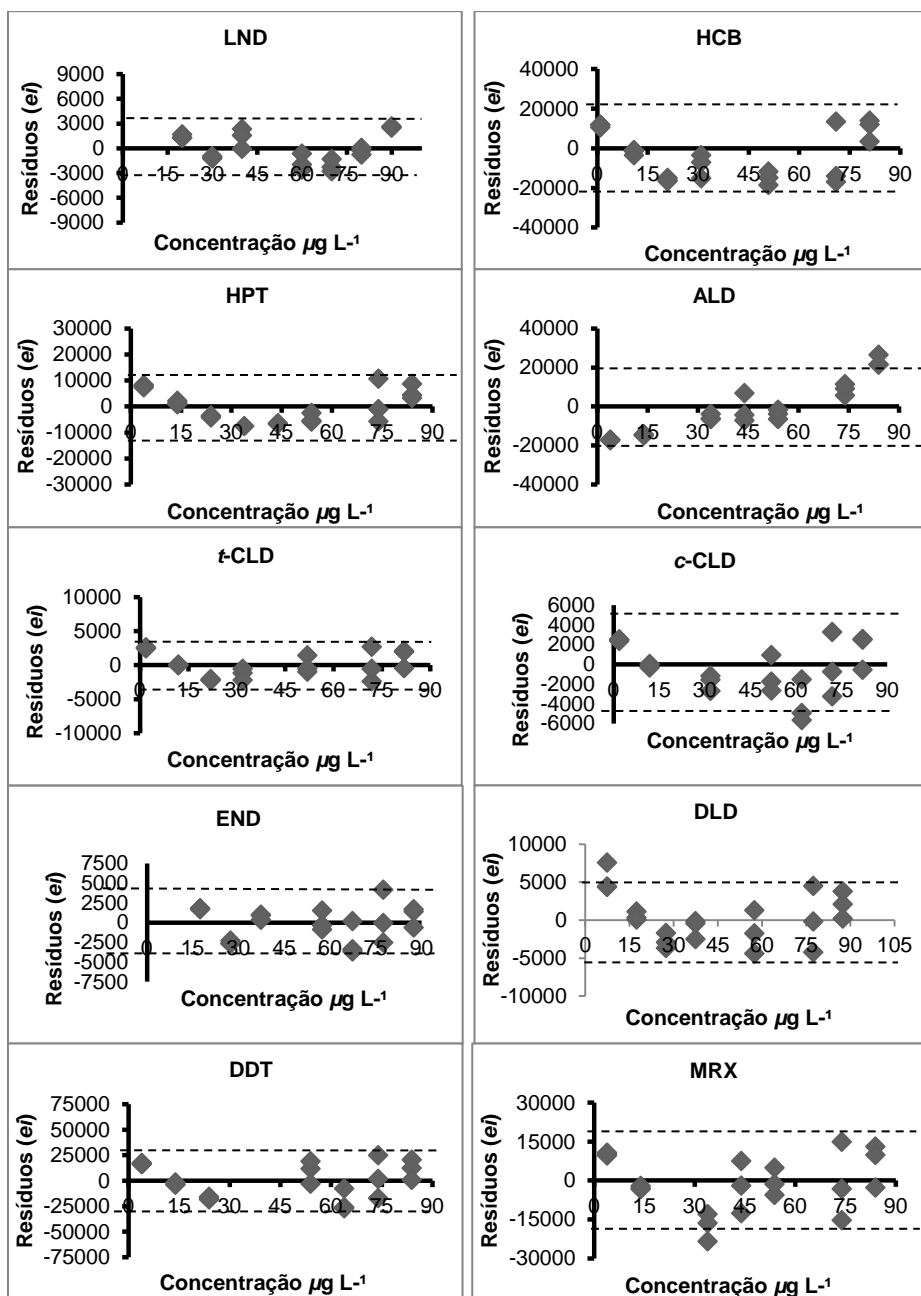
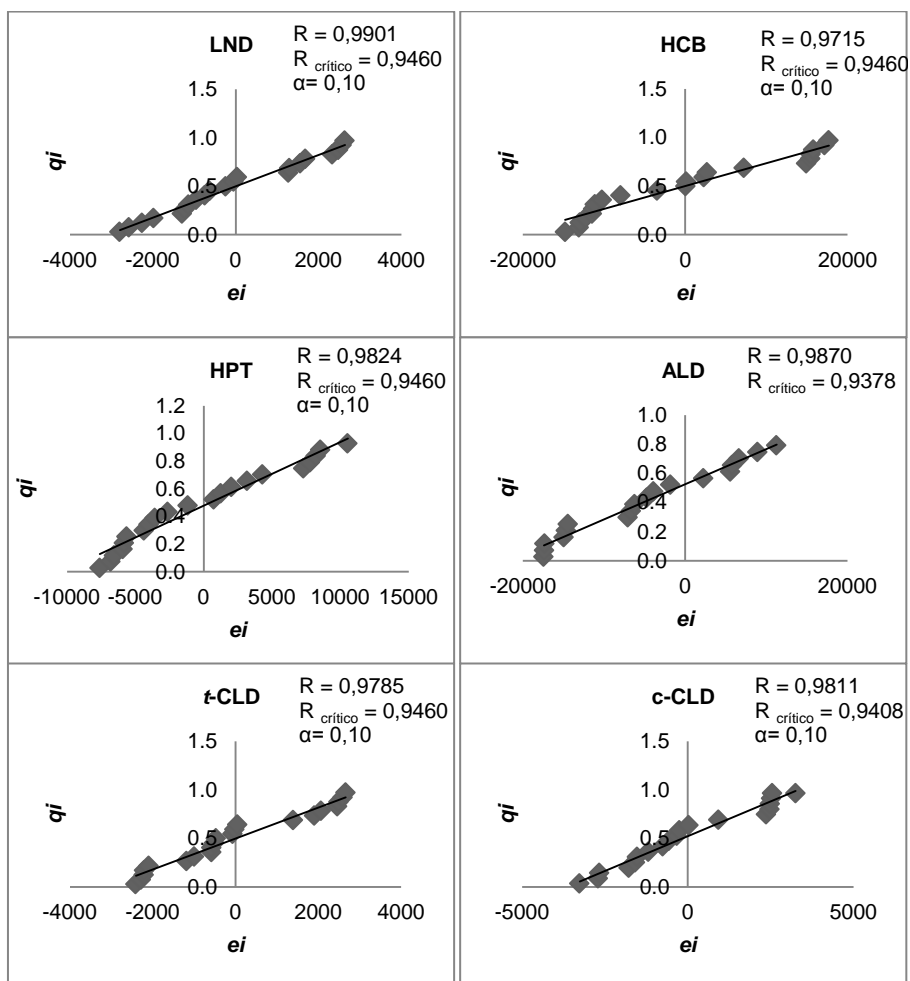


GRÁFICO 2 – Representação exploratória dos resíduos das curvas dos dez organoclorados submetidos à ESL-PBT, após exclusão de valores dispersos diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife, com $\alpha = 0,05$. e_i = resíduo da regressão, $----- = \pm t_{(1-\alpha/2; n-2)} S_{res}$, α = significância

A distribuição normal dos resíduos da regressão foi confirmada pelo teste de Ryan-Joiner, (GRAF. 3). Os coeficientes de correlação calculados (R) foram superiores aos coeficientes críticos ($R_{\text{crítico}}$), sendo eles: $0,9901 > 0,9460$ para LND; $0,9715 > 0,9460$ para HCB; $0,9824 > 0,9460$ para HPT; $0,9870 > 0,9378$ para ALD; $0,9785 > 0,9460$ para t-CLD; $0,9811 > 0,9408$ para c-CLD; $0,9653 > 0,9378$ para END; $0,9849 > 0,9435$ para DLD; $0,9894 > 0,9460$ para DDT e $0,9773 > 0,9435$ para MRX. Estes resultados indicam que o desvio da normalidade não foi significativo ($\alpha = 0,10$).



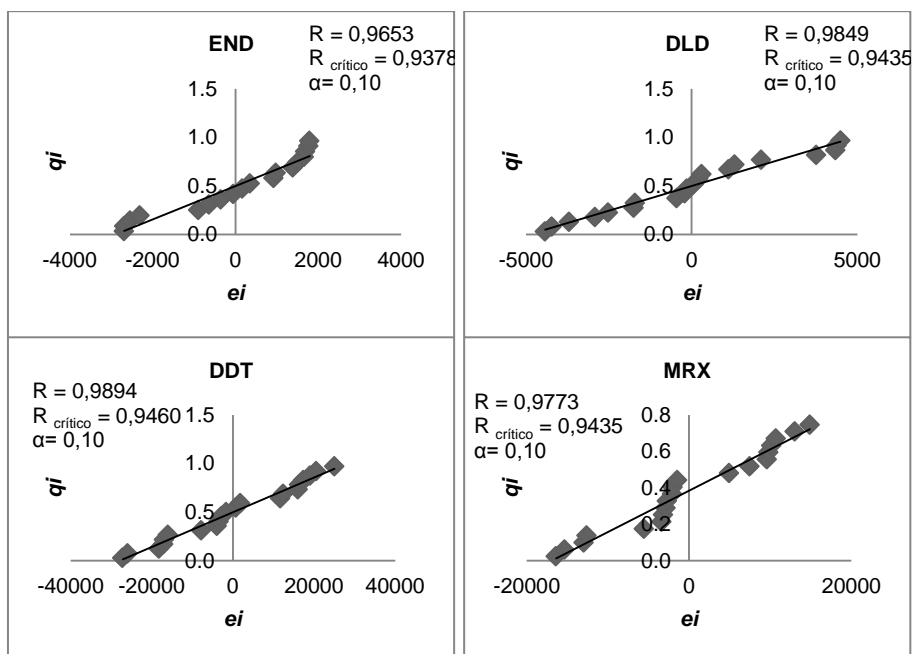


GRÁFICO 3 - Probabilidade normal das curvas dos dez organoclorados analisados em extrato de lodo de esgoto após ESL-PBT
 Notas: R = coeficiente de correlação de Ryan-Joiner, R_{critico} = valor crítico estabelecido, α = significância, e_i = resíduo da regressão, q_i = valor normal esperado.

