



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA SUL-RIO-GRANDENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIAS AMBIENTAIS**



ALEX MERCIO MENDEZ LARROSA

**OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA ESTUDO DO DECAIMENTO DA
CONCENTRAÇÃO DE DIFENOCONAZOL EM SUBSTRATO DE SOLO COM
ADIÇÃO DE LODO ATIVADO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO**

**Pelotas
2019**

ALEX MERCIO MENDEZ LARROSA

**OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA ESTUDO DO DECAIMENTO DA
CONCENTRAÇÃO DE DIFENOCONAZOL EM SUBSTRATO DE SOLO COM
ADIÇÃO DE LODO ATIVADO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharias e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-grandense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Giani Mariza Britzius Bärwald

Coorientador: Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho

**Pelotas
2019**

Ficha Catalográfica

L333o Larrosa, Alex Mercio Mendez.
Otimização de método analítico para estudo do decaimento da concentração de cefepiconazol em substrato de solo com adição de ledo ativado de esgoto doméstico tratado / por Alex Mercio Mendez Larrosa. – 2019.
70 f. : il. ; 30 cm.
Orientadora: Prof.ª Dr.ª Giani Mariza Britzins Bärwald; Coorientador: Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho.
Inclui um artigo.
Dissertação (mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, Mestrado em Engenharia e Ciências Ambientais, Pelotas, 2019.
1. Biotróficos. 2. Azóis. 3. Amoxicilina. 4. Cromatografia gasosa. 5. Espectrometria de massas. I. Bärwald, Giani Mariza Britzins. II. Sanches Filho, Pedro José. III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense – IFSul. IV. Título.

Catálogo na publicação:
Bibliotecária Camila Quaresma Martins CRB 10/1790
Biblioteca IFSul - Câmpus Pelotas

ALEX MERCIO MENDEZ LARROSA

**OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA ESTUDO DO DECAIMENTO DA
CONCENTRAÇÃO DE DIFENOCONAZOL EM SUBSTRATO DE SOLO COM
ADIÇÃO DE LODO ATIVADO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharias e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 16 de dezembro de 2019.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Giani Mariza Britzius Bärwald - Orientadora

IFSul – Câmpus Pelotas

Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho - Co orientador

IFSul – Câmpus Pelotas

Dr^a. Helen Cristina dos Santos Hackbart

UFPel

Prof^a. Dr^a. Rubia Mara Siqueira da Silva

IFSul – Câmpus Pelotas

Prof. Dr. Daniel Ricardo Arsand

IFSul – Câmpus Pelotas

Dedico este trabalho a todos que acreditam na ciência como fonte de conhecimento e união entre os povos.

“Salvem as abelhas!”

RESUMO

Uma alternativa que cada vez mais se torna comum é o uso de lodo ativado de esgoto doméstico tratado (LET) como fertilizante e amenizante em solos. E a redução dos efeitos da ação tóxica de pesticidas no solo pode ser beneficiada através do uso de amenizantes desta categoria. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de decaimento de um pesticida no substrato de solo com LET a partir dos resultados obtidos pela cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CGEM), através da comparação dos substratos com fortificação do pesticida no solo sem adição de LET. O pesticida escolhido foi o difenoconazol (DFC), um fungicida da classe dos triazóis de uso comum em culturas em geral e foi usada uma abordagem *lab-to-field* para determinação do decaimento do analito. Para determinação do analito nos substratos foram testadas técnicas de extração e *clean-up* das amostras e, para cada técnica foram testados dois solventes. Utilizando CGEM, foram otimizadas as temperaturas de forno e tempo de retenção na coluna para identificação dos principais íons e quantificação do DFC. Foram preparados quatro vasos contendo: substrato de solo; substrato de solo com LET na proporção 70/30%, respectivamente; substrato de solo fortificado com DFC; e substrato de solo e LET na proporção 70/30%, respectivamente, fortificado com DFC. Após a fortificação (20 mg.Kg⁻¹ de DFC), respeitando a frequência de coleta estabelecida, foram retiradas alíquotas dos quatro vasos durante 21 dias e construídas as curvas de decaimento dos vasos que continham o analito. O método mais eficiente para determinação de DFC utilizou extração com diclorometano sob ultrassom e *clean up* com a técnica de extração dispersiva em fase sólida utilizando alumina, revelando que o uso de LET influencia no decaimento de forma significativa.

Palavras-Chave: Biossólidos; Azóis ; Amenizante; CGEM.

ABSTRACT

An alternative that is becoming increasingly common is the use of activated sludge from treated domestic sewage (STS) as a fertilizer and softening in soils. And the reduction of the effects of the toxic action of pesticides on the soil can be benefited through the use of softening in this category. The objective of this work was to evaluate the decay profile of a pesticide in the soil substrate with STS from the results obtained by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCMS), by comparing the substrates with pesticide fortification in the soil without addition of STS. The pesticide chosen was difenoconazole (DFC), a fungicide of the class of triazoles in common use in cultures in general and a lab-to-field approach was used to determine the analyte decay. To determine the analyte in the substrates, sample extraction and clean-up techniques were tested and, for each technique, two solvents were tested. Using GCMS, oven temperatures and column retention times were optimized to identify the main ions and quantify the DFC. Four vessels were prepared containing: soil substrate; soil substrate with STS in the proportion 70/30%, respectively; soil substrate fortified with DFC; and soil substrate and STS in the proportion 70/30%, respectively, fortified with DFC. After fortification (20 mg.Kg^{-1} of DFC), respecting the established collection frequency, aliquots were removed from the four vessels for 21 days and the decay curves were constructed of the vessels containing the analyte. The most efficient method for determining DFC used extraction with dichloromethane under ultrasound and clean up with the dispersive extraction technique in solid phase using alumina, revealing that the use of STS significantly influences the decay.

Key words: Azoles; Biosolids; Softening, GCMS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do DFC (A) Numeração de átomos (B), estrutura dos quatro estereoisômeros do DFC 21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CGEM - Cromatógrafo a gás acoplado a espectrofotômetro de massas

DFC - Difenoconazol

GCMS - *Gas chromatography coupled with mass spectrometry*

H295R - Linhagem de carcinoma adrenocortical tumoral humano

IDA - Ingestão diária aceitável

IFSul - Instituto Federal Sul-rio-grandense Câmpus Pelotas

LET - Lodo ativado de esgoto doméstico tratado

LMR - Limite máximo de resíduos

MDA - Modo de ação

MO - Matéria orgânica

SIM - *Single ion monitoring*

TSS - *Treated activated domestic sewage sludge*

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| INTRODUÇÃO | 13 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 1. Uso de agrotóxicos | 16 |
| 2. Fungicidas | 17 |
| 3. Difenconazol (DFC) | 18 |
| 4. Degradação em solos | 20 |
| 5. Usos e aplicações de lodo de esgoto tratado | 21 |
| REFERÊNCIAS | 23 |
| PRODUÇÃO CIENTÍFICA E/OU TECNOLÓGICA | 33 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 34 |
| ANEXO 1 - Artigo | 35 |
| ANEXO 2 - Normas do periódico | 58 |

INTRODUÇÃO

A intenção do uso de pesticidas em campos agrícolas se justifica pela proteção de culturas, entretanto o uso de agroquímicos influenciam diretamente na preservação do solo e qualidade da agricultura. Solos e sedimentos além de sofrerem diretamente o impacto do uso de pesticidas, se tornam o depósito que dispersa estes contaminantes químicos em outros compartimentos ambientais (STORK et al., 2018; VRYZAS, 2018). Os pesticidas na cadeia alimentar humana são associados frequentemente a alterações hormonais (alterações no sistema endócrino), falhas no desenvolvimento do sistema nervoso e formação de tumores (em alguns casos malignos) (FISHER et al., 2018; SHI et al., 2017; MEIS et al., 2016). Uma prática comum, que visa minimizar o impacto de pesticidas no solo, é o tratamento de resíduos industriais e domiciliares para este fim, promovendo o decaimento do efeito tóxico causado pela adição de poluentes orgânicos persistentes (POPs) (EVANS et al., 2011).

Os fungicidas se destacam com grande abrangência no mercado de pesticidas; e dentre muitas classes de fungicidas, os azóis representam um grupo de substâncias amplamente utilizadas tanto na agricultura como na indústria farmacêutica (SHAHINASI et al., 2017). Um dos azóis mais comuns no mercado é o difenoconazol (DFC), que se caracteriza como fungicida por interferir na biossíntese do ergosterol e inibição da desmetilação de esteroides comprometendo o crescimento do fungo (KANG et al., 2017; SZPYRKA e WALORCZYK, 2016). O DFC (cis,trans-3-cloro-4-[4-metil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) -1,3-dioxolan-2-il] fenil-4-clorofenil éter]) pode ser tanto de uso agrícola como domissanitário e pode ter aplicação foliar ou aplicação em sementes, sendo que seu limite máximo de resíduos (LMR) é de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ em algumas culturas e sua ingestão diária aceitável (IDA) é de $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso corpóreo. (ANVISA, 2015).

Vários estudos avaliaram a cinética de dissipação do DFC em solos e sedimentos com o objetivo de avaliar o impacto deste fungicida neste recurso natural, como as pesquisas de Banerjee et al. (2008) e Zhang et al. (2015) que estudaram o padrão de dissipação do fungicida em culturas e produtos em diferentes

doses para determinar seus intervalos pré colheita, revelando a importância de soluções qualificadas para minimizar o efeito deste agrotóxico no meio ambiente. Para sanar os efeitos indesejáveis de pesticidas no meio ambiente são desenvolvidos processos físicos, químicos e biológicos como remediadores de solos contaminados. Neste contexto, como um método que gera um número menor de subprodutos nocivos, a biorremediação se torna mais atrativa na engenharia ambiental, pois se utilizam sistemas biológicos para catalisar a transformação (ou degradação) de produtos químicos tóxicos (ZEHRRA et al., 2018).

Muitos estudos investigam os efeitos quantitativos e qualitativos do uso de azóis na agricultura, como as características estruturais e funcionais da microbiota em solos devido ao seu uso prolongado. Muitas vezes, a falta de fiscalização dos órgãos competentes no seu uso correto podem maximizar esse impacto (FILIMON et al., 2018), Vários coadjuvantes biológicos já foram inseridos no solo como bactérias (ARYA et al., 2016 e MÓNICA et al., 2016), fungos (SPINA et al., 2018; GUPTA et al., 2017 e MAQBOOL et al., 2016), biochar (ZHEN et al., 2017 e CHENG et al., 2017). Inclusive o tema revela estudos no campo da edição genética envolvendo biologia computacional e abordagens multi-ópticas com intuito de desenvolver um micro organismo, com gene funcional de interesse, para degradação de um recalcitrante específico (JAISWAL et al., 2019). No atual panorama demográfico, o lodo ativado de esgoto doméstico tratado (LET) se torna uma alternativa viável como degradante (KACPRZAK et al., 2017). Ainda se trata com preconceito da sociedade o uso de LET como fertilizante ou biodegradante no solo devido à sua origem, entretanto em muitos países desenvolvidos seu uso como fertilizante é comum e gera muita produção científica no estudo dos seus benefícios como adjuvante no solo (EVANS et al., 2011).

Os experimentos *lab to field* consistem em testes laboratoriais com maiores regimes de exposição a pesticidas, permitindo assim uma análise dos impactos dos pesticidas em membros ainda menos abundantes da comunidade bacteriana do solo (STORCK et al., 2018). E partindo deste modelo de experimento o objetivo geral deste trabalho foi investigar a degradação do DFC nos substratos. Os objetivos específicos foram de caracterizar o solo e o LET utilizados no substrato e o produto

comercial Score 250EC em cromatógrafo a gás acoplado à espectrofotômetro de massas (CGEM), otimizar o método cromatográfico para determinação do DFC nas matrizes, otimizar métodos de extração e *clean up* das amostras com solo, LET e DFC e desenvolver o experimento de biodegradação em bancada.

REVISÃO DE LITERATURA

1. Uso de agrotóxicos

Frente às novas tendências agrárias que suprem as necessidades do mercado cada vez mais globalizado, é determinante que o crescimento populacional exige uma demanda maior de produção de alimentos. Entram neste contexto os biocombustíveis como o etanol, o cultivo de árvores para produção de celulose ou uso de madeira para queima em siderúrgicas e ainda produtos como soja e milho que são exportados como *commodities* para os países em desenvolvimento (ARAÚJO et al., 2017). A venda de pesticidas no Brasil obteve um lucro superior a US\$ 9,6 bilhões em 2016, revelando a importância do mercado de pesticidas no atual cenário agrícola. Dentre as principais classes comercializadas, se destacam os herbicidas, os fungicidas e os inseticidas, sendo que os cinco estados que mais consumiram agroquímicos em 2016 foram: Mato Grosso (20,4%), São Paulo (14%), Paraná (13,6%), Rio Grande do Sul (13,2%) e Goiás (9,6%). No ano de 2016, para suprir a demanda de fungicidas, o Brasil importou 94,1 mil quilos desta classe de pesticidas. Desde a safra de 2014/2015 foi observado um crescimento considerável (32%) no uso de fungicidas e, considerando a relação com a safra de 2016/2017, houve um aumento de 38% no consumo de fungicidas somente na produção de soja. Os cinco estados que mais usaram fungicidas no Brasil em 2017 foram o Rio Grande do Sul (55%), o Mato Grosso do Sul (40%), o Mato Grosso (39%), o São Paulo (39%) e o Paraná (34%) (SHAHINASI et al., 2017; SINDIVEG, 2017; ABRAPA, 2017).

2. Fungicidas

Os fungicidas são classificados de diferentes maneiras. Sua classificação é baseada na origem da mobilidade na planta (fungicidas de ação biológica, conhecidos como biofungicidas e fungicidas de ação química, que são sintetizados a partir de produtos químicos orgânicos e inorgânicos), nas suas semelhanças de grupo químico ou estrutura, na sua atividade relevante e no seu modo de ação (MDA) (SHAHINASI et al., 2017). Fungicidas orgânicos são muito utilizados na

agricultura moderna e se classificam pela estrutura química em Azóis, Benzimidazóis, Ditiocarbamatos e Estrobilurinas (GUPTA, 2017 e NIELSEN et al., 2010).

Os azóis se apresentam no mercado como uma classe de fungicidas orgânicos importante na agricultura e na área clínica, desempenhando importantes funções em duas áreas distintas. Na área agrícola e na área clínica. Na agricultura é utilizado para controle e tratamento de uma gama muito ampla de doenças fúngicas em várias culturas, se apresentando em diversas estruturas químicas, entretanto as estruturas mais comuns são o imidazol (um anel de cinco membros com dois átomos de nitrogênio separados por um átomo de carbono, chamado 1,3-diazol) e o triazol (um anel de cinco membros com três átomos de nitrogênio e duas ligações duplas no anel, chamados 1,2,3-triazol ou 1,2,4-triazol) (CAMPOY; ADRIO, 2015 e NAVARRO et al., 2015). Sua utilização na área clínica promoveu resistência à ação azólica em um patógeno oportunista que se hospeda em humanos. Uma espécie de saprófita, identificada como *Aspergillus fumigatus*, que é comum em na decomposição de vegetação em florestas, em campos e em adubos armazenados, mas também é capaz de invadir organismos humanos imuno-comprometidos (FISHER et al., 2018 e MEIS et al., 2016).

Outra característica marcante dos fungicidas azóis é sua quiralidade. O triazol (três átomos de nitrogênio e duas ligações duplas no anel de cinco membros, chamados 1,2,3-triazol ou 1,2,4-triazol) possui assimetria dos átomos de carbono substituídos na porção alquila triazol e podem se constituir de dois a quatro estereoisômeros óticos. As características físico-químicas dos compostos se mantêm iguais em todas as formas, entretanto suas interações biológicas apresentam seletividade quiral com macromoléculas, evidenciadas em estudos específicos sobre a influência de enantiômeros de triazóis sobre biodegradação, eco toxicidade e seus efeitos sobre a saúde humana. Estas interações despertam interesse pela contribuição que podem dar pela diferença de atividade biológica, efeito tóxico e destino ambiental dos fungicidas. Há um grande número de estudos sobre este comportamento dos triazóis em busca de mistura de estereoisômeros, ou racematos, efetivos no combate a organismos alvo se tornando uma boa fonte de

pesquisas em busca de pesticidas quirais enantiosseletivos (ZHANG et al., 2015 e DONG et al., 2013).

3. Difenoconazol (DFC)

Entre os triazóis mais utilizados no cenário atual o DFC (Figura 1a) se destaca como um pesticida de amplo espectro utilizado no controle de doenças causadas por fungos (membros da família de ascomicetos, basidomicetos e deuteromicetos) e, em diversas culturas, usado como fungicida sistêmico em tratamento de sementes e para aplicação foliar por *spray* (ABDALLAH et al., 2014). O DFC contém em sua estrutura o 1,2,4-triazol que atua interferindo na biossíntese do ergosterol e na inibição da desmetilação de esteroides (ZHAO et al., 2019). Identificado pela IUPAC como cis, trans-3-cloro-4- [4-metil-2- (1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) -1,3-dioxolan-2-il] fenil-4-clorofenil éter, o DFC foi sintetizado como um fungicida amplamente aplicado por sua ação rápida e atividade sistêmica predominante (SZPYRKA; WALORCZYC, 2016).