Os resíduos da regressão apresentaram variabilidade constante ao longo dos níveis de concentração, demonstrando homoscedasticidade para todos organoclorados. A estatística t de Levene não foi significativa ($\alpha = 0,05$) em todas as curvas examinadas, apresentando t de Levene superior ao t_{critico} (TAB. 7).

TABELA 7

Representação da homogeneidade das variâncias dos resíduos da regressão das curvas analíticas dos dez organoclorados analisados pelo teste de Levene modificado

Organoclorado	Estatística		
	<i>N</i>	t_L	$t_{crítico}$
LND	21	0,44	2,09
HCB	21	1,14	2,09
HPT	21	-0,167	2,09
ALD	19	1,28	2,11
<i>t</i> -CLD	21	1,18	2,09
<i>c</i> -CLD	19	0,18	2,11
END	18	-0,23	2,12
DLD	20	1,23	2,10
DDT	21	0,78	2,09
MRX	20	1,09	2,10

N = número de observações; t_L = estatística *t* de Levene; $t_{crítico}$ = valor tabelado para $\alpha = 0,05$.

A independência dos resíduos da regressão foi evidenciada apenas para ALD e END, pelo teste de Durbin-Watson, que apresentaram limites inferiores (d_L) e superiores (d_U) menores que a estatística *d*, ao nível de significância de $\alpha = 0,05$, significando que não houve autocorrelação (TAB. 8), entretanto não foi observado perfil de distribuição homogêneo dos pontos nos quatro quadrantes dos gráficos. Para os compostos LND, HCB, HPT, *t*-CLD, *c*-CLD, DLD e DDT, foi evidenciada autocorrelação dos resíduos da regressão, pois apresentaram estatística *d* inferiores aos limites (d_L e d_U). O teste de Durbin-Watson não foi conclusivo para o composto MRX, pois apresentou $d_L > d < d_U$. A distribuição dos pontos nos gráficos para os compostos LND, HCB, HPT, *t*-CLD, *c*-CLD, DLD, DDT e MRX, não sugeriu

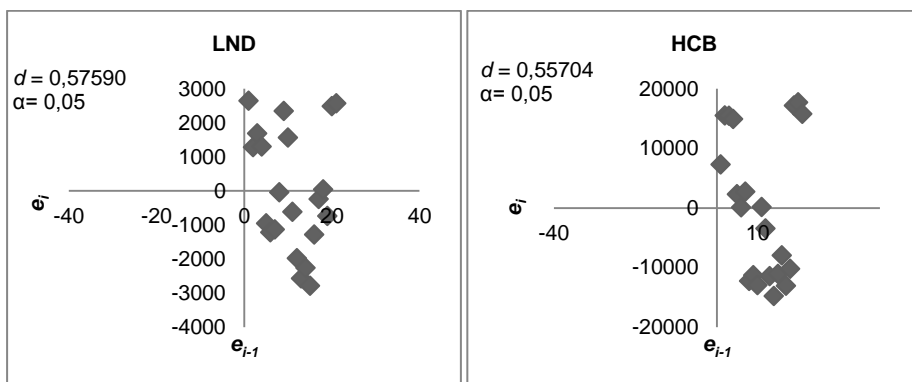
tendência positiva ou negativa, com concentração dos pontos no primeiro e quarto quadrante (GRAF. 4).

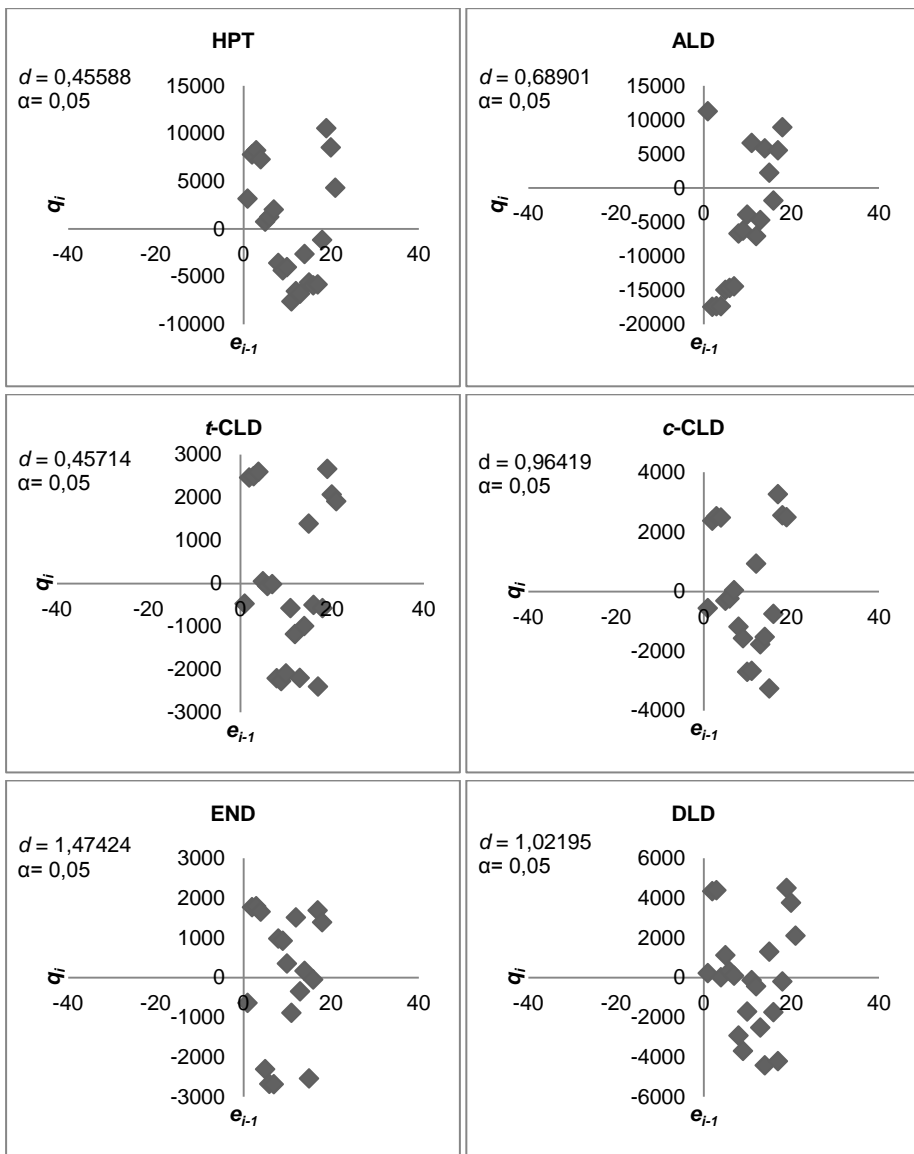
TABELA 8

Representação da independência dos resíduos de regressão das curvas analíticas dos dez organoclorados pelo teste de Durbin-Watson

Organoclorado	Estatística		
	D	d_L	d_U
LND	0,57590	1,22017	1,41973
HCB	0,55704	1,22017	1,41973
HPT	0,45588	1,22017	1,41973
ALD	0,68901	1,13219	1,38050
t-CLD	0,89670	1,22017	1,41973
c-CLD	0,96419	1,15667	1,39072
END	1,47424	1,13219	1,38050
DLD	1,02195	1,17938	1,40070
DDT	0,91429	1,22017	1,41973
MRX	1,35310	1,17938	1,40070

Notas: d = estatística de Durbin-Watson; d_L = limite inferior; d_U = limite superior. Significância $\alpha = 0,05$.





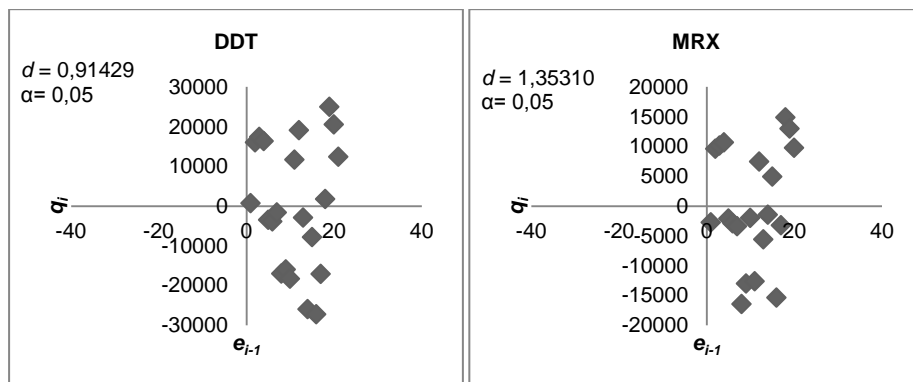


GRÁFICO 4 - Curvas dos dez organoclorados em extrato de lodo de esgoto

Notas: d = estatística de Durbin-Watson, α = significância, e_i = resíduo da regressão.

Foi observada alta significância da regressão ($\alpha = 0,001$) para todos os organoclorados (TAB. 9). As premissas relativas ao MMQO (normalidade, homoscedasticidade e independência) foram confirmadas para os compostos ALD e END, indicando linearidade nas faixas de concentração estudadas, sem ponderações. A adequação do uso do MMQO para a estimativa dos parâmetros da regressão não foi observada para os demais organoclorados, pois não houve confirmação da independência desses compostos, impedindo a inferência da linearidade do método nas faixas de concentração estudadas.

TABELA 9

Estatística da análise de variância da regressão para as curvas dos dez organoclorados analisados

Organoclorado	Estatística	
	F	$F_{crítico}$
LND	$1,12 \times 10^3$	$1,19 \times 10^{-17}$
HCB	$6,10 \times 10^2$	$2,45 \times 10^{-15}$
HPT	$4,68 \times 10^2$	$2,49 \times 10^{-14}$
ALD	$3,56 \times 10^2$	$7,35 \times 10^{-12}$
t-CLD	$8,80 \times 10^2$	$9,72 \times 10^{-17}$
c-CLD	$8,47 \times 10^2$	$6,08 \times 10^{-16}$
END	$8,90 \times 10^2$	$9,03 \times 10^{-15}$
DLD	$9,02 \times 10^2$	$3,60 \times 10^{-16}$
DDT	$4,32 \times 10^2$	$4,95 \times 10^{-14}$
MRX	$7,06 \times 10^2$	$2,78 \times 10^{-15}$

Notas: F = estatística do teste; $F_{crítico}$ = valor de F tabelado

3.3.4 Efeito de matriz

Os resultados referentes à adequação ao MMQO estão descritos nas TAB. 10 e 11. O efeito de matriz foi avaliado a partir de duas curvas analíticas, cujas soluções padrão foram preparadas em extrato da matriz e acetonitrila. O teste F foi realizado para cada curva analítica dos dez organoclorados. Para HCB e MRX, o teste indicou heteroscedasticidade na variância dos resíduos. Dessa forma, a comparação da interseção entre as curvas analíticas (extratos da matriz e acetonitrila) foi feita pelo teste t , o qual foi calculado a partir das variâncias amostrais de cada curva. De modo semelhante foi realizada a comparação entre as inclinações das curvas analíticas desses compostos. Para os demais organoclorados, o teste F indicou homoscedasticidade nas variâncias dos resíduos. Dessa forma, foram comparadas as inclinações das curvas analíticas e os interceptos (extrato e acetonitrila) pelo teste t de variâncias combinadas.

TABELA 10

Avaliação da linearidade das curvas analíticas preparadas em padrão da matriz para os dez organoclorados analisados

Estatística	Organoclorados									
	LND	HCB	HPT	ALD	t-CLD	c-CLD	END	DLD	DDT	MRX
<i>Número de observações ($\alpha = 0,10$)</i>										
<i>N</i>	17	17	20	17	21	20	21	18	21	21
<i>Normalidade ($\alpha = 0,05$)</i>										
<i>R</i>	0,8170	0,8944	0,9750	0,9830	0,9407	0,9740	0,9893	0,9750	0,9821	0,9677
<i>R_{crítico}</i>	0,9344	0,9344	0,9435	0,9344	0,9460	0,9435	0,9460	0,9378	0,9460	0,9460
<i>Homoscedasticidade ($\alpha = 0,05$)</i>										
<i>t_i</i>	0,15	-0,17	-0,14	1,49	0,22	0,08	-0,02	-0,02	0,12	0,16
<i>t_{crítico}</i>	2,13	2,13	2,10	2,13	2,09	2,10	2,09	2,12	2,09	2,09
<i>Independência ($\alpha = 0,05$)</i>										
<i>d_L</i>	1,10570	1,10570	1,17938	1,10570	1,20049	1,17938	1,20049	1,10570	1,20049	1,20049
<i>D</i>	7,36056	1,11620	1,24874	1,48203	1,55440	1,50786	1,54467	1,65015	1,04110	1,80252
<i>d_U</i>	1,37009	1,37009	1,40070	1,37009	1,41037	1,40070	1,14037	1,37009	1,14037	1,14037
<i>Análise de variância da regressão ($\alpha = 0,001$)</i>										
<i>F</i>	5,99x10	5,37 x10 ²	6,16x10 ²	5,44x10 ²	8,47x10 ²	7,69x10 ²	8,67x10	4,3x10 ²	3,63x10	1,94x10 ³
<i>F_{crítico}</i>	1,29x10 ⁻⁶	3,72x10 ⁻¹⁷	2,24x10 ⁻¹⁵	3,37x10 ⁻¹³	3,37x10 ⁻¹⁷	3,2x10 ⁻¹⁶	1,65x10 ⁻⁶	5,5x10 ⁻¹³	8,56x10 ⁻⁶	1,37x10 ⁻²⁰

Notas: *n* = número de observações, *R* = coeficiente de correlação de Ryan-Joiner, *R_{crítico}* = valor crítico estabelecido, *t_L* = estatística *t* de Levene, *t_{crítico}* = valor tabelado, *d* = estatística de Durbin-Watson, *d_L* = limite inferior, *d_U* = limite superior, *F* = estatística do teste; *F_{crítico}* = valor de *F* tabelado, α = significância

TABELA 11

Avaliação da linearidade das curvas analíticas preparadas em acetonitrila para os dez organoclorados analisados

Estatística	Organoclorados									
	LND	HCB	HPT	ALD	t-CLD	c-CLD	END	DLD	DDT	MRX
<i>Número de observações</i>										
<i>N</i>	18	20	21	21	17	19	18	17	20	21
<i>Normalidade ($\alpha = 0,10$)</i>										
<i>R</i>	0,9782	1,0424	1,1848	1,1848	0,9096	0,9849	0,9577	0,8433	1,0730	1,1956
<i>R</i> _{crítico}	0,9378	0,9435	0,9460	0,9460	0,9344	0,9408	0,9378	0,9344	0,9435	0,9460
<i>Homoscedasticidade ($\alpha = 0,05$)</i>										
<i>t_i</i>	-1,50	-0,03	-0,35	0,71	0,25	-0,31	0,18	-0,52	-0,93	0,30
<i>t</i> _{crítico}	1,75	1,73	1,73	1,73	1,75	1,74	1,75	1,75	1,73	1,73
<i>Independência ($\alpha = 0,05$)</i>										
<i>d_L</i>	1,15667	1,20049	1,22017	1,22017	1,13219	1,17938	1,15667	1,13219	1,20049	1,22017
<i>D</i>	1,58008	1,57380	0,68488	0,69582	0,57796	1,01413	1,45766	1,88031	1,86833	0,90190
<i>d_U</i>	1,39072	1,41037	1,41973	1,41973	1,38050	1,40070	1,39072	1,38050	1,41037	1,41973
<i>Análise de variância da regressão ($\alpha = 0,001$)</i>										
<i>F</i>	$2,45 \times 10^2$	$3,28 \times 10^2$	$3,35 \times 10^2$	$4,53 \times 10^2$	$7,56 \times 10^2$	$3,91 \times 10^2$	$4,24 \times 10^2$	$6,90 \times 10^2$	$2,00 \times 10^2$	$1,29 \times 10$
<i>F</i> _{crítico}	$4,00 \times 10^{-11}$	$5,36 \times 10^{-13}$	$1,57 \times 10^{-15}$	$1,02 \times 10^{-14}$	$3,02 \times 10^{-14}$	$3,63 \times 10^{-13}$	$6,09 \times 10^{-13}$	$5,87 \times 10^{-14}$	$3,50 \times 10^{-11}$	$7,23 \times 10^{-1}$

Notas: *n* = número de observações, *R*= coeficiente de correlação de Ryan-Joiner, *R*_{crítico} = valor crítico estabelecido, *t_L* = estatística *t* de Levene, *t*_{crítico} = valor tabelado, *d* = estatística de Durbin-Watson, *d_L* = limite inferior, *d_U*= limite superior, *F* = estatística do teste; *F*_{crítico} = valor de *F* tabelado, α = significância.

Os resultados evidenciaram efeito de matriz para LND, HCB e HPT, pois os dados estatísticos apontaram diferença nas inclinações das curvas (matriz X acetonitrila) (TAB. 12). O efeito de matriz nesses compostos foi caracterizado como positivo, pois a resposta cromatográfica dos compostos na matriz é superior às respostas cromatográficas dos mesmos em solvente puro (GRAF. 5). Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por S'anchez-Brunet *et al.* (2008), os quais analisaram os organoclorados α -BHC, β -BHC, δ -BHC, endosulfan-I (α), endosulfan-II (β), endosulfan sulfato, END aldeído, HPT epóxido, DDD e DDE, juntamente com os organoclorados ALD, DLD, LND, END, HPT e DDT, também estudados na presente pesquisa; e aos obtidos por Barbosa *et al.* (2014), para HPA, em lodo de esgoto, obtido da estação de tratamento do município de Juramento-MG.

TABELA 12

Comparações entre as interseções e inclinações das curvas analíticas preparadas em extrato da matriz e em acetonitrila para os dez organoclorados analisados

Organoclorados	t_a	$t_{crítico}$	t_b	$t_{crítico}$
	Comparação da interseção		Comparação da inclinação	
LND	0,000191	1,693889	3,901876	1,693889
HCB	1,481760	1,644853	4,392354	1,644853
HPT	0,000012	1,684875	2,558957	1,684875
ALD	0,000006	1,687094	1,024348	1,687094
t-CLD	0,000035	1,689572	0,533916	1,689572
c-CLD	0,000003	1,687094	0,407837	1,687094
END	0,000058	1,687094	0,980186	1,687094
DLD	0,000278	1,693889	1,334822	1,693889
DDT	0,000004	1,684875	1,640476	1,684875
MRX	0,000078	1,683851	0,673963	1,683851

Notas: t_a = estatística t para contraste entre interseções; t_b = estatística t para contraste entre inclinações; $t_{crítico}$ = valor tabelado para $\alpha = 0,05$.