No Brasil, de acordo com a agência nacional vigilância sanitária ANVISA (2015), o DFC é classificado como fungicida triazol de classe toxicológica I, pesticida com uso agrícola autorizado, com IDA de 0,6 mg kg⁻¹ por peso corporal e emprego domissanitário conforme indicado. Devido a sua toxicidade, o produto já foi associado ao aumento na incidência de adenomas e carcinomas hepatocelulares em estudos com camundongos expostos a dieta de longo prazo (ZHUANG et al., 2015). Outros estudos identificaram o difenoconazol como inibidor da atividade de aromatase, rastreadas em células H295R (linhagem de carcinoma adrenocortical tumoral humano) (SANDERSON et al., 2002).

Como é característico aos azóis, o DFC apresenta quiralidade com seus enantiômeros (estereoisômeros) de forma desigual, promovendo misturas não racêmicas. Esta característica quiral presente no triazol caracteriza sua capacidade de se metabolizar enantiosseletivamente (estereosseletivamente) no meio em que ele é inserido enriquecendo um enantiômero específico e, conseqüentemente, esgotando outro enantiômero. Este fator quiral revela produtos da biodegradação do

pesticida que se tornam prejudiciais ao meio ambiente e, conseqüentemente, ao homem, conforme Li J. et al. (2012). O DFC possui dois centros quirais que existem em quatro formas estereoisômeras (Figura 1b). Por ter diferentes configurações moleculares os estereoisômeros de pesticidas quirais se diferem em suas ligações pela sensibilidade estrutural dos receptores biológicos e naturalmente formam biomoléculas quirais (DONG et al., 2013).

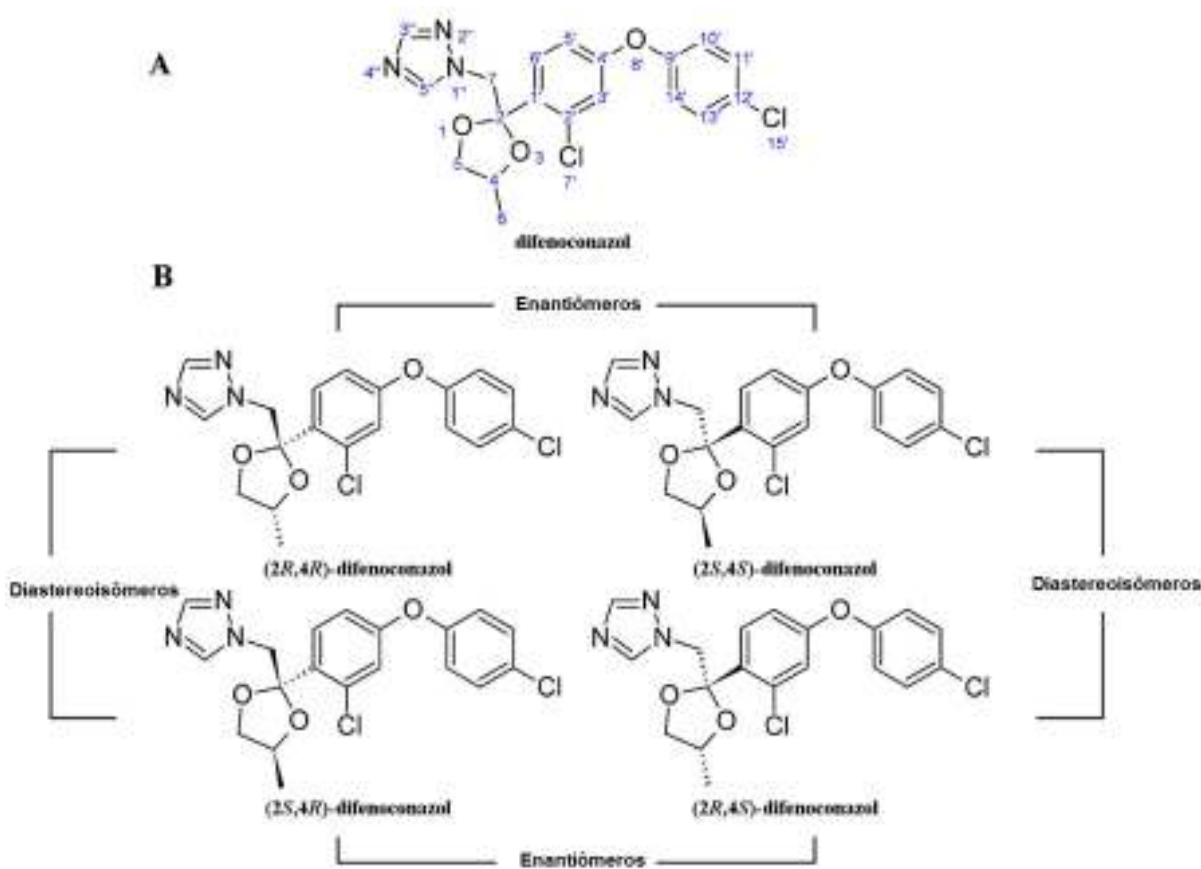


Figura 1. Estrutura do DFC (A) Numeração de átomos (B), estrutura dos quatro estereoisômeros do DFC.

4. Degradação em solos

Com os avanços da agricultura no panorama mundial, é fundamental que as próximas gerações, em todas as esferas da sociedade, mantenham o incentivo à pesquisa e desenvolvimento de técnicas que beneficiem o solo como recurso natural

associado ao crescimento econômico sustentável (REY et al., 2019). Essencialmente, o solo supre com quase todo alimento consumido (exceto o retirado de oceanos), revelando que a dependência do solo só tende a aumentar com o passar dos anos (BÜNEMANN et al., 2018). Esta necessidade de provimento de alimentos torna o solo um recurso natural determinante para nossa prosperidade e vital para nossa sobrevivência, levando em consideração todos os papéis ecossistêmicos que este recurso pode nos proporcionar com substrato para culturas em geral. Além de sua importância para a cultura de plantas, das quais dependem nossa alimentação e paisagem, o solo é também um filtro para a água da chuva, absorvendo a água em vez de escoar evitando inundações (BRADY, 2019)

Hodiernamente o solo se encontra prejudicado por vários fatores antropogênicos. A construção de estradas provoca vedação do solo, as apropriações de terrenos para perfurações causam erosão, a atividade humana causa contaminação com produtos químicos de diversas fontes, além da compactação, a salinização, a redução da biodiversidade pela perda de organismos que vivem no solo e, uma das mais preocupantes ameaças, a desertificação (EVANS, 2006). Subtraindo os fatores que dependem de planejamento (como construção de estradas e estruturas), a matéria orgânica no solo se torna um fator chave para a remediação de ameaças através do gerenciamento por modelagem matemática (VAN DEN BOSCH et al., 2015).

Levando em consideração a constituição do solo, e a diversidade de serviços ecossistêmicos envolvidos na sua estrutura, é um desafio imenso para a comunidade científica adotar um modelo que abranja todos os processos que caracterizam sua complexidade (JIA, 2018). O estudo de solos contaminados, por exemplo, é uma fonte diversa de novas descobertas e as interações envolvidas são de fluxo multifásico envolvendo o contaminante em fases sólida, líquida e gasosa, fatores que dificultam a modelagem típica envolvida em fluxo monofásico e acabam abrangendo apenas uma região geográfica ou um teste de bancada (VERECKEN et al., 2016). É importante sempre regionalizar os estudos de um solo em busca de resultados pertinentes a sua composição e ao mesmo tempo disseminar os resultados, mantidos em uma plataforma de dados globais que possa desenvolver

um repositório onde se desenvolvam modelos por similaridade, valores de calibração e dados para comparação que serão essenciais para as pretensões futuras da humanidade frente a este recurso natural que, assim como a água, começa a se tornar crítico para as próximas gerações (HENDRIKS et al., 2019).

5. Usos e aplicações de lodo de esgoto tratado

O esgoto (ou efluente), provém fundamentalmente da atividade antropogênica. São os seres humanos que descartam seus rejeitos das residências, dos escritórios, das indústrias, dos estabelecimentos públicos, dos estabelecimentos comerciais, das escolas, dos hospitais e do “*runoff*” urbano (que pode se interligar com o sistema de esgoto em alguns casos), diretamente para o tratamento através de uma rede de saneamento que direciona estas águas residuais (OLDS et al., 2018 e MCNABB, 2017). O tratamento biológico do esgoto gera lodo que de acordo com diretivas europeias (2000/60/EC e 91/271/EEC) não é caracterizado como resíduo e sim como produto do tratamento do esgoto (KACPRZAK et al., 2017).

A carga orgânica do bio sólido de esgoto tratado forma um composto altamente complexo que pode gerar mudanças indesejáveis quando este produto é inserido no meio ambiente, porém também revela sua identidade biológica interessante como fertilizante em diversas culturas em diversos países (HANDI et al., 2019). Em 1991 o termo bio sólido foi utilizado pela primeira vez nos Estados Unidos da América como uma definição para lodo de esgoto tratado, em contraste ao lodo de esgoto cru, objetivando promover sua segurança e uso benéfico na terra e, principalmente, aumentar a sua aceitação pública (CHRISTODOULOU; STAMATELATOU, 2016).

O lodo de esgoto tratado além de apresentar alta carga orgânica contém em sua composição a presença de minerais, nutrientes e oligoelementos. Os metais traço se tornam perigosos pelo seu comportamento bio acumulativo gerando muitos estudos sobre sua toxicidade, biomagnificação e recuperação destes metais (oligoelementos), do lodo de esgoto tratado que pode gerar um lucro anual de 13

milhões de dólares para uma comunidade de um milhão de pessoas (WESTERHOFF et al., 2015).

Outros compostos que merecem bastante atenção atualmente por encontrar-se em grande quantidade no lodo de esgoto tratado são os produtos farmacêuticos. Como estas drogas não são completamente metabolizadas em organismos humanos e animais, são excretadas na urina e fezes em sua estrutura original ou como metabólitos (BONDARCZUK et al., 2016; CALDAS et al., 2016). A associação do lodo de esgoto tratado com estes produtos revela uma preocupação que exige estudos relacionados a vários fatores específicos que podem se caracterizar como indicadores epidemiológicos que servem como modelos de estimativa de contaminação em função de uma população conhecida (O'BRIAN et al., 2017), e de acordo com García-Valcárcel e Tadeo (2011), em certas regiões como em Madri, na Espanha, o DFC foi identificado no lodo de esgoto tratado devido ao seu uso em culturas da região.

Nesse panorama se busca através deste trabalho a obtenção de um método de baixo custo e com menor consumo de solventes orgânicos possível para determinação da presença de difenoconazol em substratos e, através deste método estudar a influência do LET no decaimento da concentração do pesticida em substrato com solo em um experimento de bancada durante 21 dias.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, O. I.; ALMAZ, M. M.; ARIEF, M. H.; EL-ALEEM, A. **Dissipation Behavior of Chlorfenapyr and Difenconazole Residues in/on Grapes (*Vitisvinifera L.*)**. Nature and Science 12 (1) 2014.
- ABRAPA. Associação Brasileira de Produtores de Algodão. **Câmara Temática de Insumos Agropecuários – CTIA**. Brasília. 2017.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 4.976 de 30/12/14** (DOU de 02/01/15). Disponível em:< www.anvisa.gov.br/legis> Acessado em: 5 de jan de 2019.
- ARAÚJO, I. M. M.; OLIVEIRA, A. G. R. C. **Agronegócio e agrotóxicos: impactos à saúde dos trabalhadores agrícolas no nordeste brasileiro**. Trabalho, Educação e Saúde, v. 15, n. 1, p. 117-129, 2017.
- ARYA, R.; SHARMA, A. K. **Bioremediation of carbendazim, a benzimidazole fungicide using *Brevibacillus borstelensis* and *Streptomyces albogriseolus* together**. Current pharmaceutical biotechnology, v. 17, n. 2, p. 185-189, 2016.
- BANERJEE, K.; OULKAR, D. P; PATIL, S. H.; DASGRUPTA S.; ADSULE, P. G. **Degradation kinetics and safety evaluation of tetraconazole and difenoconazole residues in grape**.Pest Management Science: formerly Pesticide Science, v. 64, n. 3, p. 283-289, 2008.
- BOHM, G.; KARSBURG, R.; HEIDRICH, C.; BOHM, E.; MACHADO R. **Effects of diferente sewage sludge concentrations on soil and cultivated *Raphanus sativus L.***. American Journal of Experimental Agriculture v. 10, n. 3, p. 1-7, 2016
- BONDARCZUK, K.; MARKOWICZ, A.; PIOTROWSKA-SEGET Z. **The urgent need for risk assessment on the antibiotic resistance spread via sewage sludge land application**. Environment International 87, p. 49–55, 2015.

BRADY, N. C.; WEIL, R. R. **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. Porto Alegre, vol 3, Bookman Editora, 2009.

BÜNEMANN, E. K.; BONGIORNO, J.; BAI, Z.; CREAMER, R. E.; DE DEYN, G.; DE GOEDE, R.; FLESKENS, L.; GEISSEN, V.; KUYPER, T. W.; MÄDER, P. PULLEMAN, M.; SUKKEL, W.; VAN GROENIGEN J. W.; BRUSSAARD, L. **Soil quality – A critical review**. Soil Biology and Biochemistry, v. 120, p. 105-125, 2018.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; ARIAS, J. L. O.; MARUBE, L. C.; PRIMEL, E. G. **Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid–liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry**. Talanta, 146, 676-688. 2016.

CAMPOY, S.; ADRIO, J. L. **Antifungals**. Biochemical pharmacology, v. 133, p. 86-96, 2017.

CHENG, J.; LEE, X.; GAO, W.; CHEN, YI.; PAN, W.; TANG, Y. **Effect of biochar on the bioavailability of difenoconazole and microbial community composition in a pesticide-contaminated soil**. Applied soil ecology, v. 121, p. 185-192, 2017.

CHRISTODOULOU A.; STAMATELATOU K. **Overview of legislation on sewage sludge management indeveloped countries worldwide**. Water Science & Technology, p. 453-462, 2016.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente- **Regulamentação do uso agrícola de lodo de esgoto**. Resolução de 16 de dezembro de 2003. Disponível em

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/processo.cfm?processo=02000.002533/2003-11>>, acesso em janeiro de 2019.

CORSAN- Companhia Riograndense de saneamento. Disponível em <http://www3.corsan.com.br/sistemas/trat_esg_proc.htm>, acesso em janeiro de 2019.

DONG, F.; LI, J.; CHANKVETADZE, B.; CHENG, Y.; XU, J.; LIU, X.; LI, Y.; CHEN, X.; BERTUCCI, C.; TEDESCO, D.; ZANASI, R.; ZHENG, Y. **Chiral triazol fungicide difenoconazole: absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil**. *Environmental science&technology*, v. 47, n. 7, p. 3386-3394, 2013.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – **EMBRAPA**. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Brasileira Embrapa. Produção de informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

EVANS T. **Guide to the Use of Wastewater Biosolids in Agriculture**. Tim Evans Environmental, 2006.

EVANS, T. **A Review of Current Knowledge. Sewage Sludge: Operational and Environmental Issues**. 3rd edn. Foundation for Water Research, Buckinghamshire. 2011.

FILIMON, M. N.; POPESCU, R.; VERDES, D.; DUMITRESCU, G.; VOIA, O. S.; AHMADI, M.; DRONCA, D. **The Effects of Difenoconazole Treatment on Microorganism from Soil. Communities**. v. 14, n. 17, p. 20, 2018.

FISHER, M. C.; HAWKINS, N. J.; SANGLARD, D.; GURR, S. J. **Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security**. *Science*, v. 360, n. 6390, p. 739-742, 2018.

GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; TADEO, J. L. **Determination of azoles in sewage sludge from Spanish wastewater treatment plants by liquid chromatography-tandem mass spectrometry**. *Journal of separation science*, v. 34, n. 11, p. 1228-1235, 2011.

GONÇALVES C.; ALPENDURADA M.F. **Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spectrometry.** *Talanta* 65 p. 1179–1189, 2005.

GROBELAKA, A.; GROSSERA A.; WORWAGA, M.; RORATA A.; BRATTEBOB H.; ALMÅSC A.; SINGHC B. **Sewage sludge disposal strategies for sustainable development.** *Environmental Research* 156 p. 39–46. 2017.

GUPTA, P. K. **Herbicides and fungicides.** *Reproductive and Developmental Toxicology.* Academic Press, p. 657-679, 2017.

GUPTA, S.; WALI, A.; GUPTA, M.; ANNEPU S. K. **Fungi: An Effective Tool for Bioremediation.** In: *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives.* Springer, Singapore, p. 593-606, 2017.

HAMDI, H.; HECHMI, S.; KHELIL, M. N.; ZOGHLAMI. I. R.; BENZARTI, S.; MOKNI-TLILI, S.; HASSEN, A.; JEDIDI, N. **Repetitive land application of urban sewage sludge: Effect of amendment rates and soil texture on fertility and degradation parameters.** *Catena* v. 172, p. 11–20, 2019.

HENDRIKS, C. M. J.; STOORVOGEL, J. J.; LUTZ, F.; CLAESSENS, L. **When can legacy soil data be used, and when should new data be collected instead?** *Geoderma*, v. 348, p. 181-188, 2019.

HLADIK M.L; MCWAYNE M. M. **Methods of Analysis—Determination of Pesticides in Sediment Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry.** *Techniques and Methods* 5–C3. USGS, 2012.

INGELMO, F.; MOLINA, M. J.; SORIANO, M. D.; GALLARDO, A.; LAPEÑA, L. **Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost.** *Journal of Environmental management.* v.95, p. s104-109, 2012.

JAISWAL, S.; SINGH, D. K.; SHUKLA, P. **Gene editing and systems biology tools for pesticide bioremediation: A review**. *Frontiers in microbiology*, v. 10, 2019.

JIA, J. **Soil Dynamics and Foundation Modeling**. Springer, 2018.

KACPRZAK, M.; NECZAJ, E.; FIJALKOWSKI, K.; GROBELAK, A.; GROSSER, A.; WORWAG, M.; RORAT, A.; BRATTEBO, H. ALMAS, A.; SINGH, B. R. **Sewage sludge disposal strategies for sustainable development**. *Environmental research*, v. 156, p. 39-46, 2017.

KANG, D.; ZHANG, H.; CHEN, Y.; WANG, F.; SHI, L.; HU, D.; ZHANG, K. **Simultaneous determination of difenoconazole, trifloxystrobin and its metabolite trifloxystrobin acid residues in watermelon under field conditions by GC-MS/MS**. *Biomedical Chromatography*. 2017.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos para análise**. São Carlos, RiMa, 2004.

LI, J.; DONG, F.; CHENG, Y.; LIU, X.; XU, J. LI, Y.; CHEN, X.; KONG, Z.; ZHENG, Y. **Simultaneous enantioselective determination of triazole fungicide difenoconazole and its main chiral metabolite in vegetables and soil by normal-phase high-performance liquid chromatography**. *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 404, n. 6-7, p. 2017-2031, 2012.

MAQBOOL, Z.; HUSSAIN, S.; IMRAN, M.; MAHMOOD, F.; SHAHZAD, T.; AHMED, Z. **Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review**. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, n. 17, p. 16904-16925, 2016.

MCNABB, D. E. **Managing storm, flood, and runoff water**. In **Water Resource Management**. Palgrave Macmillan, Cham, p. 263-281, 2017.

MEIS, J.F.; CHOWDHARY, A.; RHODES, J. L.; FISHER, M. C.; VERVEIJ, P. E. **Clinical implications of globally emerging azole resistance in *Aspergillus***

fumigatus. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 371, n. 1709, p. 20150460, 2016.

MÓNICA, P.; DARWIN, R. O.; MANJUNATHA, B.; ZUÑIGA, J. J.; DIEGO, R.; BRYAN, R. B.; MULLA, S.I.; MADELLA, N. R. **Evaluation of various pesticides-degrading pure bacterial cultures isolated from pesticide-contaminated soils in Ecuador**. African Journal of Biotechnology, v. 15, n. 40, p. 2224-2233, 2016.

MOREIRA; A.; MALAVOLTA, E. **Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia ocidental**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.39, n.11, p. 1003-1110, 2004.

NAVARRO, S.; PÉREZ-LUCAS, G. VELA, N.; NAVARRO, G. **Behavior of triazole fungicide residues from barley to beer**. In: Processing and impact on active components in food. Academic Press, p. 525-532, 2015.

NIELSEN, S. S. (Ed.). Food analysis. New York: Springer, p. 3-16, 2010.

O'BRIEN J.W.; BANKS, A. P. W.; NOVIC, A. J.; MUELLER, J. F.; JIANG, G.; ORT, C.; EAGLESHAM, G.; YUAN, Z.; THAI, P. K. **Impact of in-sewer degradation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) population markers on a population model**. Environmental science & technology 51, no. 7, p. 3816-3823, 2017.

OLDS, H. T., CORSI, S. R., DILA, D. K., HALMO, K. M., BOOTSMA, M. J.; MCLELLAN, S. L. **High levels of sewage contamination released from urban areas after storm events: A quantitative survey with sewage specific bacterial indicators**. PLoS medicine, 15 (7), e1002614, .2018.

REY, F.; BIFULCO, C.; BISCHETTI, G.B.; BOURRIER, F.; DE CESARE, G.; FLORINETH, F.; GRAF, F.; MARDEN, M., MICKOVSKI, S. B.; PHILLIPS, C.; PEKLO, K.; POESEN J.; POLSTER, D.; PRETI, F.; RAUCH, H. P.; RAYMOND, P.; SANGALLI, P.; TARDIO, G.; STOKES A. **Soil and water bioengineering:**

Practice and research needs for reconciling natural hazard control and ecological restoration. Science of the Total Environment, v. 648, p. 1210-1218, 2019.

SANDERSON, J. T.; BOERMA, J.; LANSBERGEN, G. W. A.; VAN DEN BERG, M. **Induction and Inhibition of Aromatase (CYP19) Activity by Various Classes of Pesticides in H295R Human Adrenocortical Carcinoma Cells.** Toxicology and Applied Pharmacology 182, p. 44–54, 2002.

SANTOS, B. S.; CHAUI, M. **Direitos humanos, democracia e desenvolvimento.** Cortez Editora, 2016.

SHAHINASI, E.; BRAHUSHI, F.; DEVOLLI, A.; KODRA, M. **The ecotoxicology of pesticides group of triazole and their use to control apple scab (*Venturia inaequalis*).** Journal of Hygienic Engineering and Design, v. 18, p. 36-42, 2017.

SHALABY, A. R., EMAM, W. H.; ANWAR, M. M. **Mini-column assay for rapid detection of malachite green in fish.** Foodchemistry, 226, p. 8-13, 2017.

SHI, Y. H.; XIAO, J. J.; FENG, R. P.; LIU, Y. Y.; LIAO, M.; WU, X. W.; HUA, R.; CAO, H. **Factors affecting the bioaccessibility and intestinal transport of difenoconazole, hexaconazole, and spirodiclofen in human caco-2 cells following in vitro digestion.** Journal of agricultural and food chemistry, v. 65, n. 41, p. 9139-9146, 2017.

SINDIVEG. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. Faculdades integradas Cantareira. São Paulo, 2017.

SPINA, F.; CECCHI, G.; LANDINEZ-TORRES, A.; PECORARO, L.; RUSSO, F.; WU, B.; CAI, L.; LIU, X. Z.; TOSI, S.; VARESE, G. C.; ZOTTI, M.; PERSIANI, A. M. **Fungi as a toolbox for sustainable bioremediation of pesticides in soil and water.** Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, v. 152, n. 3, p. 474-488, 2018.

SZPYRKA, E.; WALORCZYC, S. **Dissipation of difenoconazole in apples used for production of baby food.** Journal of environmental science and health, part b, vol. 0, no. 0, p. 1–7, 2016.

STORCK, V.; NIKOLAKI, S.; PERRUCHON, C.; PERTILE, G.; BAGUELIN, C.; KARAS, P.; SPOR, A.; DEVERS, M.; PAPADOPOULOU, E.; SIBOURG, O.; MALANDAIN, C. **Lab to field assessment of the ecotoxicological impact of chlorpyrifos, isoproturon or tebuconazole on the diversity and composition of the soil bacterial community.** Frontiers in microbiology, 9, p.1412, 2018.

TEDESCO, M. J.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.174, 1995.

US EPA method 3550C. US Government Printing Office, Washington, USA, 2000, available at: <http://www.epa.gov/sw-846/pdfs/3550c.p>.

VAN DEN BOSCH F.; FRAAIJE, B.; OLIVER, R.; VAN DEN BERG, F.; PAVELEY, N. **The use of mathematical models to guide fungicide resistance management decisions.** In Fungicide resistance in plant pathogens, Springer, Tokyo, p. 49-62. 2015.

VERECKEN, H.; SCHNEPF, A.; HOPMANS, J.W.; JAVAUX, M.; OR, D.; ROOSE, T.; VANDERBORGHT, J.; YOUNG, M.H.; AMELUNG, W.; AITKENHEAD, M.; ALLISON, S.D.; ASSOULINE, S.; BAVEYE, P.; BERLI, M.; BRÜGGEMANN, N.; FINKE, P.; FLURY, M.; GAISER, T.; GOVERS, G.; GHEZZEHEI, T.; HALLETT, P.; HENDRICKS, F. H. J.; HEPPELL, J.; HORN, R.; HUISMAN, J.A.; JACQUES, D.; JONARD, F.; KOLLET, S.; LAFOLIE, F.; LAMORSKI, K.; LEITNER, D.; MCBRATNEY, A.; MINASNY, B.; MONTZKA, C.; NOWAK, W.; PACHEPSKY, Y.; PADARIAN, J.; ROMANO, N.; ROTH, K.; ROTHFUSS, Y.; ROWE, E.C.; SCHWEN A.; ŠIMŮNEK, J.; TIKTAK, A.; VAN DAM J.; VAN DER ZEE, S.E.A.T.M.; VOGEL, H.J.; VRUGT, J.A.; WÖHLING, T.;

YOUNG, I.M. **Modeling Soil Processes: Review, Key Challenges, and New Perspectives.** Vadose Zone Journal. Vol. 15, Iss. 5, 2016.

VRYZAS, Zisis. **Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions.** Current Opinion in Environmental Science & Health, v. 4, p. 5-9, 2018.

WESTERHOFF, P.,L. S.; YANG, Y.; GORDON, G. W.; HRISTOVSKI, K.; HALDEN, R.U.; HERCKES, P. **Characterization, Recovery Opportunities, and Valuation of Metals in Municipal Sludges from U.S. Wastewater Treatment Plants Nationwide.** Environmental Science and Technology, 2015.

XIAOYA, R.; ZENG, G.; TANG, L.; WANG, J.; WAN, J.; LIU, Y.; YU, J.; YI, H.; YE, S.; DENG, R. **Sorption, transport and biodegradation – An insight into bioavailability of persistent organic pollutants in soil.** Science of the Total Environment 610–611 p. 1154–1163, 2018.

ZEHRRA, A.; DUBEY, M. K.; MEENA, M.; AAMIR, M.; PATEL, C. B.; UPADHYAY, R.S. **Role of Penicillium Species in Bioremediation Processes.** In: **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering.** In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, Elsevier, p. 247-260, 2018.

ZHANG, Q.; ZHOU, L.; YANG, Y.; HUA, X.; SHI, H.; WANG, M. **Study on the stereoselective degradation of three triazole fungicides in sediment.** Ecotoxicology and environmental safety, v. 117, p. 1-6, 2015.

ZHANG, Z.; JIANG, W.; JIAN, Q.; SONG, W.; ZHENG, Z., WANG, D.; LIU, X. **Residues and dissipation kinetics of triazole fungicides difenoconazole and propiconazole in wheat and soil in Chinese fields.** Food chemistry, v. 168, p. 396-403, 2015.

ZHAO, F.; LIU, J.; HAN, B.; LUO, J. **Investigation and Validation of Detection of Storage Stability of Difenoconazole Residue in Mango.** Journal of Food Quality Volume 2019, Article ID 5641643, 8 pages, 2019.

ZHEN, M.; SONG, B.; LIU, X.; CHANDANKERE, R.; TANG, J. **Biochar-mediated regulation of greenhouse gas emission and toxicity reduction in bioremediation of organophosphorus pesticide-contaminated soils.** Chinese journal of chemical engineering, v. 26, n. 12, p. 2592-2600, 2018.

ZHUANG, S. L.; BAO, L. L.; WANG, H. F.; ZHANG, M.; YANG, C.; ZHOU, X. Y.; WU, Y.; REHMAN, K.; NARANMANDURA, H. **The involvement of ER-stress and ROS generation in difenoconazole-induced hepatocellular toxicity.** Toxicology Research, v. 4, n. 5, p. 1195-1203, 2015.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA E/OU TECNOLÓGICA

Artigo submetido e aceito pela revista Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais (RICA).

LARROSA, A. M. M.; BÄRWALD, G. M. B.; SANCHES FILHO, P.; DUTRA, I. R. S. **Otimização de método analítico para estudo da degradação do difenoconazol em substrato com adição de lodo ativado de esgoto doméstico tratado.** Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, 2019. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0021>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, a presença de contaminantes ambientais no solo se tornou um amplo universo para estudo, recebendo atenção da comunidade científica devido ao impacto ecológico relacionado com estes agentes recalcitrantes, que vão desde agrotóxicos usados na agricultura até produtos farmacêuticos, de cuidado pessoal e cosméticos. Motivo que revela a pertinência do presente estudo em otimizar um método de determinação de um fungicida comum em culturas em geral.

O método cromatográfico com injeções *splitless* de 1 μL em modo single ion monitoring utilizando os íons m/z 265 e 323 se comportou de forma linear, com um coeficiente de correlação linear (R^2) de 0,999. O método foi considerado preciso, exato e sensível. O método de extração e *clean up* otimizado com extração com diclorometano sob ultrassom e *clean up* com a técnica de extração dispersiva em fase sólida utilizando alumina como, com precisão, recuperações aceitáveis, limite de detecção e limite de quantificação compatíveis com outras metodologias para quantificação de DFC.

E a partir do método otimizado, o estudo do decaimento da concentração do DFC, com uso de LET como agente coadjuvante, no solo revelou que houve decaimento, de 79,5% para o substrato contendo solo e LET e 89,9% para o substrato contendo apenas solo nas primeiras 24 horas. O substrato contendo apenas solo apresentou maior adsorção sugerindo que a maior porcentagem de MO e umidade reduzem a dissipação do pesticida. No segundo dia e no terceiro dia este comportamento se inverte, revelando valor maior da concentração de pesticida no vaso contendo substrato com solo, que pode evidenciar que a presença do LET favoreceu o decaimento nestes dias. A partir do sexto dia o DFC residual se estabilizou nos dois substratos até o vigésimo primeiro dia.

A atividade microbiana do solo será avaliada em futuros estudos como fator que pode influenciar neste decaimento e o método otimizado pode ser usado para estudo de degradação de DFC com o uso de outros coadjuvantes no solo.

ANEXO 1 - Artigo

OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA ESTUDO DO DECAIMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIFENOCONAZOL EM SUBSTRATO COM ADIÇÃO DE LODO ATIVADO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO

ANALYTICAL METHOD OPTIMIZATION FOR STUDY OF DECAY OF CONCENTRATION OF DIFENOCONAZOLE IN SUBSTRATE WITH ADDITION OF TREATED ACTIVATED DOMESTIC SEWAGE SLUDGE

RESUMO

A incorporação de lodo ativado de esgoto doméstico tratado (LET) em solos, que sofrem ação de pesticidas, pode ser avaliada como uma possível solução para minimizar os efeitos da ação tóxica destes compostos recalcitrantes em alimentos cultivados e no meio em que ocorre este cultivo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do LET no perfil de decaimento na concentração do pesticida difenoconazol (DFC) no solo. Partindo da hipótese de que o uso de LET em solos pode influenciar na degradação de pesticidas, foi implementada uma abordagem *lab-to-field* para determinação do decaimento do analito tóxico utilizando DFC, um fungicida da classe dos triazóis. Foram testadas duas técnicas para extração e *clean-up* das amostras e, para cada técnica foram testados dois solventes. Também otimizadas as condições cromatográficas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CGEM) para identificação dos principais íons e quantificação do DFC. O experimento foi feito em quatro vasos contendo: somente solo; solo e LET na proporção 70/30%, respectivamente; solo fortificado com DFC; e solo e LET na proporção 70/30%, respectivamente, fortificado com DFC. Para o estudo da degradação foram retiradas alíquotas dos vasos durante 21 dias após dosagem de DFC na concentração de 20 mg.Kg⁻¹, respeitando frequência de coleta estabelecida. O método considerado mais eficiente para determinação de DFC utilizou extração com diclorometano sob ultrassom e *clean up* com a técnica de extração dispersiva em fase sólida, utilizando alumina como adsorvente. A partir dos resultados analíticos e da construção das curvas de degradação dos dois vasos que continham o analito, verificou-se que no primeiro dia após a dosagem houve uma queda brusca na concentração de DFC em ambos vasos, com mais intensidade no substrato só com solo. Nos dias seguintes o substrato com solo e LET apresentou maior decaimento do DFC em relação ao substrato com solo, confirmando variação significativa entre os substratos.

Palavras-Chave: Biossólidos; azol; CGEM.

ABSTRACT

The incorporation of activated sludge from treated domestic sewage (STS) in soils, which suffer from the action of pesticides, can be evaluated as a possible solution to minimize the effects of the toxic action of these recalcitrant compounds in cultivated foods and in the environment in which this cultivation occurs. The objective of this work was to evaluate the influence of STS on the degradation profile of pesticide difenoconazole (DFC) in the soil. Based on the hypothesis that the use of STS in soils may influence pesticide degradation, a *lab-to-field* approach was implemented to determine toxic analyte decay using DFC, a triazole class fungicide. Two techniques for sample extraction and *clean-up* were tested and for each technique two solvents were tested. Also chromatographic conditions were optimized by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCMS) for identification of the main ions and quantification of DFC. The experiment was done in four vessels containing: soil only; soil and STS in the proportion 70/30%, respectively; soil fortified with DFC; and soil and STS in the proportion 70/30%, respectively, fortified with DFC. For the degradation study, aliquots were removed from the vessels for 21 days after DFC dosing at a concentration of 20 mg.Kg⁻¹, respecting the established collection frequency. The method considered most efficient for the determination of DFC used dichloromethane under ultrasound extraction and *clean up* with the dispersive solid phase extraction technique, using alumina as adsorbent. From the analytical results and the construction of the degradation curves of the two vessels containing the analyte, it was observed that on the first day after dosing there was a sharp drop in the concentration of DFC in both vessels, with greater intensity in the soil only substrate. In the following days the substrate with soil and STS presented higher decay of DFC in relation to the substrate with soil, confirming significant variation between substrates.