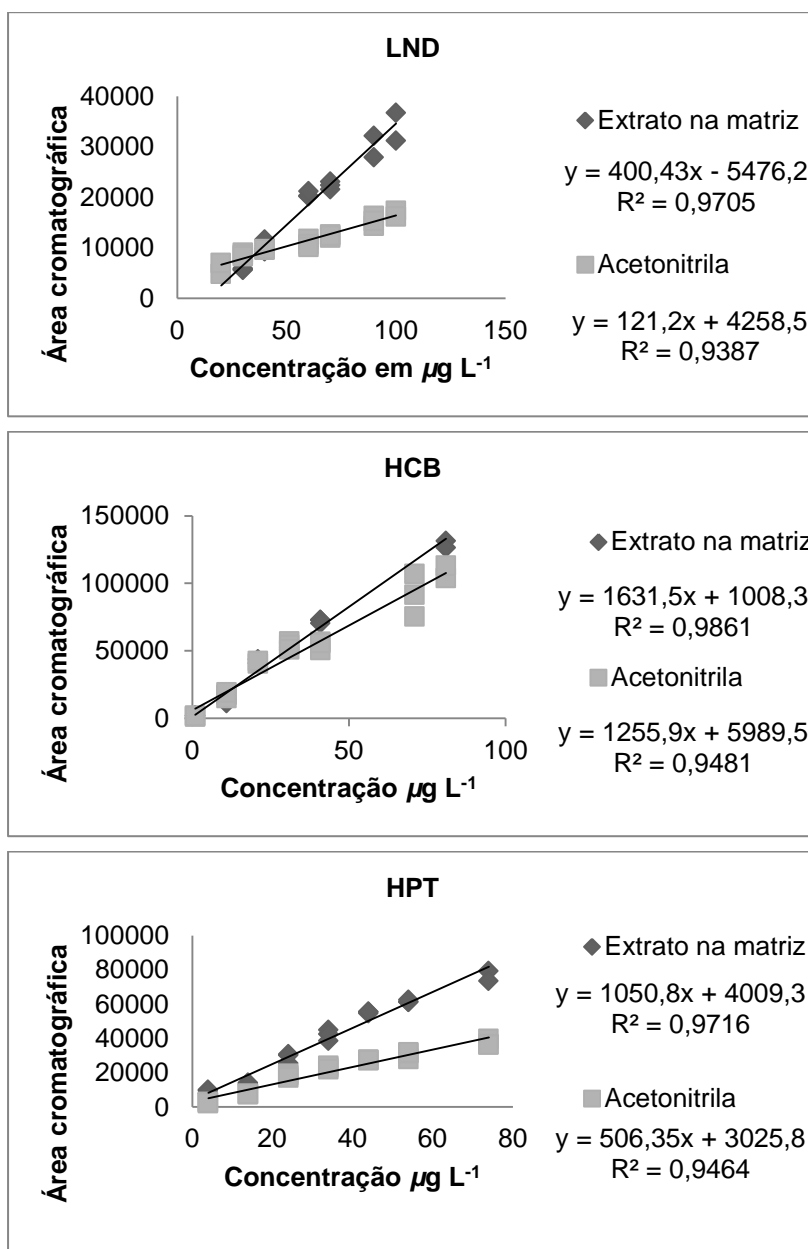


GRÁFICO 5 – Curvas de calibração, obtidas na avaliação do efeito de matriz em extrato e solvente, nas faixas de concentração estudadas, com respectivas equações e coeficientes de determinação (R^2)

Notas: y = área cromatográfica, x = concentração $\mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.5 Exatidão e precisão

A exatidão foi avaliada utilizando-se ensaios de recuperação nas concentrações 1 x LQ, LQ+10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LMR otimizado (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Foi observado aumento nas respostas cromatográficas para todos os compostos na concentração LQ, obtendo porcentagens de recuperação entre 112 a 396% (TAB. 13). Os resultados podem ser atribuídos ao efeito de matriz, que, em baixas concentrações, proporciona uma superestimação da porcentagem de recuperação. Tais resultados não foram demonstrados no teste de efeito de matriz, pois esse trabalha com curvas de calibração em concentrações crescentes, demonstrando o efeito de matriz na faixa de concentração, atenuando, dessa forma, a resposta obtida em LQ. Para LQ+10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LMR, as porcentagens de recuperação atenderam às recomendações da IUPAC, que sugere a faixa de 70 a 120% como critério para exatidão (TAB. 13).

TABELA 13

Exatidão e precisão do método para determinação dos dez organoclorados analisados em lodo de esgoto

Organoclorados	LQ	LQ + 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	LMR (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$) ^(a)	
	(2-40 $\mu\text{g Kg}^{-1}$) ^(a)	^(a)	1° dia	7° dia
Recuperação (%) (média \pm DPR)				
LND	112 \pm 10	94 \pm 2	113 \pm 4	109 \pm 2
HCB	741 \pm 1	106 \pm 12	84 \pm 3	78 \pm 4
HPT	208 \pm 11	92 \pm 14	103 \pm 2	99 \pm 4
ALD	162 \pm 5	78 \pm 6	94 \pm 3	88 \pm 5
<i>t</i> -CLD	396 \pm 17	100 \pm 3	104 \pm 1	97 \pm 4
<i>c</i> -CLD	310 \pm 16	92 \pm 7	106 \pm 1	97 \pm 4
DLD	183 \pm 2	104 \pm 11	106 \pm 0	101 \pm 3
END	120 \pm 11	81 \pm 18	108 \pm 2	104 \pm 5
DDT	255 \pm 12	92 \pm 9	98 \pm 5	105 \pm 11
MRX	155 \pm 14	76 \pm 5	78 \pm 0	71 \pm 5

Nota: ^a média de 3 repetições.

Os testes de precisão avaliam a concordância entre os resultados (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). Os resultados da precisão intermediária mostraram que não houve diferença estatística na porcentagem de recuperação entre os dois dias (1° e 7° dia) de análise. O DPR entre as análises foi inferior a 7%, o que também foi considerado satisfatório (TAB. 14), demonstrando a precisão da ESL-PBT

TABELA 14

Teste de média da porcentagem de recuperação, em função do dia de extração

Dia	Organoclorados									
	LND	HCB	HPT	ALD	<i>t</i> -CLD	<i>c</i> -CLD	DLD	END	DDT	MRX
	Recuperação média (%)									
1°	113 a	84 a	103 a	94 a	104 a	106 a	106 a	108 a	98 a	78 a
7°	109 a	78 a	99 a	88 a	97 a	97 a	101 a	104 a	105 a	71 a
C. V. (%)	3,25	3,47	3,27	4,34	3,15	2,78	2,23	1,72	8,59	3,33
DPR (%)	±3	±5	±3	±5	±5	±6	±3	±3	±5	±7

Nota: Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey 5% realizado no programa estatístico SAEG.

4 CONCLUSÃO

As condições cromatográficas para a análise dos extratos obtidos na ESL-PBT foram otimizadas, utilizando-se *liner* sem lã de vidro, pois aumentou a intensidade dos sinais cromatográficos dos organoclorados de 9 a 120 vezes, além da detecção do END, que não era possível com a lã de vidro devido à sua adsorção nos grupos silanóis.

A técnica de ESL-PBT proposta para a extração de dez organoclorados foi otimizada utilizando o C18 como adsorvente na etapa de *clean up* e com tempo de 6 horas de fortificação das amostras de lodo de esgoto, obtendo-se porcentagens de recuperação acima de 90% para a maioria dos organoclorados, o que evidencia a sua eficiência.

Na etapa de validação, foi avaliada a eficiência a ESL-PBT, tendo como base a estatística do MMQO. Os parâmetros seletividade, exatidão e precisão da técnica contemplaram os critérios estabelecidos para todos os organoclorados.

A linearidade foi determinada apenas para ALD e END, atendendo às primícias de normalidade, homoscedasticidade e independência dos resíduos da regressão, sem ponderações, na faixa de concentração estudada. Para os demais organoclorados, a detecção de autocorrelação de seus resíduos de regressão impediu o ajuste da linearidade do método nas faixas de concentração estudadas.

Os limites de quantificação obtidos para o método proposto foram maiores para a maioria dos organoclorados que os encontrados na literatura corrente, porém se apresentaram menores do que os LMR recomendados pela EPA. Foi evidenciado efeito de matriz com tendência positiva para LND, HCB e HPT.

A ESL-PBT foi satisfatoriamente validada, sendo um método simples, de fácil execução, com possibilidade de aplicação em amostras reais para a demonstração de sua eficiência.

REFERÊNCIAS

ABELSOHN, A.; GIBSON, B. L.; SANBORN, M. D.; WEIR, E. Identifying and managing adverse environmental health effects: 5. Persistent organic pollutants. **Canadian Medical Association Journal**, v. 166, n. 12, p. 1549-1554, 2002.

AEL, E. V.; COVACI, A.; DAS, K.; LEPOINT, G.; BLUST, R.; BERVOETS, L. Factors influencing the bioaccumulation of persistent organic pollutants in food webs of the Scheldt estuary. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 19, p. 11221-11231, 2013.

AHMAD, R.; SALEM, N. M.; ESTAITIEH, H. Occurrence of organochlorine pesticide residues in eggs, chicken and meat in Jordan. **Chemosphere**, v. 78, n. 6, p. 667-671, 2010.