Keywords: Biosolids; azole; GCMS.

INTRODUÇÃO

A qualidade do solo, da água e do ar se configuram como os três compartimentos que determinam a qualidade ambiental. Enquanto a água e o ar se definem comumente pelo grau de poluição que prejudica diretamente a saúde humana e os ecossistemas, a qualidade do solo não se limita apenas ao seu grau de poluição envolvendo no contexto o impacto na capacidade funcional deste compartimento ambiental (BUNNEMANN et al., 2018). Devido a quantidade ampla de microrganismos que executam as principais funções do ecossistema do solo, o caracterizando como um recurso limitado e amplamente não renovável, ele se torna um habitat único e complexo que contribui em processos com impactos em escala global (STORCK et al., 2018). E desde que a humanidade se apropriou de métodos agrícolas de cultivo de alimentos no solo, este compartimento ambiental recebeu uma atenção especial, devendo suprir as necessidades para uma cultura produtiva qualitativamente e quantitativamente (JAISWAL et al., 2019; REY et al. 2019). E neste contexto os pesticidas são usados no solo para garantir a estabilidade da produção agrícola e mesmo não afetando diretamente a saúde humana, indiretamente bio-concentram em tecidos de organismos (CHANG e CHANG, 2019) associando sua presença a alterações hormonais (alterações no sistema endócrino), falhas no desenvolvimento do sistema nervoso e formação de tumores (em alguns casos malignos) (FISHER et al., 2018; SHI et al., 2017; MEIS et al., 2016). A contaminação pelo uso de pesticidas no solo merece atenção da comunidade científica não apenas pelo risco envolvido no consumo de alimentos cultivados e também pela ótica do desequilíbrio ecológico promovido pela degradação dos recursos naturais adjacentes ao solo onde o pesticida foi aplicado como a água (através de lençóis freáticos), a flora e fauna (HENDRIKS et al., 2019). Uma prática comum que visa minimizar o impacto de pesticidas no solo é a adição de resíduos industriais e domiciliares tratados como biorremediadores atuantes sobre o efeito tóxico causado pela adição de poluentes orgânicos persistentes (POPs) (EVANS et al., 2011).

Entre os pesticidas mais comuns no cenário agrícola, os fungicidas se destacam com grande abrangência no mercado. E dentre muitas classes de fungicidas, os azóis representam um grupo de substâncias amplamente utilizadas tanto na agricultura como na indústria farmacêutica (SHAHINASI et al., 2017). Este grupo apresenta, principalmente, duas subclasses com base no número de átomos de nitrogênio em um anel. A primeira classe inclui imidazóis, com dois átomos de nitrogênio em um anel azol, enquanto outra classe inclui triazóis, que contém três átomos de nitrogênio em um anel cíclico (PRASAD et al., 2016). Um dos triazóis mais comuns no mercado como fungicida agrícola é o difenoconazol (DFC), que se caracteriza como fungicida por interferir na biossíntese do ergosterol e inibir a desmetilação de esteroides comprometendo o crescimento dos fungos (KANG et al., 2017; SZPYRKA e WALORCZYK, 2016). Aplicado em diversas culturas, o DFC (cis, trans-3-cloro-4-[4-metil-2-

(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil) -1,3-dioxolan-2-il] fenil-4-clorofenil éter]) é um pesticida de uso agrícola e domissanitário de aplicação foliar e de aplicação em sementes, sendo que seu limite máximo de resíduos (LMR) é de 0,5mg kg⁻¹ em algumas culturas e sua ingestão diária aceitável (IDA) é de 0,6mg kg⁻¹ p.c. (ANVISA, 2015). Estudos avaliaram a cinética de dissipação do DFC em solos com o objetivo de avaliar o impacto do fungicida neste recurso natural, como as pesquisas de Banerjee et al. (2008) e Zhang et al. (2015) que estudaram o padrão de dissipação do fungicida em culturas e produtos em diferentes doses para determinar seus intervalos pré colheita (PHIs), revelando a importância de soluções qualificadas para minimizar o efeito deste agrotóxico no meio ambiente.

O DFC, assim como todos triazóis e a maioria dos pesticidas, apresenta quiralidade e suas quatro formas conhecidas (Figura 1) se comportam de formas diversas no solo apresentando toxicidade enantiosseletiva. Levando em consideração que os processos de absorção, distribuição e degradação no organismo e ambiente em que estes se encontram são frequentemente enantiosseletivos, revelando um imenso campo de pesquisa onde avaliações de risco de resíduos de pesticidas quirais em alimentos e matriz ambiental com base nos dados obtidos pelos métodos aquirais são incompletos e inespecíficos (ZHANG et al., 2015 e LI et al., 2012).

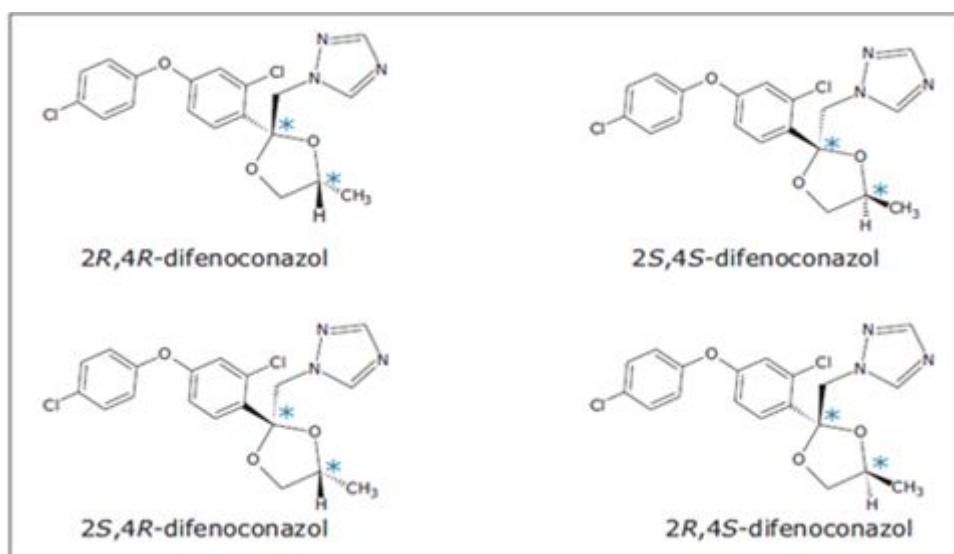


Figura 1. Estrutura dos quatro estereoisômeros do DFC. Os asteriscos indicam os centros estereogênicos.

Com o objetivo de minimizar o efeito de pesticidas no solo, vários coadjuvantes biológicos já foram inseridos no solo como bactérias (ARYA e SHARMA, 2015 e MÓNICA et al., 2016), fungos (SPINA et al., 2018; GUPTA et al., 2017 e MAQBOOL et al., 2016), e biochar (ZHEN et al., 2018 e CHENG et al., 2017), e o tema revela estudos no campo da edição genética envolvendo biologia computacional e abordagens multi-óticas com intuito de desenvolver um micróbio, com gene funcional de interesse, para degradação de um recalcitrante específico (JAISWAL et al., 2019). No

atual panorama demográfico, o lodo ativado de esgoto doméstico tratado (LET) se torna uma alternativa viável como biodegradante, devido seu uso atualmente comum atrelado à demanda global por energias renováveis, através do uso do LET como biomassa, e substratos para fertilização de solos (KACPRZAK et al., 2017). Ainda se trata com preconceito da sociedade o uso de LET como fertilizante ou biodegradante no solo devido à sua origem, entretanto em muitos países desenvolvidos seu uso como fertilizante é comum e gera muita produção científica no estudo dos seus benefícios como adjuvante no solo (EVANS et al., 2011).

Estudos recentes investigam os efeitos quantitativos e qualitativos do DFC que prejudicam características estruturais e funcionais da microbiota em solos devido ao seu uso prolongado e, muitas vezes, sofrem a falta de fiscalização dos órgãos competentes no seu uso correto (FILIMON et al., 2018), tanto que o DFC foi identificado no LET em certas regiões como em Madri, na Espanha, onde foi detectado DFC no LET que é usado como fertilizante orgânico em culturas da região, de acordo com García-Valcárcel e Tadeo (2011), que confirmaram a presença de compostos azólicos nesta matéria prima, em quantidades que podem produzir efeitos adversos no meio ambiente. Outra característica dos azóis que merece muita atenção atualmente diz respeito a saúde pública. A crescente frequência de infecções fúngicas que acarretam risco de vida provoca o aumento de uso profilático de azóis em pacientes de alto risco se tornou um fator importante para o surgimento e a disseminação da resistência aos medicamentos azólicos (GARCIA-RUBIO et al., 2017; AZEVEDO et al., 2015). E neste contexto, é determinante que se avalie que a degradação do DFC depende de vários fatores que incluem desde os aspectos regionais, características físico-químicas do solo, atividade microbiana do solo e dosagens de DFC aplicadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o decaimento da concentração do DFC no solo com adição de LET em uma abordagem *lab to farm*, através de metodologia analítica otimizada para determinação do analito nas amostras.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Reagentes, solventes e materiais

Para o desenvolvimento do trabalho foi utilizado o produto comercial Score 250 EC (Syngenta), concentrado para emulsão com 250 g L⁻¹ do princípio ativo DFC. A partir do produto comercial foi feita uma solução estoque de 20 mg L⁻¹ em DCM. Os solventes acetonitrila (ACN), acetona e diclorometano (DCM) de grau analítico (Synth). Cloreto de sódio (Merck), sulfato de sódio anidro (Merck) ativado em estufa a 100°C por 6 horas e armazenado em dessecador, para conservar a umidade. Óxido de alumínio neutro (alumina) 0,05-0,2 mm/70-270 mesh ASTM (Macherley-Nagel) ativado em mufla a 400°C durante 8 horas e armazenado em dessecador. Para determinação dos índices de retenção foi utilizada solução padrão de n-alcenos, resultantes da mistura dos padrões C8 a C20 e C21 e C40 (Sigma-Aldrich). O solo utilizado foi o argissolo vermelho-amarelo distrófico (PVAd) fornecido pela EMBRAPA e o LET proveniente da estação de tratamento de esgoto (ETE) da Companhia Rio-grandense de Saneamento (CORSAN) da cidade de Rio Grande (RS) que segue o processo para tratamento de esgotos de lodos ativados em tanques de aeração (CORSAN, 2019).

2. Caracterização físico-química do solo e LET

Foram avaliadas umidade por gravimetria, matéria orgânica por perda de voláteis em forno de mufla (550°C), pH por potenciometria (relação amostra:água 1:5) e carbono orgânico em g kg⁻¹ por combustão úmida. Todas análises seguiram as metodologias utilizadas por Tedesco et al. (1995).

3. Otimização do método cromatográfico

Para otimização das condições cromatográficas, foi utilizada uma solução de 500 mg L⁻¹ de DFC em DCM. As análises para identificação do DFC foram feitas em CGEM em um equipamento Shimadzu QP 2010 com coluna de polidimetilsiloxano (PDMS) com 5% de grupos fenila (Restek5MS), com hélio como gás de arraste. Partindo-se das condições estabelecidas para fungicidas por Hladik e McWayne (2012), foram otimizados: os modos de injeção (*split* e *splitless*), modo de análise do espectrômetro de massas (*scan* e *SIM*) e a programação da temperatura do forno (Tabela 1). As condições iniciais do CGEM foram: 1 µL do analito foi injetado em modo *splitless* (temperatura de injetor 275 °C). Com energia de ionização do CGEM de 70 eV.

Tabela 1. Programação de forno no CGEM conforme as condições estabelecidas por Hladik e McWayne (2012).

| Rampa (°C min ⁻¹) | Temperatura | Tempo de permanência (min) |
|-------------------------------|-------------|----------------------------|
| 0 | 80 | 0,5 |
| 10 | 180 | 0 |
| 5 | 220 | 1 |
| 4 | 280 | 1 |
| 10 | 300 | 0 |

Para avaliar a influência da matriz na análise cromatográfica foi preparada uma amostra com 100 g de substrato (mistura de solo e LET na proporção 70/30%), com fortificação de 20 mg kg⁻¹ do DFC. O método de extração foi o método utilizado por Gonçalves e Alpendurada (2004), que não aplica *clean up* ao extrato obtido. A determinação da linearidade do método cromatográfico otimizado foi realizada através da construção de uma curva de calibração com soluções de trabalho na faixa de 25 a 200 mg L⁻¹ com DCM, todas as soluções foram armazenadas sob refrigeração e protegidas contra a luz com folha de alumínio. O padrão de 50 mg L⁻¹ foi analisado cinco vezes para o estudo de precisão que foi expresso através do desvio relativo em porcentagem (RSD%). A exatidão foi estudada através da aplicação da curva para cálculo da concentração da solução de 50 mg L⁻¹ a partir de sua área, sendo a diferença entre o valor da solução e o valor encontrado a partir da curva, expresso como erro relativo. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados com base da análise de brancos, considerando três vezes o valor de RSD do branco e dez vezes o valor do RSD do branco (ambos divididos pelo coeficiente angular da curva), para LD e LQ, respectivamente (LANÇAS, 2004).

Os compostos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com a solução de trabalho e pela biblioteca NIST instalada no programa GCMSolutions versão 2.5 (Shimatzu) do CGEM, considerando similaridades superiores a 80%. Para confirmação da identidade dos compostos na amostra foi calculado (conforme Equação 1) o índice de retenção (IR), utilizando padrão de n-alcenos conforme equação de Van den Dool e Kratz (1963).

$$IR = 100n + 100 \frac{tR(c) - tR(n)}{tR(n+1) - tR(n)} \quad \text{Equação 1:}$$

Onde $t_{R(n)}$ e $t_{R(n+1)}$ são tempos de retenção dos n-alcenos de referência eluídos antes e imediatamente depois do composto químico "C"; $t_{R(c)}$ é o tempo de retenção do composto "C" (VON MÜHLEN, 2009).

4. Extração e *clean up*

Para otimizar o método de pré-tratamento para detectar o DFC nas amostras, diferentes solventes de extração foram investigados para melhorar a eficiência de extração. Para determinar o método mais eficiente foram preparados dois vasos contendo 100 g da mistura de solo e LET na proporção 70/30% em base seca (BS), sendo uma fortificada com DFC a 20 mg kg⁻¹ e a outra não. Após homogeneização dos substratos foram retiradas amostras para extração e *clean up* em triplicata. O experimento sem dosagem recebeu o mesmo tratamento para confirmação de ausência dos compostos encontrados no produto comercial no solo com LET. Os métodos de extração usaram o fundamento da extração por solventes sob US, que é indicada para extrair componentes orgânicos voláteis e semi-voláteis de sólidos como solos, lodos e resíduos (EPA 3550C, 2007). Os métodos testados basearam-se no método adotado por Gonçalves e Alpendurada (2004), utilizando os solventes extratores DCM e ACN (codificando os métodos como GDCM e GACN, respectivamente), e no método adotado por Kang et al. (2017), avaliando os solventes extratores DCM e ACN (codificando os métodos como KDCM e KACN, respectivamente). Para o *clean-up* dos extratos obtidos através dos métodos GDCM e GACN foi usada a técnica de cromatografia líquida preparativa (CLP), com alumina como fase estacionária (SHALABI et al., 2017), e para o *clean-up* dos extratos obtidos dos métodos KDCM e KACN foi usada a técnica da extração em fase sólida, utilizando alumina como adsorvente, método utilizado pelo próprio Kang et al. (2017).

4.1. Extração

O método I seguiu a metodologia adotada por Gonçalves e Alpendurada (2004) que consistiu na extração de 5 g de amostra com 5 ml de solvente em erlenmeyer e colocados em banho de US modelo USC1400A (UNIQUE) durante 15 min - por três ciclos – após cada ciclo o extrato foi transferido para um mesmo béquer, através de um funil com filtro de papel qualitativo (previamente lavado com o solvente utilizado), contendo uma porção de sulfato de sódio anidro. O béquer com 15 ml do extrato foi evaporado em capela para posterior *clean up*. O método II seguiu a metodologia adotada por Kang et al. (2017) que consiste na extração de 10 g da amostra em tubo de centrifuga com 10 ml do solvente em banho de US por 15 min. Após a extração foi adicionado 3 g de sulfato de sódio anidro e 2 g de cloreto de sódio a mistura é agitada em vortéx por 3 min, para posterior centrifugação por 5 min, 3 ml do sobrenadante foram coletados, evaporados e submetidos

posteriormente para *clean up*.

4.2. Clean up

Para o *clean up* do extrato obtido no método I houve otimização de procedimento utilizando mini coluna de cromatografia líquida preparativa (CLP) conforme Shalabi et al. (2017), com óxido de alumínio (alumina) como fase estacionária e acetona como fase móvel. O extrato obtido na extração por US foi diluído em 1 ml de acetona, homogeneizado com 0,5 mg de alumina, evaporado, adicionado na CLP (recheada com uma porção de sulfato de sódio anidro no início da coluna, a fase estacionária e outra porção de sulfato de sódio anidro no final da coluna). Foram coletadas três frações de 5ml para determinar o volume de eluição do DFC. Cada fração foi evaporada, reconstituída em 1 ml de DCM e analisado em CGEM.

Para o clean-up do extrato obtido no método II foi usada a técnica da extração dispersiva em fase sólida utilizando alumina como adsorvente. O extrato obtido foi diluído em 1 ml do solvente utilizado na extração, homogeneizado com 0,05 g de alumina, agitado em vortéx por 30 seg e centrifugado por 5 min. Após centrifugação o sobrenadante foi coletado, filtrado, avolumado em 1 ml e analisado em CGEM. Os dois métodos utilizados são ilustrados na Figura 2.

Para avaliação dos métodos de extração e *clean up* foram utilizadas recuperações considerando as diferenças entre as concentrações obtidas através de cada metodologia em relação ao valor teórico esperado (utilizando as curvas de calibração em função do tratamento de cada método), e a precisão foi avaliada através do RSD em relação as triplicatas.

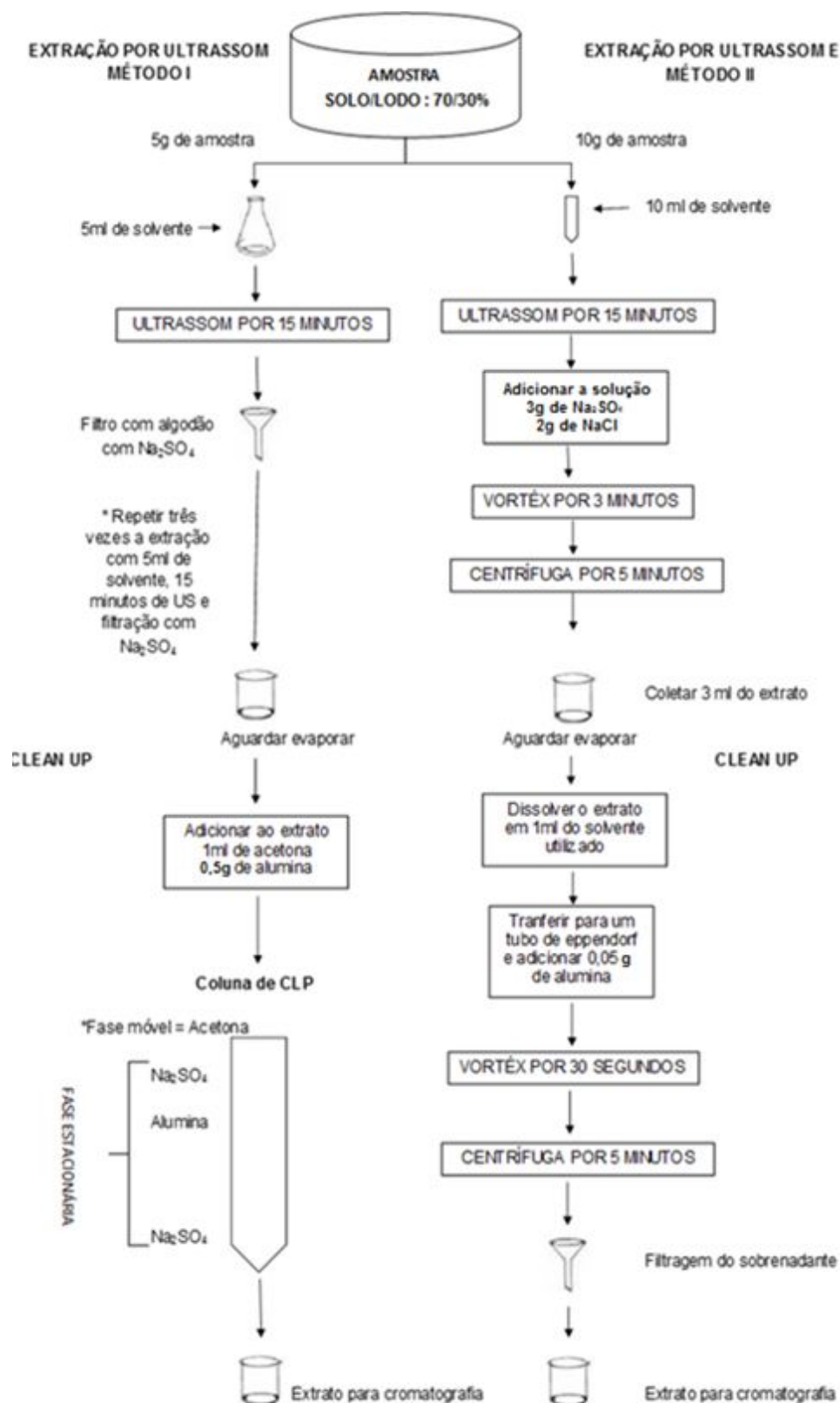


Figura 2. Métodos de extração e *clean up* modificados (KANG et al., 2017; Gonçalves e Alpendurada, 2004 e Shalabi et al., 2017).

5. Estudo de decaimento

O estudo do decaimento de concentração do DFC foi realizado em bancada com preparação de quatro vasos para acompanhamento do perfil de degradação (Tabela 2). Um vaso contendo 500 g (BS) de solo, um vaso contendo 500 g (BS) da mistura de solo com LET na proporção de 70/30%, respectivamente, um vaso contendo 500 g (BS) da mistura de solo com LET na proporção de 70/30%, respectivamente, com adição de 20 mg kg⁻¹ de pesticida e um vaso contendo 500 g de solo (BS) com adição de 20 mg kg⁻¹.

Tabela 2. Experimentos de bancada.

| Substratos | Código |
|---|--------|
| Vaso com 500 g (BS) de solo. | VSB |
| Vaso contendo 500 g (BS) da mistura de solo com LET na proporção de 70/30%, respectivamente. | VSLB |
| Vaso contendo 500 g (BS) da mistura de solo com LET na proporção de 70/30%, respectivamente, com adição de 20 mg kg ⁻¹ de pesticida. | VSLD |
| Vaso contendo 500 g de solo em BS com adição de 20 mg kg ⁻¹ . | VSD |

Para determinar o perfil de degradação do pesticida no solo com adição de LET foi seguido o método experimental utilizado por Kang et al. (2017) que consiste na coleta de amostras aleatórias a partir de 2 h (considerada como a concentração inicial), 1,2,3,5,7,10, 14 e 21 dias após a aplicação de pesticida. Todos vasos foram cuidadosamente homogeneizados anteriormente a cada coleta e as amostras foram retiradas (em triplicata) para extração, *clean up* e análise em CGEM.

Com o método otimizado foram determinadas as concentrações residuais de DFC nos extratos obtidos das amostras coletadas de VSLD e VSD nos dias indicados do experimento. A partir destes dados foi construída a curva de degradação relacionando a porcentagem de DFC remanescente, considerando no tempo zero a concentração inicial de 20 mg.kg⁻¹ correspondendo a 100%, por tempo em dias. Para determinar se houve homogeneidade entre as variâncias dos perfis de degradação do VSLD e VSD foi feito análise de variância, através do software Statistica 7.1 (STATSOFT EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Caracterização do solo e do LET

A Tabela 3 apresenta a caracterização do solo e do LET, evidenciando que o LET apresenta um alto teor de matéria orgânica (MO) e umidade, enquanto o solo apresenta baixa umidade e baixo teor de matéria orgânica, que pode indicar que o solo utilizado (PVAd) tem fertilidade química predominantemente baixa.

Os resultados de umidade tanto para o LET como para o solo foram aceitáveis para construção do experimento. Em relação ao LET esse resultado foi inferior aos obtidos por Ingelmo et al. (2012), que obteve 94,5% para o LET. O teor de MO do LET confere a este LET uma característica desejável para sua aplicação como fonte de nutrientes para o solo agrário (BOHM et al., 2016). O pH do LET está dentro da faixa desejada que é entre 5,5 - 7,0, conforme Tedesco (1995). O elevado teor de carbono no LET pode proporcionar elevada atividade microbiana através da respiração quando adicionado a solos (MOREIRA; MALAVOLTA, 2004).

Tabela 3. Resultados da caracterização do LET e do solo.

| | Umidade % | MO % | pH | C mg kg ⁻¹ |
|------|-----------|------|-----|-----------------------|
| LET | 66,0 | 60 | 6,6 | 307,0 |
| SOLO | 11,0 | 4,3 | 4,5 | 25,3 |

2. Otimização do método cromatográfico

A Figura 3 apresenta os cromatogramas obtidos com injeção *splitless* (a) e *split* (b) em modo *scan* para a solução de 500 mg L⁻¹ do produto comercial Score 250 EC nas condições conforme Hladik e McWayne (2012). Foi observado que os cromatogramas revelaram que o produto comercial apresenta o DFC com duas formas quirais com tempo de retenção de 64,923 e 65,111 min (identificados na tabela 4 e indicados na Figura 3 a1 e b2). A presença dos dois isômeros do DFC já foi observados em estudos de Szpyrka e Walorczyk (2016). Também foi possível identificar a presença outros compostos em grande quantidade, na sua maioria hidrocarbonetos (indicados e identificados na Figura 3 b2 e na tabela 5, respectivamente) na faixa entre 7,907 e 8,080 min.

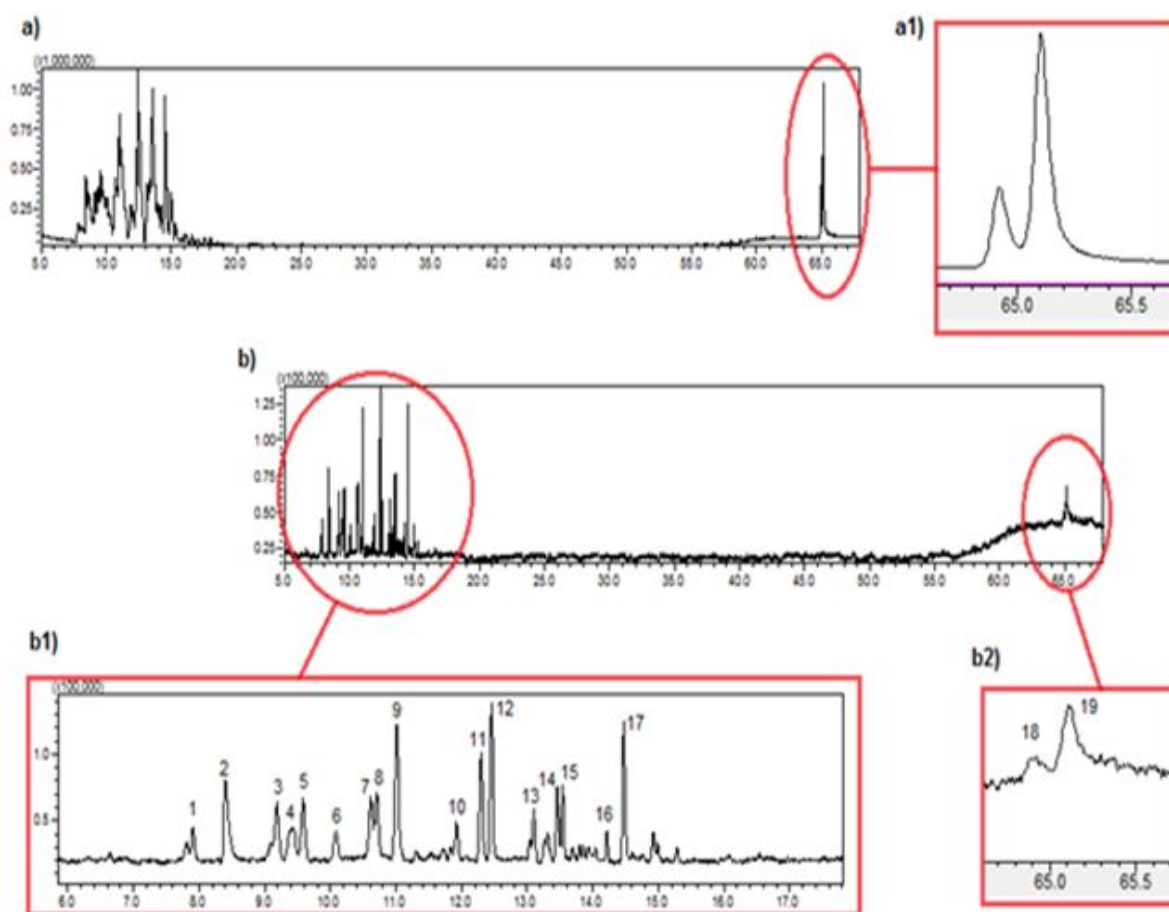


Figura 3. Cromatogramas obtidos dos compostos encontrados no produto comercial: a) Injeção *splitless* a1) DFC em modo *splitless* b) Injeção *split* b1) e b2).

Embora o modo *splitless* tenha apresentado áreas maiores, o que implicaria em maior sensibilidade e menores LD e LQ para o DFC, o modo *split* foi mais adequado para caracterização do produto comercial em função da elevada concentração dos hidrocarbonetos aromáticos que ficaram melhor resolvidos neste modo na razão 1:20.

Tabela 4. Compostos encontrados no produto comercial.

| Pico | Composto químico | Tempo de retenção (min) | Área do pico (%) | Massa molecular |
|------|--------------------------------------|-------------------------|------------------|-----------------|
| 1 | 1-Hexanol, 2-etil- | 7,91 | 2,37 | 130,2 |
| 2 | 2-Pirrolidinona, 1-metil- | 8,40 | 10,80 | 99 |
| 3 | Benzeno, 1-metil-3-propil- | 9,19 | 5,55 | 134 |
| 4 | Benzeno, 1-metil-4-propil- - | 9,41 | 4,02 | 134 |
| 5 | Benzeno, 1-etil-3,5-dimetil-* | 9,58 | 4,98 | 134 |
| 6 | Benzeno, 1-metil-2-propil* | 10,08 | 2,18 | 134 |
| 7 | Benzeno, etil-dimetil (isomero)* | 10,62 | 4,84 | 134 |
| 8 | Benzeno, etil-dimetil (isomero)* | 10,71 | 5,06 | 134 |
| 9 | Benzene, etil-dimetil (isomero)* | 11,01 | 1,77 | 134 |
| 10 | Benzeno, etil-dimetil (isomero)* | 11,92 | 1,99 | 134 |
| 11 | Benzeno, tetrametil (isomero)* | 12,30 | 6,93 | 134 |
| 12 | Benzeno, tetrametil (isomero)* | 12,46 | 10,28 | 134 |
| 13 | Benzeno, 1-metil-2-(2-propenil)* | 13,11 | 2,78 | 132 |
| 14 | 1H-Indeno, 2,3-dihidro-5-metil-* | 13,46 | 4,67 | 132 |
| 15 | Benzeno, 2-etil-1,4-dimetil-* | 13,54 | 4,18 | 134 |
| 16 | Benzeno, 1-metil-4-(1-metilpropil)-* | 14,22 | 1,49 | 148 |
| 17 | Naftaleno | 14,48 | 8,97 | 128 |
| 18 | DFC | 64,92 | 1,51 | 405 |
| 19 | DFC | 65,11 | 4,63 | 405 |

*Não obtiveram confirmação do IR, por padrão de n-alcenos por Van denDool e Kratz.

A partir do estudo dos espectros de massa do DFC, apresentados na Figura 4, em modo *scan*

foi possível identificar os principais íons resultantes das quebras deste analito, desta forma foram selecionados os íons de maior intensidade, m/z 265 e 323, para posteriores análises em GCMS em modo SIM.

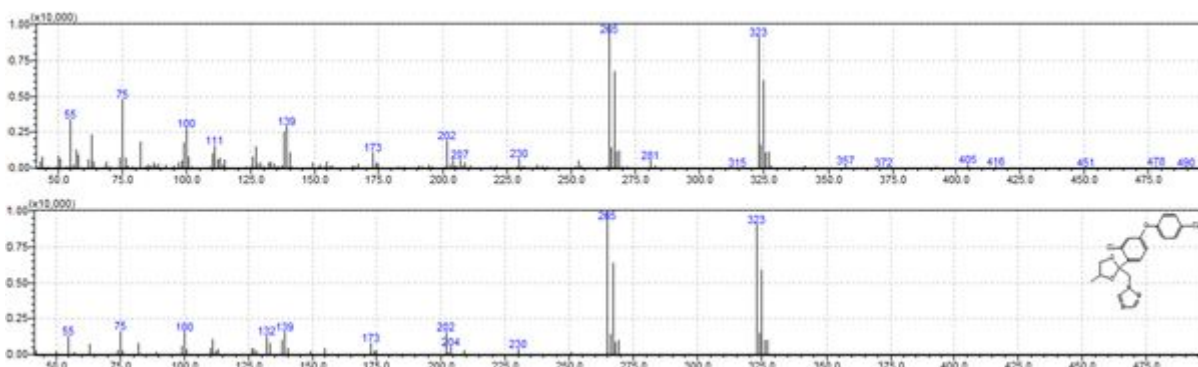


Figura 4. Comparação dos espectros de massa para o DFC com o espectro da biblioteca NIST.