AL-RASHDAN, A.; HELALEH, M. I.; NISAR, A.; AL-BALLAM, Z. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorinated pesticides (OCPs) in sewage sludge using gas chromatography tandem mass spectrometry. **Current Analytical Chemistry**, v. 6, n. 2, p. 177-183, 2010.

ANDREOLI, C. V. **Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura**. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. ABES, 1999.

ANGLIN, C.; MCKINLEY, W. P. Insecticide residues, procedure for cleanup of plant extracts prior to analyses for DDT and related pesticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 186-189, 1960.

ANTILLE, D. L. **Formulation, utilisation and evaluation of organomineral fertilisers**. Cranfield University, Bedford, UK, 2011.

APARICIO, I.; SANTOS, J. L.; ALONSO, E. Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: a case study in South Spain. **Waste Management**, v. 29, n. 5, p. 1747-1753, 2009.

ATKINSON, A. C. Review:, Two Books on Regression Diagnostics; BELSLEY, D. A.; KUH, E.; WELSCH, R. E. , Regression Diagnostics: Identifying Influential Data and Sources of Collinearity; RD Cook, Sanford Weisberg, Residuals and Influence in Regression. **The Annals of Statistics**, v. 12, n. 1, p. 392-401, 1984.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement Chlordane. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 6p., 1994.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement Heptachlor. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 203p., 2007.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement Hexachlorobenzene. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 203p., 2013.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement Hexachlorocyclohexane. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 6p., 2005.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Aldrin/Dieldrin. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 303p., 2002.

ATSDR-Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for mirex and cholordecone. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, 6p., 1995.

BACZYNSKI, Tomasz P.; GROTENHUIS, Tim; KNIPSCHEER, Petronella. The dechlorination of cyclodiene pesticides by methanogenic granular sludge. *Chemosphere*, v. 55, n. 5, p. 653-659, 2004.

BARAN, S.; OLESZCZUK, P. Chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in sewage sludge, soil, and sewage sludge-amend soils. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 11, n. 6, p. 609-615, 2002.

BARBOSA, E. S., EVANGELISTA, G. F., PIMENTA, E. M., SILVÉRIO, F. O., PINHO, G. P. Otimização e validação da extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura de hpas em lodo de esgoto. **Química Nova**, v. 37, n. 3, p. 404-410, 2014.

BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, 2004.

BARNHOORN, I. E. J.; VAN DYK, J. C.; GENTHE, B.; HARDING, W. R.; WAGENAAR, G. M.; BORNMAN, M. S. Organochlorine pesticide levels in *Clarias gariepinus* from polluted freshwater impoundments in South Africa and associated human health risks. **Chemosphere**, 120, 391-397. 2015.

BAZILIO, F. S.; BOMFIM, M. V. J.; ALMEIDA, R. J. D.; ABRANTES, S. D. M. P. Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. 2012.

BECOUBE, C.; WIEST, L.; BAUDOT, R.; BERTRAND-KRAJEWSKI, J. L.; CREN-OLIVÉ, C. Optimisation of pressurised liquid extraction for the ultra-trace quantification of 20 priority substances from the European Water Framework Directive in atmospheric particles by GC-MS and LC-FLD-MS/MS. **Analytica Chimica Acta**, v. 693, n. 1, p. 47-53, 2011.

BEDENDO, G. C.; CARASEK, E. Simultaneous liquid–liquid microextraction and polypropylene microporous membrane solid-phase extraction of organochlorine pesticides in water, tomato and strawberry samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 1, p. 7-13, 2010.

BELSLEY, David A.; KUH, Edwin; WELSCH, Roy E. **Regression diagnostics: Identifying influential data and sources of collinearity**. John Wiley & Sons, 2005.

BERSET, J. D.; HOLZER, R. Quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in sewage sludges using supercritical fluid extraction and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 852, n. 2, p. 545-558, 1999.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. A disposição de lodo de esgoto em solo agrícola. In: _____. **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2006. cap. 2, p. 25-35.

BOER, J.; BLOK, D.; BALLESTEROS-GÓMEZ, A. Assessment of ionic liquid stationary phases for the determination of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers. **Journal of Chromatography A**, v. 1348, p. 158-163, 2014.

BOER, J; FIEDLER, H. Persistent Organic Pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 46, 2013.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 375, de Agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerado em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/> > Acesso em fev. 2014.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N°. 420, de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de

qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620> > Acesso em fev. 2014.

CABIDOCHÉ, Y. M.; LESUEUR-JANNOYER, M. Contamination of harvested organs in root crops grown on chlordecone-polluted soils. **Pedosphere**, v. 22, n. 4, p. 562-571, 2012.

CASTRO, M. D. L.; GARCIA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, n. 1, p. 1-10, 1998.

CERQUEIRA, M. B. R.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. New sorbent in the dispersive solid phase extraction step of quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe for the extraction of organic contaminants in drinking water treatment sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1336, p. 10-22, 2014.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Ficha de Informação Toxicológica: Clordano**. Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental. São Paulo, 2 p., 2012.

CHI, Y.; LI, Y.; FEI, X.; WANG, S.; YUAN, H. Enhancement of thermophilic anaerobic digestion of thickened waste activated sludge by combined microwave and alkaline pretreatment. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 8, p. 1257-1265, 2011.

CHIANG, K. Y.; CHOU, P. H.; HUA, C. R.; CHIEN, K. L.; CHEESEMAN, C. . Lightweight bricks manufactured from water treatment sludge and rice husks. **Journal of Hazardous Materials**, v. 171, n. 1, p. 76-82, 2009.

CLARKE, B. O.; PORTER, N. A.; MARRIOTT, P. J.; BLACKBEARD, J. R. Investigating the levels and trends of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl in sewage sludge. **Environment International**, v. 36, n. 4, p. 323-329, 2010.

COAT, S.; MONTI, D.; LEGENDRE, P.; BOUCHON, C.; MASSAT, F.; LEPOINT, G. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 6, p. 1692-1701, 2011.

COLLIN, B.; DOELSCH, E. Impact of high natural soilborne heavy metal concentrations on the mobility and phytoavailability of these elements for sugarcane. **Geoderma**, v. 159, n. 3, p. 452-458, 2010.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos em cromatografia**, 1. ed, Campinas: ed. UNICAMP, 456 p., 2006.

CONCHA-GRAÑA, E.; BARRIADA-PEREIRA, M.; TURNES-CAROU, M. I.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; RODRIGUEZ, D. P. Microwave extraction of organochlorine pesticides from soils. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, n. 8, p. 1225-1228, 2003.

CONCHA-GRAÑA, E.; TURNES-CAROU, M. I.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine pesticides in soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, n. 1, p. 147-155, 2004.

CORREIA-SÁ, L.; FERNANDES, V. C.; CALHAU, C.; DOMINGUES, V. F.; DELERUE-MATOS, C. Optimization of QuEChERS procedure coupled to GC-ECD for organochlorine pesticide determination in carrot samples. **Food Analytical Methods**, v. 6, n. 2, p. 587-597, 2013.

CORTADA, C.; VIDAL, L.; PASTOR, R.; SANTIAGO, N.; CANALS, A. Determination of organochlorine pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 649, n. 2, p. 218-221, 2009.

COSTA, A. I.; QUEIROZ, M. E.; NEVES, A. A.; DE SOUSA, F. A.; ZAMBOLIM, L. Determination of pesticides in lettuce using solid-liquid extraction with low temperature partitioning. **Food Chemistry**, v. 181, p. 64-71, 2015.

CUSIDÓ, J. A.; CREMADES, L. V. Environmental effects of using clay bricks produced with sewage sludge: leachability and toxicity studies. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1202-1208, 2012.

DANESHVAR, A.; ABOULFADL, K.; VIGLINO, L.; BROSEÚS, R.; SAUVÉ, S.; MADOUX-HUMERY, A. S.; WEYHENMEYER, G. A.; PRÉVOST, M. Evaluating pharmaceuticals and caffeine as indicators of fecal contamination in drinking water sources of the Greater Montreal region. **Chemosphere**, v. 88, n. 1, p. 131-139, 2012.

DIAS, A. N.; SIMÃO, V.; MERIB, J.; CARASEK, E. Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, v. 134, p. 409-414, 2015.

DRABOVA, L.; PULKRABOVA, J.; KALACHOVA, K.; TOMANIOVA, M.; KOCOUREK, V.; HAJŠLOVA, J.. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tea using two-dimensional gas chromatography coupled with time of flight mass spectrometry. **Talanta**, v. 100, p. 207-216, 2012.

EEKERT, V. M.; SCHRAA, G. The potential of anaerobic bacteria to degrade chlorinated compounds. **Water Science & Technology**, v. 44, n. 8, p. 49-56, 2001.

EPA- Environmental Protection Agency. Aspects of Pesticidal Use of Endrin on Man and the Environment, Health and Ecological Criteria Division. Washington, 304 p., 1973.

EPA- Environmental Protection Agency. Endrin: Ambient Water Quality Criteria. Health and Ecological Criteria Division. Washington, 99 p., 1978.

EPA- Environmental Protection Agency. Health Effects Support Document for Aldrin/Dieldrin. Health and Ecological Criteria Division. Washington, 255p., 2003.

EPA- Environmental Protection Agency. Hexachlorobenzene. Technology Transfer Network - Air Toxics Web Site, 1992. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/hexa-ben.html>>. Acesso em jun.2015.

EPA VICTORIA. Guidelines for environmental management: Biosolids land application. Southbank, EPA Victoria, 2004.

EPA. Carcinogenicity assessment of aldrin and dieldrin. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Carcinogenesis Assessment Group. EPA 600/6-87/006.1987.

EPA. Method 8081B: Organochlorine pesticides by gas chromatography, fevereiro de 2007. Disponível em: <<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8081b.pdf>>. Acesso em out. 2014.