Buscando um menor tempo de análise para identificar todos compostos o forno foi reprogramado conforme Tabela 5. Com esta programação o DFC com suas duas formas quirais foram identificadas nos tempos de 54,85 e 55,04 min. Porém quando analisamos os extratos referentes a amostra fortificada (para avaliar a interferência da matriz), foi observado que alguns compostos poderiam ser detectados após o tempo proposto pela corrida cromatográfica. Em função disto o tempo final foi prolongado por mais 20 min.

Tabela 5. Reprogramação do forno.

| Rampa (°C min ⁻¹) | Temperatura final (°C) | Tempo de permanência (min) |
|-------------------------------|------------------------|----------------------------|
| 0 | 80 | 0 |
| 10 | 120 | 0 |
| 3 | 220 | 5 |
| 10 | 290 | 20 |

Visando o aumento da sensibilidade aliada com *clean up* eletrônico as análises cromatográficas dos extratos foram conduzidas com injeções *splitless* de 1 µL em modo SIM utilizando os íons m/z 265 e 323. Este método se comportou de forma linear, considerando como sinal analítico a soma das áreas dos dois isômeros em relação a concentração, com um coeficiente de correlação linear (R²) de 0,999. O método foi considerado preciso com RSD de 4,2% e exato com erro

relativo de 2,5%. O LD e LQ foram de 0,01 mg L⁻¹ e 0,03 mg L⁻¹, respectivamente, revelando valores aceitáveis em conformidade com Zhao et al. (2019).

3. Extração e *clean up*

Observando os dados da Tabela 6 o método KDCM apresentou a melhor recuperação (79,8 ± 3,1%), com precisão entre as amostras aceitável segundo Zhao et al (2019). Considerando as recuperações de 100% e os LD e LQ do método cromatográfico, os LDs e LQs em relação a amostra, seguindo esta metodologia, estariam na faixa de 0,001 e 0,003 mg kg⁻¹ (ZHAO et al., 2019).

Tabela 6. Recuperação, RSD e tempo médio dos métodos analisados.

| Método de Extração | Recuperação (%) | RSD(%) | Tempo médio(min) |
|--------------------|-----------------|--------|------------------|
| GDCM | 40,7 | 2,7 | 60 |
| GACN | 24,6 | 3,3 | 60 |
| KDCM | 79,8 | 3,1 | 30 |
| KACN | 40,5 | 0,9 | 30 |

Os métodos de extração GDCM e GACN (com volume de eluição na CLP definido nos primeiros 5 ml de acetona), apresentaram menores recuperações de DFC. Também podemos observar na figura 5a que o processo de *clean up* não se apresentou efetivo nestes métodos, inclusive na determinação do DFC (Figura 5b), resultando em muitos compostos no extrato que poderiam danificar ou sobrecarregar a coluna cromatográfica e, além disto, as quantidades de solvente envolvida nestes métodos os tornam menos econômicos e mais agressivos ao meio ambiente e aos analistas.

A Figura 5c compara os cromatogramas dos extratos obtidos por KDCM e KACN que revelou em modo SIM, percebe-se a eliminação dos compostos interferentes através do *clean up* eletrônico proporcionado por esse modo, além de confirmar a melhor recuperação descrita pela Tabela 6.

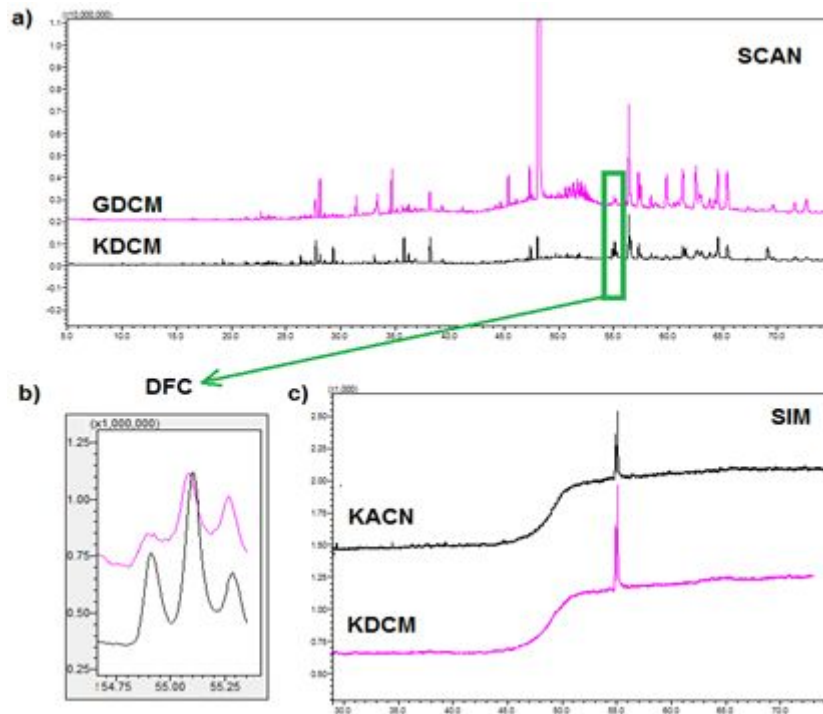


Figura 5. Cromatogramas em modo SIM e *scan*. a) Comparação entre métodos GDCM e KDCM em modo *scan*. b) DFC em evidência nos métodos em modo *scan*. c) Comparação entre os cromatogramas dos extratos obtidos por KDCM e KACN em modo SIM

4. Estudo de decaimento

A tabela 7 e a Figura 6 apresentam os resultados de DFC residual nas amostras retiradas nos dias propostos do estudo de decaimento de concentração do fungicida. Podemos observar que em ambos os tratamentos houve uma grande queda, de 79,5% para o VSLD e 89,9% para o VSD revelando que o substrato VSD apresentou maior redução nas primeiras 24 horas. Este comportamento sugere que a maior porcentagem de MO e umidade reduzem a dissipação do pesticida. A MO favorece uma interação mais forte com compostos de baixa polaridade com o solo em função de sua polaridade, por outro lado o alto teor de umidade do LET está relacionado com uma baixa granulometria do LET, o que pode justificar uma menor aeração que pode dificultar a dissipação do DFC para atmosfera (SANCHES FILHO e MESQUITA, 2018). No segundo dia e no terceiro dia este comportamento se inverte, revelando valor maior da concentração de pesticida no vaso contendo substrato com solo, que pode evidenciar que a presença do LET favoreceu o decaimento. A partir do sexto dia o DFC residual se estabilizou nos dois substratos até o vigésimo primeiro dia.

Tabela 7. Quantidade Residual de DFC no substrato com solo e LET fortificado com pesticida (VSLD) e substrato com solo fortificado com pesticida (VSD)

| Dias | Residual DFC VSLD (mg Kg ⁻¹) | Residual DFC VSD (mg Kg ⁻¹) |
|------|--|---|
| 0 | 23,7 ± 1,0% ^{a x} | 23,4 ± 0,4% ^{a x} |
| 1 | 4,9 ± 6,4% ^{b y} | 2,7 ± 19,4% ^{b x} |
| 2 | 1,0 ± 6,1% ^{c x} | 1,5 ± 18,5% ^{cd y} |
| 3 | 0,8 ± 10,1% ^{c x} | 1,7 ± 9,1% ^{bc y} |
| 6 | 0,8 ± 5,7% ^{cd x} | 0,6 ± 17,8% ^{de x} |
| 8 | 0,8 ± 12,3% ^{cd x} | 0,6 ± 20,5% ^{de x} |
| 10 | 0,4 ± 7,3% ^{d x} | 0,7 ± 10,0% ^{de x} |
| 14 | 0,4 ± 7,9% ^{d x} | 0,5 ± 8,1% ^{de x} |
| 21 | 0,3 ± 5,5% ^{d x} | 0,3 ± 20,0% ^{e x} |

Médias com letras idênticas na coluna (a, b, c, d, e) ou na linha (x, y) não diferiram entre si pelo método de Tuckey ($p \leq 0,5$).

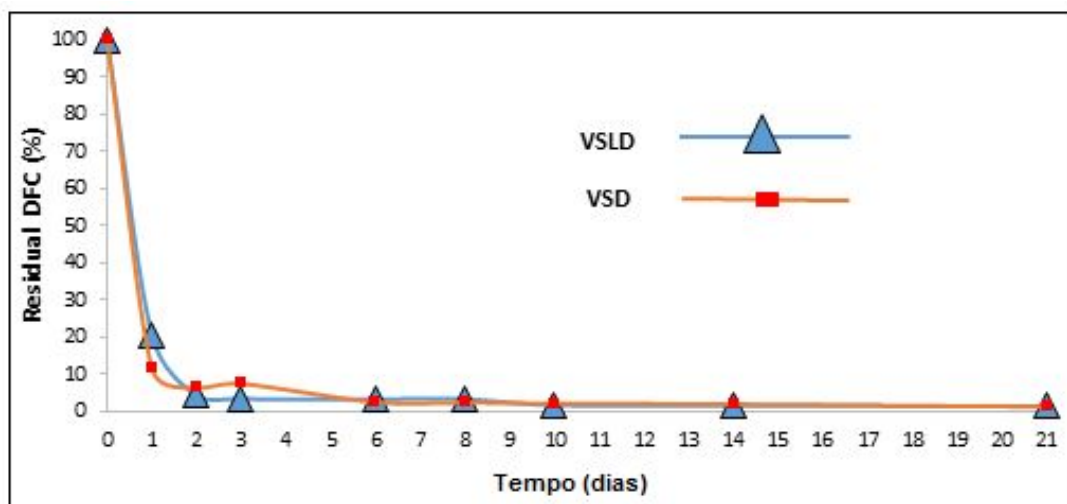


Figura 6. Gráfico comparativo entre a porcentagem residual de DFC no substrato com solo e LET fortificado com pesticida (VSLD) e substrato com solo fortificado com pesticida (VSD)

CONCLUSÕES

O método de extração, *clean up* e determinação por CGEM otimizado neste estudo, reuniu extração com DCM sob US e *clean up* com a técnica de extração dispersiva utilizando alumina como fase sólida. O método cromatográfico foi definido em modo SIM (m/z 265 e 323) e injeção *splitless*. A metodologia como um todo apresentou precisão e recuperação aceitáveis, LD e LQ compatíveis com outras metodologias para quantificação de DFC e adequados para acompanhamento do comportamento de decaimento da concentração do analito.

O estudo de decaimento da concentração do DFC concluiu que houve variação significativa ($p \leq 0,5$) entre o substrato com solo e o substrato contendo solo e LET durante os três primeiros dias. Embora no primeiro dia o substrato contendo apenas solo apresentou queda maior da concentração do pesticida, nos dois dias seguintes o comportamento se inverteu evidenciando favorecimento do LET na queda de concentração do pesticida no substrato. A partir do sexto dia a concentração de DFC se estabilizou em ambos vasos, evidenciando maior variância na concentração no substrato com apenas solo até o vigésimo primeiro dia.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 4.976 de 30/12/14 (DOU de 02/01/15). Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis> Acessado em: 5 de jan de 2019.

ARYA, R.; SHARMA, A. K. **Bioremediation of carbendazim, a benzimidazole fungicide using *Brevibacillus borstelensis* and *Streptomyces albogriseolus* together.** Current pharmaceutical biotechnology, v. 17, n. 2, p. 185-189, 2015. doi: 10.2174/1389201016666150930115737

AZEVEDO, M. M.; FARIA-RAMOS, I.; CRUZ, L. C.; PINA-VAZ, C.; GONCALVES RODRIGUES, A. **Genesis of azole antifungal resistance from agriculture to clinical settings.** Journal of agricultural and food chemistry. v. 63, n. 34, p. 7463-7468, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02728>

BANERJEE, K.; OULKAR, D. P.; PATIL, S. H.; DASGRUPTA S.; ADSULE, P. G. **Degradation kinetics and safety evaluation of tetraconazole and difenoconazole residues in grape.** Pest Management Science: formerly Pesticide Science, v. 64, n. 3, p. 283-289, 2008. <https://doi.org/10.1002/ps.1524>

BOHM, G.; KARSBURG, R.; HEIDRICH, C.; BOHM, E.; MACHADO R. **Effects of different sewage sludge concentrations on soil and cultivated *Raphanus sativus* L.** American Journal of Experimental Agriculture v. 10, n. 3, p. 1-7, 2016

BÜNEMANN, E. K.; BONGIORNO, J.; BAI, Z.; CREAMER, R. E.; DE DEYN, G.; DE GOEDE, R.; FLESKENS, L.; GEISSEN, V.; KUYPER, T. W.; MÄDER, P. PULLEMAN, M.; SUKKEL, W.; VAN GROENIGEN J. W.; BRUSSAARD, L. **Soil quality – A critical review.** Soil Biology and Biochemistry, v. 120, p. 105-125, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>

CHANG, L.; CHANG, C. M. **A QSAR Study on the Persistence of Fungicides in the Environment.** International Journal of Quantitative Structure-Property Relationships. V. 4, P. 100-116, 2019. DOI: 10.4018/IJQSPR.2019040105

CHENG, J.; LEE, X.; GAO, W.; CHEN, YI.; PAN, W.; TANG, Y. **Effect of biochar on the bioavailability of difenoconazole and**

microbial community composition in a pesticide-contaminated soil. *Appliedsoilecology*, v. 121, p. 185-192, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.10.009>

CORSAN- Companhia Riograndense de saneamento. Disponível em <http://www3.corsan.com.br/sistemas/trat_esg_proc.htm>, acesso em janeiro de 2019.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. 2.ed. Brasileira Embrapa. Produção de informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006.

EVANS, T. **A Review of Current Knowledge. Sewage Sludge:** Operational and Environmental Issues. 3rd edn. Foundation for Water Research, Buckinghamshire. 2011.

FILIMON, M. N.; POPESCU, R.; VERDES, D.; DUMITRESCU, G.; VOIA, O. S.; AHMADI, M.; DRONCA, D. **The Effects of Difenoconazole Treatment on Microorganism from Soil. Communities.** v. 14, n. 17, p. 20, 2018.

FISHER, M. C.; HAWKINS, N. J.; SANGLARD, D.; GURR, S. J. **Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security.** *Science*, v. 360, n. 6390, p. 739-742, 2018. DOI: 10.1126/science.aap7999

GARCIA-RUBIO, R.; CUENCA-ESTRELLA, M.; MELLADO, E. **Triazole resistance in Aspergillus species: an emerging problem.** *Drugs*, v. 77, n. 6, p. 599-613, 2017. <https://doi.org/10.1007/s40265-017-0714-4>

GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; TADEO, J. L. **Determination of azoles in sewage sludge from Spanish wastewater treatment plants by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** *Journal of separation science*, v. 34, n. 11, p. 1228-1235, 2011. <https://doi.org/10.1002/jssc.201000814>

GONÇALVES C.; ALPENDURADA M.F. **Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography–mass spectrometry.** *Talanta* 65 p. 1179–1189, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.057>

GUPTA, S.; WALI, A.; GUPTA, M.; ANNEPU S. K. **Fungi: An Effective Tool for Bioremediation.** In: *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Springer, Singapore, p. 593-606, 2017.

HENDRIKS, C. M. J.; STOOORVOGEL, J. J.; LUTZ, F.; CLAESSENS, L. **When can legacy soil data be used, and when should new data be collected instead?** *Geoderma*, v. 348, p. 181-188, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.04.026>

HLADIK M.L.; MCWAYNE M. M. **Methods of Analysis—Determination of Pesticides in Sediment Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry.** *Techniques and Methods 5–C3*. USGS, 2012.

INGELMO, F.; MOLINA, M. J.; SORIANO, M. D.; GALLARDO, A.; LAPEÑA, L. **Influence of organic matter transformations on the bioavailability of heavy metals in a sludge based compost.** *Journal of Environmental management*. v.95, p. s104-109, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.04.015>

JAISWAL, S.; SINGH, D. K.; SHUKLA, P. **Gene editing and systems biology tools for pesticide bioremediation: A review.** *Frontiers in microbiology*, v. 10, 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.00087

KACPRZAK, M.; NECZAJ, E.; FIJALKOWSKI, K.; GROBELAK, A.; GROSSER, A.; WORWAG, M.; RORAT, A.; BRATTEBO, H. ALMAS, A.; SINGH, B. R. **Sewage sludge disposal strategies for sustainable development.** *Environmental research*, v. 156, p. 39-46, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.010>

KANG, D.; ZHANG, H.; CHEN Y., WANG, F.; SHI, L.; HU, D.; ZHANG, K. **Simultaneous determination of difenoconazole, trifloxystrobin and its metabolite trifloxystrobin acid residues in watermelon under field conditions by GC–MS/MS.** *Biomedical Chromatography*. 2017. <https://doi.org/10.1002/bmc.3987>

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos para análise.** São Carlos, RiMa, 2004.