FALANDYSZ, J.; STRANDBERG, B. Persistent organochlorine compounds in sludge and sediments from the Gdańsk region, Baltic Sea. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 13, n. 2, p. 133-138, 2004.

FERNÍCOLA N.; OLIVEIRA S. S. **Poluentes Orgânicos Persistentes POPs**. Série Caderno de Referências Ambiental. CRA, v. 13, 500p. 2002.

FILHO, E. S.; SILVA, R. S.; BARRETTO, H. H.; INOMATA, O. N. K.; LEMES, V. R. R.; KUSSUMI, T. A.; ROCHA, S. O. B. Grau de exposição a praguicidas organoclorados em moradores de aterro a céu aberto. **Revista Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 515-22, 2003.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 111-124, 2004.

FOGHT, J.; APRIL, T.; BIGGAR, K.; AISLABIE, J. Bioremediation of DDT-contaminated soils: a review. **Bioremediation Journal**, v. 5, n. 3, p. 225-246, 2001.

FRAGUEIRO, S.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Hydride generation-headspace single-drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry method for determination of selenium in waters after photoassisted prerelution. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1096-1101, 2006.

FRANÇA, J. A.; BRANDÃO, M.; SODRÉ, F. F.; CALDAS, E. D. Simultaneous determination of prescription drugs, cocaine, aldicarb and metabolites in larvae from decomposed corpses by LC-MS-MS after solid-liquid extraction with low temperature partitioning. **Forensic Toxicology**, v. 33, n. 1, p. 93-103, 2015.

FREITAG, D.; BALLHORN, L.; GEYER, H.; KORTE, F. Environmental hazard profile of organic chemicals: An experimental method for the assessment of the behaviour of organic chemicals in the ecosphere by means of simple laboratory tests with ¹⁴C labelled chemicals. **Chemosphere**, v. 14, n. 10, p. 1589-1616, 1985.

FREITAS, R. D. S. D.; QUEIROZ, M. E. L. R. D.; FARONI, L. R. D. A.; HELENO, F. F.; MOURA, V. V. D. Development of a solid-liquid extraction

method with low-temperature partitioning for the determination of insecticides in ozonized maize grain. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 238-243, 2014.

GAGO-FERRERO, P.; BOROVA, V.; DASENAKI, M. E.; THOMAIDIS, N. S. Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 407, n. 15, p. 4287-4297, 2015.

GAYNOR, A. A. Contaminação do solo com pesticidas. Estudo de caso de Peth – Austrália Ocidental. **Revista de Agricultura Urbana**. 2001.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 227-238, 2007.

GORGA, M.; MARTÍNEZ, E.; GINEBRED, A.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D. Determination of PBDEs, HBB, PBEB, DBDPE, HBCD, TBBPA and related compounds in sewage sludge from Catalonia (Spain). **Science of the Total Environment**, v. 444, p. 51-59, 2013.

GOULART, S. M.; ALVES, R. D.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H.; ASSIS, T. C.; QUEIROZ, M. E. L. Optimization and validation of liquid-liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, n. 1-2, p. 41-7, 2010.

GOULART, S. M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H. Low-temperature clean-up for the determination of pyrethroids in Milk using gás chromatography with eletcron capture detection. **Talanta**, v.75, p. 1320-1323, 2008.

GRANDE, M. D.; REZENDE, M. O. O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do rio piracicaba/SP—Brazil. **Química Nova**, v. 26, p. 678-686, 2003.

GUO, L.; ZHANG, B.; XIAO, K.; ZHANG, Q.; ZHENG, M. Levels and distributions of polychlorinated biphenyls in sewage sludge of urban wastewater treatment plants. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, n. 4, p. 468-473, 2009.

HA, M. H.; LEE, D. H.; SON, H. K.; PARK, S. K.; JACOBS, D. R. Association between serum concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of newly diagnosed hypertension: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. **Journal of Human Hypertension**, v. 23, n. 4, p. 274-286, 2009.

HAIŠLOVÁ, J.; HOLADOVA, K.; KOCOUREK, V.; POUSTKA, J.; GODULA, M.; CUHRA, P.; KEMPNÝ, M. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, v. 800, n. 2, p. 283-295, 1998.

HARRISON, E. Z.; OAKES, S. R.; HYSELL, M.; HAY, A.. Organic chemicals in sewage sludges. **Science of the Total Environment**, v. 367, n. 2, p. 481-497, 2006.

HEIJMAN, S. G. J.; HOPMAN, R. Activated carbon filtration in drinking water production: model prediction and new concepts. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 151, n. 1, p. 303-310, 1999.

HELALEH, M. I. H.; AL-OMAIR, A.; AHMED, N.; GEVAO, B. Quantitative determination of organochlorine pesticides in sewage sludges using soxtec, soxhlet and pressurized liquid extractions and ion trap mass–mass spectrometric detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 4, p. 1127-1134, 2005.

HELALEH, M. I. H.; AL-OMAIR, A.; AHMED, N.; GEVAO, B. Quantitative determination of organochlorine pesticides in sewage sludges using soxtec, soxhlet and pressurized liquid extractions and ion trap mass–mass

spectrometric detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 4, p. 1127-1134, 2005.

HELENO, F. F.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; OLIVEIRA, A. F. D. Otimização, validação e aplicação de um método para determinação de resíduos difenoconazole em morangos depois de múltiplas aplicações. **Química Nova**, v 37, n. 1, p. 153-157, 2014.

HILL, D. W.; MCCARTY, P. L. Anaerobic degradation of selected chlorinated hydrocarbon pesticides. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 1259-1277, 1967.

HO, S. S. H.; YU, J. Z. In-injection port thermal desorption and subsequent gas chromatography–mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and n-alkanes in atmospheric aerosol samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1059, n. 1, p. 121-129, 2004.

HOLCOMBE, H.; TEDDINGTON, L. G. C. The fitness for purpose of analytical methods—A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. **EURACHEM Guide**, 1998.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies: Revised 1994 (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n. 2, p. 331-343, 1995.

HUBERT, P.; CHIAP, P.; CROMMEN, J.; BOULANGER, B.; CHAPUZET, E.; MERCIER, N.; BERVOAS-MARTIN, S.; CHEVALIER, P.; GRANDJEAN, D.; LAGORCE, P.; LALLIER, M.; LAPARRA, M.C.; LAURENTIE, M.; NIVET, J.C. The SFSTP guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: from the Washington Conference to the laboratory. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 135-148, 1999.

HYDE, K. M.; FALKENBERG, R. L. Neuroelectrical disturbance as indicator of chronic chlordane toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 499-515, 1976.

ICH - International Conference on Harmonisation. Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, revisão 3, 2010.

JANI, J. P.; RAIYANI, C. V.; MISTRY, J. S.; PATEL, J. S.; DESAI, N. M.; KASHYAP, S. K. Residues of organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water of Ahmedabad City, India. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, n. 3, p. 381-385, 1991.

JING, W.; ZONG-WEN, L.; SHUN, T. Existing state and development of sludgy researches in domestic and foreign. **Municipal Engineering Technology**, v. 24, n. 3, p. 140-142, 2006.

JU, J. H.; LEE, I. S.; SIM, W. J.; EUN, H.; OH, J. E. Analysis and evaluation of chlorinated persistent organic compounds and PAHs in sludge in Korea. **Chemosphere**, v. 74, n. 3, p. 441-447, 2009.

JUHLER, R. Optimized method for the determination of organophosphorus pesticides in meat and fatty matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 786, n. 1, p. 145-153, 1997.

JURADO-GUERRA, P.; LUNA-LUNA, M.; FLORES-ANCIRA, E.; SAUCEDOTERAN, R. Residual Effects of Biosolids Application on Forage Production of Semiarid Grassland in Jalisco, Mexico. **Applied and Environmental Soil Science**, 2013.

KATSOYIANNIS, A.; SAMARA, C. Persistent organic pollutants (POPs) in the sewage treatment plant of Thessaloniki, northern Greece: occurrence and removal. **Water Research**, v. 38, n. 11, p. 2685-2698, 2004.

KELESSIDIS, A.; STASINAKIS, A. S. Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. **Waste Management**, v. 32, n. 6, p. 1186-1195, 2012.

KOIFMAN, S.; KOIFMAN, R.; SARCINELLI, P.; ROSA, A. C.; CARVALHO, I. A. Human Contamination to Organochlorine Pesticides and Birth Weight Distribution in Cidade Dos Meninos, State of Rio De Janeiro, Brazil. **Epidemiology**, v. 19, n. 6, p. S309, 2008.

KWON, T. S.; LEE, J. Y. Options for reducing oil content of sludge from a petroleum wastewater treatment plant. **Waste Management & Research**, p. 0734242X15597776, 2015.

LEE, D. H.; LEE, I. K.; PORTA, M.; STEFFES, M.; JACOBS J. R. D. R. Relationship between serum concentrations of persistent organic pollutants and the prevalence of metabolic syndrome among non-diabetic adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. **Diabetologia**, v. 50, n. 9, p. 1841-1851, 2007.

LEGA, R.; LADWIG, G.; MERESZ, O.; CLEMENT, R. E.; CRAWFORD, G.; SALEMI, R.; JONES, Y. Quantitative determination of organic priority pollutants in sewage sludge by GC/MS. **Chemosphere**, v. 34, n. 8, p. 1705-1712, 1997.

LEIVA, C.; AHUMADA, I.; BETSABET, S.; RICHTER, P. Polychlorinated biphenyl behavior in soils amended with biosolids. **Chemosphere**, v. 79, p. 273–277, 2010.