LI, J.; DONG, F.; CHENG, Y.; LIU, X.; XU, J. LI, Y.; CHEN, X.; KONG, Z.; ZHENG, Y. **Simultaneous enantioselective determination of triazole fungicide difenoconazole and its main chiral metabolite in vegetables and soil by normal-phase high-performance liquid chromatography.** Analytical and bioanalytical chemistry, v. 404, n. 6-7, p. 2017-2031, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6240-z>

MAQBOOL, Z.; HUSSAIN, S.; IMRAN, M.; MAHMOOD, F.; SHAHZAD, T.; AHMED, Z. **Perspectives of using fungi as bioresource for bioremediation of pesticides in the environment: a critical review.** Environmental Science and Pollution Research, v. 23, n. 17, p. 16904-16925, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7003-8>

MEIS J.F.; CHOWDHARY A.; RHODES J.L.; FISHER M.C.; VERWEIJ P.E. **Clinical implications of globally emerging azole resistance in *Aspergillus fumigatus*.** Phil. Trans. R. Soc. B 371, 2016. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2015.0460>

MÓNICA, P.; DARWIN, R. O.; MANJUNATHA, B.; ZUÑIGA, J. J.; DIEGO, R.; BRYAN, R. B.; MULLA, S.I.; MADELLA, N. R. **Evaluation of various pesticides-degrading pure bacterial cultures isolated from pesticide-contaminated soils in Ecuador.** African Journal of Biotechnology, v. 15, n. 40, p. 2224-2233, 2016. <http://dx.doi.org/10.5897/AJB2016.15418>

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. **Dinâmica da matéria orgânica e da biomassa microbiana em solo submetido a diferentes sistemas de manejo na Amazônia ocidental.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.39, n.11, p. 1003-1110, 2004.

PRASAD, R.; SHAH, A. H.; RAWAL, M. K. **Antifungals: Mechanism of Action and Drug Resistance.** Yeast Membrane Transport, Springer, p. 327–349, 2016. doi:10.1007/978-3-319-25304-6_14

REY, F.; BIFULCO, C.; BISCHETTI, G. B.; BOURRIER, F.; DE CESARE, G., FLORINETH, F.; GRAF, F.; MARDEN, M.; MICKOVSKI B.; PHILLIPS, C.; PEKLO, K.; POESEN, J.; POLSTER, D.; PRETI, F.; RAUCH, H.P.; RAYMOND, P.; SANGALLI, P.; TARDIO, G.; STOKES, A. **Soil and water bioengineering: Practice and research needs for reconciling natural hazard control and ecological restoration.** Science of the total environment, v. 648, p. 1210-1218, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.217>

SANCHES FILHO, P. J.; MESQUITA, G. O. **Determinação de hidrocarbonetos em sedimentos de canais de drenagem pluvial Pelotas/RS.** Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, v.9, n.3, p.38-49, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.003.0004>

SHAHINASI, E.; BRAHUSHI, F.; DEVOLLI, A.; KODRA, M. **The ecotoxicology of pesticides group of triazole and their use to control apple scab (*Venturiaina equalis*).** Journal of Hygienic Engineering and Design, v. 18, p. 36-42, 2017.

SHALABY, A. R., EMAM, W. H.; ANWAR, M. M. **Mini-column assay for rapid detection of malachite green in fish.** Foodchemistry, 226, p. 8-13, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.045>

SHI, Y. H.; XIAO, J. J.; FENG, R. P.; LIU, Y. Y.; LIAO, M.; WU, X. W.; HUA, R.; CAO, H. **Factors affecting the bioaccessibility and intestinal transport of difenoconazole, hexaconazole, and spirodiclofen in human caco-2 cells following in vitro digestion.** Journal of agricultural and food chemistry, v. 65, n. 41, p. 9139-9146, 2017.

SPINA, F.; CECCHI, G.; LANDINEZ-TORRES, A.; PECORARO, L.; RUSSO, F.; WU, B.; CAI, L.; LIU, X. Z.; TOSI, S.; VARESE, G. C.; ZOTTI, M.; PERSIANI, A. M. **Fungi as a toolbox for sustainable bioremediation of pesticides in soil and water.** Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, v. 152, n. 3, p. 474-488, 2018. <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1445130>

STORCK, V.; NIKOLAKI, S.; PERRUCHON, C.; PERTILE, G.; BAGUELIN, C.; KARAS, P.; SPOR, A.; DEVERS, M.; PAPADOPOULOU, E.; SIBOURG, O.; MALANDAIN, C. **Lab to field assessment of the ecotoxicological impact of chlorpyrifos, isoproturon or tebuconazole on the diversity and composition of the soil bacterial community.** Frontiers in microbiology, 9, p.1412, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01412>

SZPYRKA, E.; WALORCZYK, S. **Dissipation of difenoconazole in apples used for production of baby food.** Journal of environmental science and health, part b, vol. 0, no. 0, p. 1–7, 2016. <https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1248141>

TEDESCO, M. J.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análises de solo, plantas e outros materiais.** Porto Alegre:

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.174, 1995.

TWOHIG, M.; AUBIN, A.; O'LEARY, M.; DEPHILLIPO, M.; PERINE S.C.; STUBBS, D. R. **Enantiomeric and Diastereomeric Resolutions of Chiral Pesticides by ACQUITY UPC² with UV Detection**. Waters Corporation, 2013

US EPA method 3550C. US Government Printing Office, Washington, USA, 2000, available at:
<http://www.epa.gov/sw-846/pdfs/3550c.p>.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. **A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography**. Journal of Chromatography A, V. 11, P. 463-471, 1963.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X) (01) 80947-X

VON MÜHLEN, C. **Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente**. Sci Chromatogr, v. 1, n. 3, p. 21-8, 2009.

ZEHRA, A.; DUBEY, M. K.; MEENA, M.; AAMIR, M.; PATEL, C. B.; UPADHYAY, R.S. **Role of Penicillium Species in Bioremediation Processes. In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering**. In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering, Elsevier, p. 247-260, 2018.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63501-3.00014-4>

ZHANG, Q.; ZHOU, L.; YANG, Y.; HUA, X.; SHI, H.; WANG, M. **Study on the stereoselective degradation of three triazole fungicides in sediment**. Ecotoxicology and environmental safety, v. 117, p. 1-6, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.03.014>

ZHANG, Z.; JIANG, W.; JIAN, Q.; SONG, W.; ZHENG, Z., WANG, D.; LIU, X. **Residues and dissipation kinetics of triazole fungicides difenoconazole and propiconazole in wheat and soil in Chinese fields**. Food chemistry, v. 168, p. 396-403, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.087>

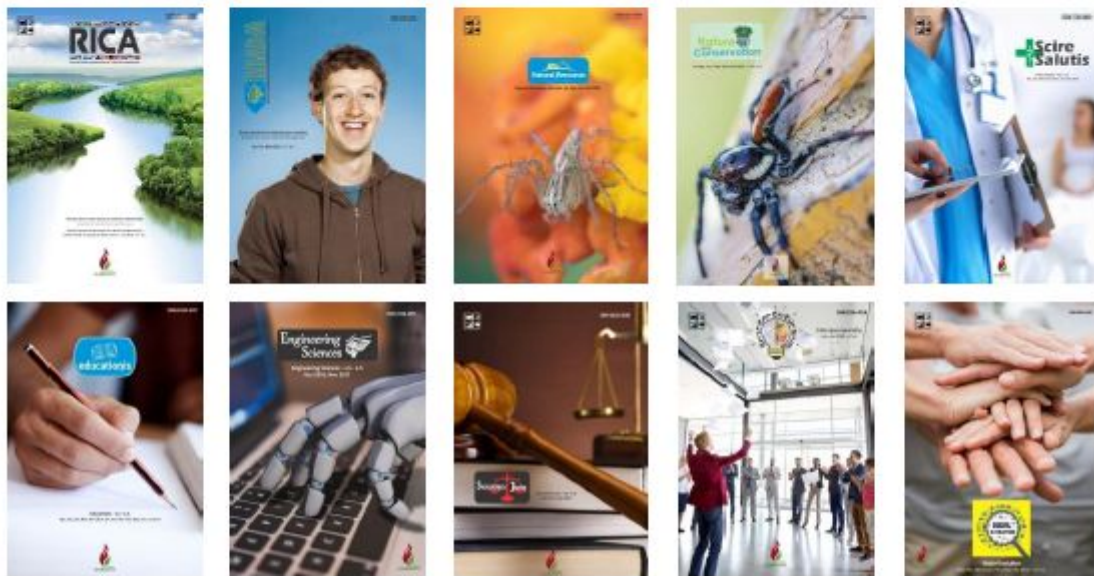
ZHAO, F.; LIU, J.; HAN, B.; LUO, J. **Investigation and Validation of Detection of Storage Stability of Difenconazole Residue in Mango**. Journal of Food Quality Volume 2019, Article ID 5641643, 8 pages, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5641643>

ZHEN, M.; SONG, B.; LIU, X.; CHANDANKERE, R.; TANG, J. **Biochar-mediated regulation of greenhouse gas emission and toxicity reduction in bioremediation of organophosphorus pesticide-contaminated soils**. Chinese journal of chemical engineering, v. 26, n. 12, p. 2592-2600, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2018.01.028>

ANEXO 2 - Normas do periódico



Portal de Periódicos da Sustenere Publishing
 Rua Aloísio Braga, 181, SL 402 - Bairro Suíça - CEP 49050-050 - Aracaju - SE - Brasil
 E-mail: contato@sustenere.co Site Oficial: www.sustenere.co
 CNPJ: 11.221.422/0001-03



NORMAS DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Por Carlos Eduardo Silva (Editor-Chefe)
 Norma atualizada em 20 de maio de 2019

1. APRESENTAÇÃO

As publicações: Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, Revista Brasileira de Administração Científica, Natural Resources, Nature and Conservation, Scire Salutis, Educationis, Engineering Sciences, Scientiam Juris, Entrepreneurship, e Social Evolution fazem parte do Portal de Periódicos da Sustenere Publishing, um selo editorial da CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica.

Nossas revistas são publicações científicas internacionais, com periodicidade semestral em língua portuguesa, espanhola ou inglesa (com informações complementares em línguas estrangeiras) e tem por objetivo promover discussões, disseminar ideias e divulgar resultados de pesquisas (com enfoques locais, nacionais e internacionais) relacionados às suas áreas temáticas. As publicações atendem ao seguinte calendário:

| JAN | FEV | MAR | ABR | MAI | JUN | JUL | AGO | SET | OUT | NOV | DEZ |
|---------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|
| RICA n1 | RBADM n1 | RICA n2 | RBADM n2 | RICA n3 | RBADM n3 | RICA n4 | RBADM n4 | RICA n5 | RBADM n5 | RICA n6 | RBADM n6 |
| Scire Salutis n1 | Natural Resources n1 | Engineering Sciences n1 | Nature and Conservation n1 | Scire Salutis n2 | Natural Resources n2 | Engineering Sciences n2 | Nature and Conservation n2 | Scire Salutis n3 | Natural Resources n3 | Engineering Sciences n3 | Nature and Conservation n3 |
| Entrepreneurship n1 | Educationis n1 | Scientiam Juris n1 | Social Evolution n1 | | | Entrepreneurship n2 | Educationis n2 | Scientiam Juris n2 | Social Evolution n2 | | |

Recebemos trabalhos de caráter científico, filosófico e/ou técnico nas seções artigos (originais ou de revisão), e notas científicas (estudos de caso), tendo como principal público-alvo estudantes, professores e pesquisadores em geral que atuem nas áreas relacionadas aos eixos temáticos dos periódicos.

2. DIREITOS AUTORAIS

A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) deterá os direitos materiais dos trabalhos publicados. Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas sob coordenação da Sustenere Publishing, da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.

3. TAXAS E COBRANÇAS

Não emitimos carta de aceite, a tela do sistema impressa em PDF é o documento de aceite. Não emitimos nota fiscal de qualquer tipo, para pessoas físicas ou jurídicas. Emitimos apenas recibo em nome de pessoa física, tendo em vistas que nossos únicos autores possíveis são AUTORES, e pessoas jurídicas não podem figurar como autores. O pagamento das taxas só é realizado no ato de aprovação, e o depósito deverá ser feito integralmente em 72 horas no Banco do Brasil, ou para residentes no exterior através do PayPal.

3.1. Registro Internacional no DOI (Obrigatória)



Diversos investimentos em tecnologia foram realizados para garantir que todas as publicações da CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica tivessem registro e credibilidade internacional. Foi estabelecida uma parceria com o *Publishers International Linking Association (PILA)* e com o *CrossRef*, instituições norte-americanas responsáveis pela atribuição do *Digital Object Identifier (DOI)*. O DOI é reconhecido pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) através da Plataforma Lattes como prova de publicação, e ainda liga o currículo do pesquisador ao arquivo da publicação.


Nossas publicações continuam tendo acesso aberto e gratuito, bem como submissão gratuita, aderindo aos diversos pactos globais de acesso livre ao conhecimento. No entanto, para garantir continuidade das melhorias e eficácia do registro internacional de todos os artigos, será cobrada uma taxa de registro internacional dos ARTIGOS APROVADOS, no valor de **R\$500,00** para o periódico *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*; de **R\$300,00** para o periódico *Revista Brasileira de Administração Científica*; de **R\$150,00** para os periódicos *Natural Resources*, *Nature and Conservation*, *Scire Salutis*; de **R\$100,00** para o periódico *Educationis*; de **R\$50,00** para os periódicos *Engineering Sciences*, *Scientiam Juris*, *Entrepreneurship*, e *Social Evolution*, valores vigentes para o ano de 2019. Os artigos reprovados não pagam taxas, pelo fato de que não serão registrados ou ocuparem espaço em nossos servidores. Os valores podem ser alterados no ano vigente se houver alteração de QUALIS pela CAPES/MEC.


3.2. Tradução e Revisão de Idioma (Optativa)


É facultada aos autores a oportunidade de traduzir os artigos aprovados e publicados. O processo dar-se da seguinte maneira: (a) o trabalho é avaliado em língua portuguesa ou espanhola; (b) se aprovado, o mesmo será publicado na edição seguinte; (c) depois de publicado originalmente, o (s) autor (es) serão convidados a pagar a taxa de tradução para a língua inglesa, em valor a ser combinado a depender da quantidade de laudas do arquivo final formatado; (d) o artigo traduzido para o inglês é automaticamente publicado em nova edição, não necessariamente na mesma da publicação original, mediante pagamento de taxa de aprovação, independentemente do valor de tradução, referente à revista escolhida. Os autores de edições anteriores, que por ventura não tenham sido convidados ao processo de tradução, favor entrar em contato pelo contato@sustenere.co.

4. EIXOS TEMÁTICOS / QUALIS

| PERIÓDICO | ÁREA CAPES | EIXO TEMÁTICO | QUALIS |
|--|---|--|---------|
|  <p>RICA REVISTA INTERDISCIPLINAR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS</p> <p>ISSN 2179-6858</p> <p>Taxa de Publicação: R\$500</p> | Interdisciplinar | - Interdisciplinar. | B3 |
| | Ciências Agrárias I | - Ciências do Solo; - Ciências Florestais; - Engenharia Agrícola; - Experimentação Agrícola; - Extensão e Desenvolvimento Rural; - Melhoramento e Recursos Genéticos; - Proteção de Plantas e Fitotecnia; - Agroecologia; - Microbiologia Agrícola e Ambiental; - Botânica Agrícola; - Química Agrícola e Ambiental. | B5 |
| | Biodiversidade | - Fundamentos de Biodiversidade; - Organização da Biodiversidade; - Conservação da Biodiversidade; - Uso Sustentável da Biodiversidade. | C |
| | Saúde Coletiva | - Epidemiologia e Saúde Ambiental. | --- |
| | Geociências | - Meteorologia, Climatologia e Mudanças Climáticas; - Geodésia, Cartografia e Sensoriamento Remoto; - Geofísica Global e Aplicada; - Oceanografia Física, Química, Geológica, Biológica. | --- |
| | Engenharias I | - Construções e Arquitetura Sustentáveis; - Engenharia Geotécnica; - Engenharia de Recursos Hídricos; - Engenharia Sanitária; - Engenharia Ambiental; - Sustentabilidade nos Transportes; - Engenharia Urbana. | B3 |
| | Engenharias II | - Engenharia Química; - Engenharia Nuclear; - Engenharia de Materiais; - Engenharia Metalúrgica; - Engenharia de Minas. | B4 |
| | Engenharias III | - Sistemas de Energia Sustentável - Engenharia de Petróleo e Gás; - Logística Reversa; - Engenharia da Sustentabilidade e Meio Ambiente; - Inovação Tecnológica. | B4 |
| | Biotecnologia | - Biotecnologia. | B5 |
| | Ciências Ambientais | - Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente; - Uso de Recursos Naturais; - Planejamento, Gestão e Políticas Públicas Ambientais; - Tecnologia, Modelagem e Geoprocessamento. | B1 |
| | Ensino / Educação | - Educação Ambiental; - Ensinos Multidisciplinares; - Ensino Superior, Pesquisa e Extensão. | B3 / B4 |
| | Geografia | - Geografia Urbana; - Geografia Agrária; - Geografia Regional; - Geografia Política; - Geomorfologia; - Hidrogeografia; - Biogeografia. | B4 |
| | Administração Pública e de Empresas, Ciências Contábeis e Turismo | - Administração Pública Ambiental; - Responsabilidade Socioambiental Corporativa; - Sistemas de Gestão Ambiental; - Contabilidade Ambiental; - Ecoturismo. | B4 |
| | Direito | - Legislação e Direito Ambiental. | B4 |
| Economia | - Valoração e Economia Ambiental. | B5 | |
| Planejamento Urbano e Regional, e Demografia | - Planejamento Urbano; - Planejamento Regional; - Demografia. | B2 | |
|  <p>RBADM REVISTA BRASILEIRA DE ADMINISTRAÇÃO</p> <p>ISSN 2179-684X</p> <p>Taxa de Publicação: R\$300</p> | Interdisciplinar | - Interdisciplinar. | B4 |
| | Administração Empresarial e Pública | - Teoria Geral da Administração; - Finanças Empresariais; - Marketing e Estratégias Mercadológicas; - Recursos Humanos; - Liderança e Motivação; - Planejamento, Estratégia e Competitividade; - Empreendedorismo; - Gestão Pública; | B3 |