LENTZA-RIZOS, C.; AVRAMIDES, E. J.; CHERASCO, F. Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. **Journal of Chromatography A**, v. 912, n. 1, p. 135-142, 2001.

LIANG, Q.; LEI, M.; CHEN, T.; YANG, J.; WAN, X.; YANG, S. Application of sewage sludge and intermittent aeration strategy to the bioremediation of DDT-and HCH-contaminated soil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 8, p. 1673-1680, 2014.

LIU, B.; WEI, Q.; ZHANG, B.; BI, J. Life cycle GHG emissions of sewage sludge treatment and disposal options in Tai Lake Watershed, China. **Science of the Total Environment**, v. 447, p. 361-369, 2013.

LIU, C.; LI, K.; YU, L.; XU, Y.; HUANG, B.; WU, J.; WANG, Z. POPs and their ecological risk in sewage sludge of waste water treatment plants in Beijing, China. **Stochastic Environmental Research and Risk Assessment**, v. 27, n. 7, p. 1575-1584, 2013.

LUND, M. D.; YUE, Y. Fractography and tensile strength of glass wool fibres. **Journal of the Ceramic Society of Japan**, v. 116, n. 1356, p. 841-845, 2008.

MAGALHÃES, E. J.; NASCENTES, C. C.; AUGUSTI, R.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVA, J. C. C.; AFONSO, R. J. C. F. Fast Determination of Benzodiazepines in Human Urine via Liquid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning and LC-HRMS. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 03, n. 02, p.118-124, 2012.

MARIA, I. C.; KOCSSI, M. A.; DECHEN, S. C. F. Agregação do solo em área que recebeu lodo de esgoto. **Bragantia**, v. 66, n. 2, p. 291-298, 2007.

MASIÁ, A.; VÁSQUEZ, K.; CAMPO, J.; PICÓ, Y. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges.

Application to the Túría River Basin. **Journal of Chromatography A**, v. 1378, p. 19-31, 2015.

MCBEAN, C. **The pesticide manual: A world compendium**. Sixteenth Edition, BCPC, 2012.

MCCULLY, K. A.; MCKINLEY, W. P. Determination of chlorinated pesticide residues in fat by electron capture gas chromatography. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, v. 47, n. 4, p. 652-8, 1964.

MICHAŁOWICZ, J.; MOKRA, K.; ROSIAK, K.; SICIŃSKA, P.; BUKOWSKA, B. Chlorobenzenes, lindane and dieldrin induce apoptotic alterations in human peripheral blood lymphocytes (in vitro study). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 979-988, 2013.

MOHN, W. W.; TIEDJE, J. M. Microbial reductive dehalogenation. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 3, p. 482-507, 1992.

MORAIS, E. H. C.; RODRIGUES, A. A. Z.; QUEIROZ, M. E. L. R. D.; NEVES, A. A.; MORAIS, P. H. D. Determination of thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin in pineapple using SLE-LTP extraction and gas chromatography. **Food Control**, v. 42, p. 9-17, 2014.

MORENO, D. V.; FERRERA, Z. S.; RODRÍGUEZ, J. J. S. Microwave assisted micellar extraction coupled with solid phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in soil samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 571, n. 1, p. 51-57, 2006.

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, n. 2, p. 157-177, 2013.

MURAYAMA, H.; MORIYAMA, N.; MITOBE, H.; MUKAI, H.; TAKASE, Y.; SHIMIZU, K. I.; KITAYAMA, Y. Evaluation of activated carbon fiber filter for sampling of organochlorine pesticides in environmental water samples. **Chemosphere**, v. 52, n. 5, p. 825-833, 2003.

MUSCALU, A. M.; REINER, E. J.; LISS, S. N.; CHEN, T.; LADWIG, G.; MORSE, D. A routine accredited method for the analysis of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, chlorobenzenes and screening of other halogenated organics in soil, sediment and sludge by GCxGC- μ ECD. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 8, p. 2403-2413, 2011.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8-18, 2011.

NASCIMENTO, N. R.; NICOLA, S. M. C.; REZENDE, M. O. O.; OLIVEIRA, T. A.; ÖBERG, G. POLLUTION by hexachlorobenzene and pentachlorophenol in the coastal plain of Sao Paulo state, Brazil. **Geoderma**, v. 121, n. 3, p. 221-232, 2004.

OLESZCZUK, P.; HOLLERT, H. Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 502-509, 2011.

OLESZCZUK, P.; ZIELINSKA, A.; CORNELISSEN. Stabilization of sewage sludge by different biochars towards reducing freely dissolved polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content. **Bioresour Technol**, v. 156, n. 1, p. 139-145, 2014.

OLIVEIRA, E. L. G.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Review of kinetic models for supercritical fluid extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 89, n. 7, p. 1104-1117, 2011.

OLIVEIRA, S. S. de. Clordano. In: FERNÍCOLA NAGG de e OLIVEIRA S de S. (Coord.). **Poluentes Orgânicos Persistentes POPs**. Série Caderno de Referências Ambiental CRA 13: 121-158, 2002.

ORRIS, P.; CHARY, L. K.; PERRY, K.; ASBURY, J. Persistent organic pollutants (POPs) and human health. New-York: WFPHA, 2000.

OZCAN, S.; TOR, A.; MEHMET, E. A. Investigation on the levels of heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls in sewage sludge samples and ecotoxicological testing. **Clean – Soil, Air, Water**, v. 41, p. 411–418, 2013.

PADRÓN, M. E. T.; FERRERA, Z. S.; RODRÍGUEZ, J. J. S. Optimisation of solid-phase microextraction coupled to HPLC-UV for the determination of organochlorine pesticides and their metabolites in environmental liquid samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 2, p. 332-340, 2006.

PASSOS, A. B. R.; FREITAS, M. A. M.; GONÇALVES, V. A.; SILVA, G. S.; DA SILVA, A. A.; QUEIROZ, M. E. L.; SILVA, D. V. Leaching of sulfentrazone in soils of reforestation in Brazil. **Environmental Earth Sciences**, p. 1-5. 2015.

PHAM, T. L.; PHAN, T. H.; NGUYEN, T. D. Analysis of Pesticides in Soil Using Dispersive Solid Phase Extraction Coupled to GC-MS. Soil and Sediment Contamination. **International Journal**, v. 23, n. 3, p. 339-352, 2014.

PICHON, V. Multiresidue solid-phase extraction for trace-analysis of pesticides and their metabolites in environmental water. **Analisis**, v. 26, n. 6, p. 91-98, 1998.

PIERZYNSKI, G. M. Plant nutrient aspects of sewage sludge. *Sewage sludge: Land utilization and the environment*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, p. 21-25, 1994.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. D.; SILVÉRIO, F. O. Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251-256, 2010a.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

PINHO, G. P.; SILVÉRIO, F. O.; EVANGELISTA, G. F.; MESQUITA, L. V.; BARBOSA, E. S. Determination of chlorobenzenes in sewage sludge by solid-liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 7, p. 1292-1301, 2014.

PINHO, G. P.; SILVÉRIO, F. O.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; STARLING, M. A. V. M. Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatográfica de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33 n. 4, p. 909-913, 2010.

PINHO, G.P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. **Food Control**, v. 21, n. 10, p. 1307-1311, 2010b.

QUAN, C.; SHANG, Y. G.; LI, S. F.; TANG, S. K.; HUANG, T.; FANG, X. Kinetic study of supercritical fluid extraction of organochlorine pesticides from ginseng by Simulink® simulation. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 41, n. 1, p. 44-48, 2010.

QUINETE, N. S.; DE OLIVEIRA, E. D. S.; FERNANDES, D. R.; DE SOUZA AVELAR, A.; SANTELLI, R. E. Assessment of organochlorine pesticide residues in Atlantic Rain Forest fragments, Rio de Janeiro, Brazil. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 12, p. 3604-3612, 2011.

RAJABI, S. K. Development of Directly Suspended Droplet Micro Extraction Method for Extraction of Organochlorine Pesticides in Water Samples. **Journal of Chemical Health Risks**, v. 5, n. 2, 2015.

RALLIS, G. N.; SAKKAS, V. A.; BOUMBA, V. A.; VOUGIOUKLAKIS, T.; ALBANIS, T. A. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in post-mortem human lung by matrix solid-phase dispersion with the aid of response surface methodology and desirability function. **Journal of Chromatography A**, v. 1227, p. 1-9, 2012.

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

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; DA SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. 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.

RIGUEIRA, L.; RIBEIRO, K. D. L.; QUEIROZ, M. E. L.; NEVES, A. A.; ZAMBOLIM, L., OLIVEIRA, R. M. Determination of chlorpyrifos and thiamethoxam in potato tuber (*Solanum tuberosum* L.) and soil of Brazil using solid-liquid extraction with low temperature partitioning (SLE/LTP). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 12, p. 2042-2049, 2013.

ROIG N.; SIERRA, J.; NADAL, M.; MARTÍ, E.; NAVALÓN-MADRIGAL, P.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L.. Relationship between pollutant

content and ecotoxicity of sewage sludges from Spanish wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 425, p. 99-109, 2012.

RUAN, T.; LIN, Y.; WANG, T.; LIU, R.; JIANG, G. Identification of novel polyfluorinated ether sulfonates as PFOS alternatives in municipal sewage sludge in China. **Environmental Science & Technology**, 2015.

SABLAYROLLES, C.; MONTREJAUD-VIGNOLES, M.; BENANOU, D.; PATRIA, L.; TREILHOU, M. Development and validation of methods for the trace determination of phthalates in sludge and vegetables. **Journal of chromatography A**, v. 1072, n. 2, p. 233-242, 2005.

SAITO, M. L. **O uso do lodo de esgoto na agricultura: precauções com os contaminantes orgânicos**. Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 2007.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; TADEO, J. L. Determination of organochlorine pesticides in sewage sludge by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1211-1217, 2008.

SCHEURER, M.; BRAUCH, H. J.; LANGE, F. T. Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, n. 6, p. 1585-1594, 2009.

SEMPLE, K. T.; REID, B. J.; FERMOR, T. R. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. **Environmental pollution**, v. 112, n. 2, p. 269-283, 2001.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the

US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p. 57–66, 2003.

SHEN, L.; XIA, B.; DAI, X. Residues of persistent organic pollutants in frequently-consumed vegetables and assessment of human health risk based on consumption of vegetables in Huizhou, South China. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2254-2263, 2013.

SILGONER, I.; KRŠKA, R.; LOMBAS, E.; GANS, O.; ROSENBERG, E.; GRASSERBAUER, M. Microwave assisted extraction of organochlorine pesticides from sediments and its application to contaminated sediment samples. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 362, n. 1, p. 120-124, 1998.

SILVÉRIO, F. O.; SILVIA, J. G. S.; AGUIAR, M. C. S.; CACIQUE, A. P.; PINHO, G. P. Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2052-2056, 2012.

SINGH, R. P.; AGRAWAL, M. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. **Waste Management**, v. 28, n. 2, p. 347-358, 2008.

SINGH, S. P.; BOSE, P.; GUHA, S.; GURJAR, S. K.; BHALEKAR, S. Impact of addition of amendments on the degradation of DDT and its residues partitioned on soil. **Chemosphere**, v. 92, n. 7, p. 811-820, 2013.

SINTON, Christopher W.; LACOURSE, William C. Experimental survey of the chemical durability of commercial soda-lime-silicate glasses. **Materials Research Bulletin**, v. 36, n. 13, p. 2471-2479, 2001.

SMITH, S. R. Organic contaminants in sewage sludge (biosolids) and their significance for agricultural recycling. **Philosophical Transactions of The Royal Society A**, v. 367, p. 4005-4041, 2009.

SOJINU, O. S.; SONIBARE, O. O.; EKUNDAYO, O. O.; ZENG, E. Y. Assessment of organochlorine pesticides residues in higher plants from oil exploration areas of Niger Delta, Nigeria. **Science of the Total Environment**, v. 433, p. 169-177, 2012.

SOUSA, D. A.; GONÇALVES, R. M.; HELENO, F. F.; QUEIROZ, M. E. L.; MARCHI, M. R. R. Chemometric optimization of solid–liquid extraction with low-temperature partition (SLE-LTP) for determination of persistent organic pollutants in Caiman yacare eggs. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 266-272, 2014.

SOUZA, S. V. C; PINTO, C. T.; JUNQUEIRA, R. G. In-house method validation: Application in arsenic analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3, p. 241-247, 2007.

STEVENS, J. L.; NORTHCOTT, G. L.; STERN, G. A.; TOMY, G. T.; JONES, K. C. PAHs, PCBs, PCNs, organochlorine pesticides, synthetic musks, and polychlorinated n-alkanes in UK sewage sludge: survey results and implications. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 3, p. 462-467, 2003.

SURMA, M. K.; SADOWSKA-RODZIK, A. B.; CIEŚLIK, E. J. Evaluation of the QuEChERS method with GC-MS detection for the determination of organochlorine pesticides in food of animal origin. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 2, p. 366-376, 2014.

TADEO, J. L.; SNCHEZ-BRUNETE, C.; ALBERO, B.; GARCA-VALCRCEL, A. I. Determination of pesticide residues in sewage sludge: a review. **Journal of AOAC International**, v. 93, n. 6, p. 1692-1702, 2010.

TAVERNIERS, I.; LOOSE, M.; BOCKSTAELE, E. V. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality

assurance. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 535-552, 2004.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

TU, C. M.; MILES, J. R. W.; HARRIS, C. R. Soil microbial degradation of aldrin. **Life Sciences**, v. 7, n. 6, p. 311-322, 1968.

UNEP. Informe de evaluación sobre algunos contaminantes orgánicos persistentes preparado por el Programa Internacional de Protección frente a los Productos Químicos. 1998.

UNEP/GC Decision 19/13C (1997) Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, Acceso em 2014, URL: <http://chm.pops.int>.

UPSON, K.; DE ROOS, A. J.; THOMPSON, M. L.; SATHYANARAYANA, S.; SCHOLLES, D.; BARR, D. B.; HOLT, V. L. Organochlorine pesticides and risk of endometriosis: findings from a population-based case-control study. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 11-12, p. 1319-1324, 2013.

UYSAL, A.; YILMAZEL, Y. D.; DEMIRER, G. N. The determination of fertilizer quality of the formed struvite from effluent of a sewage sludge anaerobic digester. **Journal of Hazardous Materials**, v. 181, n. 1, p. 248-254, 2010.

VAGI, M. C.; PETSAS, A. S.; KOSTOPOULOU, M. N.; KARAMANOLI, M. K.; LEKKAS, T. D. Determination of organochlorine pesticides in marine sediments samples using ultrasonic solvent extraction followed by GC/ECD. **Desalination**, v. 210, n. 1, p. 146-156, 2007.

VAZQUEZ-QUINTAL, P. E.; MUÑOZ-RODRÍGUEZ, D.; MEDINA-PERALTA, S.; MOGUEL-ORDÓÑEZ, Y. B. Extraction of organochlorine pesticides from

bee pollen by matrix solid-phase dispersion: recovery evaluation by GC–MS and method validation. **Chromatographia**, v. 75, n. 15-16, p. 923-930, 2012.

VEGA MORENO, D.; SOSA FERRERA, Z.; SANTANA RODRÍGUEZ, J. J. Sample extraction method combining micellar extraction-SPME and HPLC for the determination of organochlorine pesticides in agricultural soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7747-7752, 2006.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 535-540, 2007.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 161-169, 2008.

VOM-EYSER, C.; PALMU, K.; OTTERPOHL, R.; SCHMIDT, T. C.; TUERK, J. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge and biochar from hydrothermal carbonization using different quantification approaches and matrix effect studies. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 3, p. 821-830, 2015.

VOUTSA, D.,SAMARA, C. Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. **Science of the Total Environment**, v. 218, n. 2, p. 203-216, 1998.

VYMAZAL, J.; BŘEZINOVÁ, T.; KOŽELUH, M. Occurrence and removal of estrogens, progesterone and testosterone in three constructed wetlands treating municipal sewage in the Czech Republic. **Science of The Total Environment**, v. 536, p. 625-631, 2015.

WANG, Y.; ZHANG, Q.; LV, J.; LI, A.; LIU, H.; LI, G.; JIANG, G. Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine pesticides in sewage sludge of wastewater treatment plants in China. **Chemosphere**, v. 68, n. 9, p. 1683-1691, 2007.

WHO - World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality: recommendations. World Health Organization, 2004.

WHO - World Health Organization. Chlordane: Health and Safety Guide. No. 13. World Health Organization. Geneva, 1988a.

WHO - World Health Organization. Endrin: Health and Safety Guide. No. 60. World Health Organization. Geneva, 1991.

WHO - World Health Organization. Heptachlor: Health and Safety Guide. No. 14. World Health Organization. Geneva, 1988b.

WHO. DDT and its derivatives. Geneva, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland. 1979.

WHO. Public health impact of pesticides used in agriculture. Geneva, World Health Organization, 4500 Geneva, Switzerland 1990.

WU, L.; SONG, C.; ZHAO, Y.; HE, Z.; ZHOU, G.; LU, W.; WANG, B. Determination of Organochlorine Pesticides in Tea Beverage by Directly Suspended Droplet Microextraction Combined with GC-ECD. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 1, p. 147-153, 2015.

WYLIE, P. L.; UCHYAMA, K. Improved gas-chromatographic analysis of organophosphorus pesticides with pulsed splitless injection. **J. AOAC Int.**, v. 79, n.2, p. 571-577, 1996.

YANG, H.; ZHOU, S.; LI, W.; LIU, Q.; TU, Y. Residues, Sources and Potential Biological Risk of Organochlorine Pesticides in Surface Sediments of Qiandao Lake, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, p. 1-4, 2015.

YAZDANFAR, N.; YAMINI, Y.; GHAMBARIAN, M. Homogeneous Liquid-Liquid Microextraction for Determination of Organochlorine Pesticides in Water and Fruit Samples. **Chromatographia**, v. 77, n. 3-4, p. 329-336, 2014.

YU, X.; XUE, J.; YAO, H.; WU, Q.; VENKATESAN, A. K.; HALDEN, R. U.; KANNAN, K. Occurrence and estrogenic potency of eight bisphenol analogs in sewage sludge from the US EPA targeted national sewage sludge survey. **Journal of Hazardous Materials**, v. 299, p. 733-739, 2015.

ZHAO, L.; DONG, Y. H.; WANG, H. Residues of organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in farm-raised livestock feeds and manures in Jiangsu, China. **Science of the Total Environment**, v. 450, p. 348-355, 2013.

ZHAO, W.; WU, T.; LI, J.; LU, R.; WANG, P.; CHEN, Y.; LIU, D.; ZHOU, Z. Evaluation of organochlorine pesticides in soil using ultrasound-assisted liquid phase microextraction. **Analytical Methods**, v. 7, n. 4, p. 1366-1371, 2015.

ZULOAGA, O.; NAVARRO, P.; BIZKARGUENAGA, E.; IPARRAGUIRRE, A.; VALLEJO, A.; OLIVARES, M.; PRIETO, A. Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 736, p. 7-29, 2012.