| | | | |
|---|---|---|-------|
| | Ciência da Computação, Comunicação e Informação | - Sistemas e Tecnologia da Informação; - Sistemas de Computação; - Comunicação e Informação Organizacional. | B4/B5 |
| | Engenharias e Organizações | - Operações e Processos da Produção; - Materiais e Patrimônio; - Sistemas Logísticos - Pesquisa Operacional; - Qualidade; - Engenharia Organizacional; - Engenharia Econômica; - Engenharia do Trabalho; - Engenharia da Sustentabilidade; - Inovação Tecnológica. | B5 |
| | Ciências Contábeis | - Contabilidade Geral; - Auditoria e Perícia Contábil; - Escrituração Contábil; - Demonstrações Contábeis; - Análise de Balanço; - Contabilidade Gerencial; - Contabilidade Atuarial; - Contabilidade de Custos; - Contabilidade Fiscal e Tributária; - Contabilidade Internacional; - Contabilidade Pública; - Teorias Contábeis. | B3 |
| | Terceiro Setor, Sustentabilidade e Biodiversidade | - Responsabilidade Socioambiental Corporativa; - Gestão Ambiental e da Biodiversidade; - Terceiro Setor e Cooperativismo; - Gestão de Unidades de Conservação. | B4/C |
| | Psicologia | - Psicologia Organizacional; - Comportamento Organizacional; - Ergonomia e Condições de Trabalho. | B3 |
|  <p>Natural Resources</p> <p>ISSN 2237-9290</p> <p>Taxa de Publicação: R\$150</p> | Interdisciplinar | - Interdisciplinar. | B4 |
| | Ciência de Alimentos | - Ciência de Alimentos; - Engenharia de Alimentos; - Nutrição não Clínica; - Tecnologia de Alimentos. | — |
| | Ciências Agrárias I | - Ciência do Solo; - Ciências Florestais; - Engenharia Agrícola; - Experimentação Agrícola; - Extensão e Desenvolvimento Rural; - Melhoramento e Recursos Genéticos; - Proteção de Plantas e Fitotecnia; - Agroecologia; - Microbiologia Agrícola e Ambiental; - Botânica Agrícola e Ambiental; - Química Agrícola e Ambiental. | B5 |
| | Medicina Veterinária | - Medicina Veterinária Megafauna; - Nutrição Animal; - Medicina Veterinária de Pequenos Animais; - Veterinária (miscelâneas). | B5 |
| | Zootecnia / Recursos Pesqueiros | - Zootecnia; - Recursos Pesqueiros. | C |
| | Engenharias I | - Engenharia de Recursos Hídricos; - Engenharia Sanitária; - Engenharia Ambiental. | B4 |
| | Biotecnologia | - Biotecnologia. | B5 |
| | Ciências Ambientais | - Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente; - Uso de Recursos Naturais; - Planejamento, Gestão e Políticas Públicas Ambientais; - Tecnologia, Modelagem e Geoprocessamento. | B5 |
|  <p>Nature and Conservation</p> <p>ISSN 2318-2881</p> <p>Anteriormente denominada Revista Nordestina de Ecoturismo (De 2008 a 2012 usou ISSN 1983-8344)</p> | Biodiversidade | - Fundamentos de Biodiversidade; - Organização da Biodiversidade; - Conservação da Biodiversidade; - Uso Sustentável da Biodiversidade. | C |
| | Ciências Biológicas I | - Genética Animal; - Genética Vegetal; - Genética de Microrganismos; - Biologia Comparada; - Biologia Estrutural; - Biologia Funcional; - Toxicologia; - Biologia Molecular; - Biologia Celular; - Biologia do Desenvolvimento; - Biologia de Sistemas. | — |

| | | | | |
|--|--|---|--|-----|
| <p>Taxa de Publicação: R\$150</p> | Ciências Biológicas II | - Biofísica; - Bioquímica; - Farmacologia; - Fisiologia; - Morfologia. | --- | |
| | Ciências Biológicas III | - Microbiologia; - Imunologia; - Parasitologia. | --- | |
| | Geociências | - Meteorologia e Climatologia; - Geodésia, Cartografia e Sensoriamento Remoto; - Geofísica Global e Aplicada; - Oceanografia Física, Química, Geológica, Biológica. | B5 | |
| | Engenharias I | - Engenharia de Recursos Hídricos; - Engenharia Sanitária; - Engenharia Ambiental. | B5 | |
| | Ciências Ambientais | - Desenvolvimento, Sustentabilidade e Meio Ambiente; - Uso de Recursos Naturais; - Planejamento, Gestão e Políticas Públicas Ambientais; - Tecnologia, Modelagem e Geoprocessamento. | B4 | |
| | Educação e Ensino | - Educação Ambiental e Ensinos Multidisciplinares; - Práticas Esportivas e de Lazer; - Ensino Superior, Pesquisa e Extensão. | --- | |
| | Antropologia e Arqueologia | - Arqueologia Geral; - Antropologia Geral; - Antropologia Social; - Bioantropologia e Linguística. | --- | |
| | Geografia | - Geografia Regional; - Geomorfologia; - Climatologia; - Hidrogeografia; - Biogeografia. | --- | |
| | Comunicação e Informação | - Museologia e Patrimônio Cultural. | --- | |
| | Administração Pública e de Empresas, Ciências Contábeis e Turismo | - Ecoturismo; - Gestão de Unidades de Conservação. | --- | |
| | Direito | - Legislação e Direito Ambiental. | --- | |
| | Economia | - Valoração e Economia Ambiental. | --- | |
| | Interdisciplinar | - Interdisciplinar. | B4 | |
| | <p> ISSN 2236-9600 Taxa de Publicação: R\$150</p> | Ciências Biológicas I | - Genética Humana; - Genética Animal; - Genética Vegetal; - Genética de Microrganismos; - Biologia Comparada; - Biologia Estrutural; - Biologia Funcional; - Toxicologia; - Biologia Molecular; - Biologia Celular; - Biologia do Desenvolvimento; - Bioinformática; - Biologia de Sistemas. | --- |
| | | Ciências Biológicas II | - Biofísica; - Bioquímica; - Farmacologia; - Fisiologia; - Morfologia. | --- |
| Ciências Biológicas III | | - Microbiologia; - Imunologia; - Parasitologia. | C | |
| Educação Física | | - Fonoaudiologia; - Educação Física; - Fisioterapia; - Terapia Intensiva; - Terapia Ocupacional. | --- | |
| Enfermagem | | - Enfermagem Geral; - Enfermagem Médico-Cirúrgica; - Enfermagem Obstétrica; - Enfermagem Pediátrica; - Enfermagem Psiquiátrica; - Enfermagem em Doenças Infecciosas; - Enfermagem em Saúde Pública. | --- | |
| Farmácia | | - Controle de Fármacos e Medicamentos; - Assistência Farmacêutica; - Nanotecnologia Farmacêutica; - Análises Clínicas e Toxicológicas. | --- | |




| | | | |
|---|-----------------------------|---|----|
| | Medicina I | <ul style="list-style-type: none"> - Clínica Médica; - Fisiopatologia Médica; - Cardiologia; - Endocrinologia e Metabologia; - Nefrologia; - Oncologia e Medicina Nuclear; - Pneumologia; - Dermatologia; - Gastroenterologia e Hepatologia. | C |
| | Medicina II | <ul style="list-style-type: none"> - Infectologia; - Patologia Clínica e Laboratorial; - Pediatria e Saúde da Criança e do Adolescente; - Ginecologia e Medicina Biofetal; - Neurologia e Neurociências; - Psiquiatria e Saúde Mental; - Radiologia e Diagnóstico por Imagens; - Hematologia e Hemoterapia; - Reumatologia; - Alergologia. | B5 |
| | Medicina III | <ul style="list-style-type: none"> - Cirurgia Geral; - Especialidades Cirúrgicas; - Otorrinolaringologia; - Obstetrícia; - Oftalmologia; - Ortopedia; - Urologia; - Anestesiologia; - Cirurgia Experimental. | — |
| | Nutrição | <ul style="list-style-type: none"> - Nutrição Clínica; - Nutrição Básica e Experimental; - Ciência e Tecnologia de Alimentos Aplicada à Saúde; - Alimentação e Nutrição em Saúde Coletiva; - Ciências Humanas e Sociais em Alimentação e Nutrição; - Nutrição e Atividade Física; - Gastronomia e Saúde. | — |
| | Odontologia | <ul style="list-style-type: none"> - Clínica Odontológica; - Cirurgia Buco-Maxilo-Facial; - Ortodontia; - Odontopediatria; - Periodontia; - Endodontia; - Radiologia Odontológica; - Odontologia Social e Preventiva; - Materiais Odontológicos. | — |
| | Saúde Coletiva | <ul style="list-style-type: none"> - Epidemiologia; - Ciências Sociais e Humanas em Saúde; - Políticas, Planejamento e Gestão de Sistemas e Serviços de Saúde. | — |
| | Engenharias e Biotecnologia | <ul style="list-style-type: none"> - Engenharia Biomédica e Biomedicina; - Bioengenharia e Bioestatística; - Neuroengenharia; - Biotecnologia, Biossegurança e Bioética. | — |
|  <p>ISSN 2318-3047</p> <p>Taxa de Publicação: R\$100</p> | Interdisciplinar | <ul style="list-style-type: none"> - Interdisciplinar. | B5 |
| | Educação | <ul style="list-style-type: none"> - Bases e Teorias Educacionais; - História e Memória das Práticas Educacionais; - Filosofia e Imagem na Educação; - Políticas Públicas na Educação; - Cultura, Gênero e Subjetividade; - Gestão e Empreendedorismo no Campo Educacional; - Relações Humanas e Jurídicas no Trabalho do Educador; - Andragogia (Educação de Adultos); - Pedagogia (Educação Criança e Adolescente); - Ensino Superior, Pesquisa e Extensão; - Políticas e Normas do Ensino Fundamental e Médio; - Psicologia da Educação e Desenvolvimento. | — |
| | Ensino | <ul style="list-style-type: none"> - Formação e Qualificação do Professor; - Tecnologia, Educomunicação e Ciberultura; - Educação Ambiental Formal; - Práticas, Didática e Metodologias do Ensino; - Avaliação da Aprendizagem; - Práticas Esportivas e de Lazer; - Ensino de Ciências e Matemática; - Educação em Saúde; - Ensino de Engenharia e Tecnologias; - Ensino de Humanidades e Ciências Sociais; - Ensino de Língua Pátria ou Estrangeira; - Ensinos Multidisciplinares; - Educação Inclusiva. | — |



ISSN 2318-3055

Taxa de Publicação: R\$50

| | | |
|---|---|-----|
| Astronomia e Física | - Astronomia; - Física. | --- |
| Ciência da Computação | - Metodologia e Técnicas de Computação; - Teoria da Computação; - Análise de Algoritmos; - Complexidade da Computação; - Sistemas de Computação. | --- |
| Geociências | - Meteorologia e Climatologia; - Geodésia, Cartografia e Sensoriamento Remoto; - Geofísica Global; - Geofísica Aplicada; - Oceanografia Física; - Oceanografia Química; - Oceanografia Geológica; - Oceanografia Biológica. | --- |
| Matemática, Probabilidade e Estatística | - Matemática; - Probabilidade; - Estatística. | --- |
| Química | - Físico-Química; - Química Analítica; - Química Inorgânica; - Química Orgânica. | --- |
| Engenharias I | - Engenharia Civil; - Engenharia de Construção Civil; - Engenharia de Estruturas; - Engenharia Geotécnica; - Engenharia de Recursos Hídricos; - Engenharia Sanitária; - Engenharia Ambiental; - Engenharia de Transportes; - Engenharia Urbana. | --- |
| Engenharias II | - Engenharia Química; - Engenharia Nuclear; - Engenharia de Materiais; - Engenharia Metalúrgica; - Engenharia de Minas. | --- |
| Engenharias III | - Fenômenos de Transporte; - Ciências Térmicas; - Mecânica dos Fluidos; - Mecânica dos Sólidos; - Dinâmica; - Projeto Mecânico; - Processos de Fabricação; - Biomecânica; - Engenharia Mecatrônica e Robótica; - Engenharia da Qualidade e Metrologia; - Materiais; - Mecânica Computacional; - Acústica; - Energia; - Engenharia de Petróleo e Gás; - Engenharia Naval e Oceânica; - Engenharia Aeronáutica e Aeroespacial; - Engenharia Automotiva; - Micro e Nano Sistemas; - Engenharia de Operações e Processos da Produção e do Produto; - Logística; - Pesquisa Operacional; - Engenharia Organizacional e do Trabalho; - Engenharia Econômica; - Engenharia da Sustentabilidade e Meio Ambiente; - Inovação Tecnológica. | --- |
| Engenharias IV | - Engenharia Elétrica; - Engenharia Eletrônica e Automação; - Engenharia da Informação; - Engenharia de Computação; - Engenharia de Teleinformática; - Microeletrônica; - Telecomunicações; - Engenharia Biomédica; - Bioengenharia; - Neuroengenharia. | --- |
| Materiais | - Biomateriais; - Cerâmicos e Compósitos; - Magnéticos, Eletrônicos e Óticos; - Química dos Materiais; - Materiais Diversos; | --- |

| | | | |
|--|--|--|-----|
| | | <ul style="list-style-type: none"> - Metais e Ligas; - Nanomateriais e Nanotecnologia; - Polímeros e Plásticos; - Filmes e Superfícies. | |
| | Arquitetura, Urbanismo e Design | <ul style="list-style-type: none"> - Arquitetura e Urbanismo; - Design. | --- |
|  <p>ISSN 2318-3039</p> <p>Taxa de Publicação: R\$50</p> | Direito | <ul style="list-style-type: none"> - Direito Administrativo; - Direito Alternativo; - Direito Ambiental; - Direito Canônico; - Direito Civil e Processo Civil; - Direito do Consumidor; - Direito da Criança e do Adolescente; - Direito Constitucional; - Direito Desportivo; - Direito Econômico; - Direito Eleitoral; - Direito Empresarial ou Comercial; - Direito Financeiro ou Bancário; - Direitos Humanos; - Direito Indígena; - Direito da Informática ou Eletrônico; - Direito Internacional; - Direito Judiciário ou de Execução; - Direito Militar; - Direito Penal e Processo Penal; - Direito Processual; - Direito da Propriedade Intelectual; - Direito Registral e Notarial; - Direito Sanitário; - Direito Previdenciário; - Direito do Trabalho e Processo do Trabalho; - Direito Urbanístico; - Direito dos Valores Mobiliários; - Hermenêutica Jurídica; - Teoria Geral do Direito. | --- |
|  <p>ISSN 2595-4318</p> <p>Taxa de Publicação: R\$50</p> | Administração Empresarial e Pública | <ul style="list-style-type: none"> - Teoria Geral da Administração; - Finanças Empresariais; - Marketing e Estratégias Mercadológicas; - Recursos Humanos; - Liderança e Motivação; - Planejamento, Estratégia e Competitividade; - Empreendedorismo; - Gestão Pública. | --- |
| | Planejamento Urbano e Regional, Demografia, Economia e Turismo | <ul style="list-style-type: none"> - Planejamento Urbano; - Planejamento Regional; - Demografia; - Economia; - Gestão de Empreendimentos Turísticos; - Negócios de Mineração, Petróleo e Gás; - Agronegócios; - Negócios da Construção Civil. | --- |
| | Educação e Psicologia Organizacional | <ul style="list-style-type: none"> - Educação e Treinamento Organizacional. - Psicologia Organizacional e do Trabalho; | --- |
| | Ciência Política e Relações Internacionais | <ul style="list-style-type: none"> - Ciência Política; - Relações Internacionais; - Defesa e Estudos Estratégicos; - Políticas Públicas. | --- |
|  <p>ISSN 2595-430X</p> <p>Taxa de Publicação: R\$50</p> | Antropologia / Arqueologia | <ul style="list-style-type: none"> - Arqueologia Geral; - Antropologia Geral; - Antropologia Social; - Bioantropologia e Linguística. | --- |
| | Filosofia | <ul style="list-style-type: none"> - Metafísica; - Epistemologia; - Lógica; - Ética; - Filosofia Política; - Estética. | --- |
| | História | <ul style="list-style-type: none"> - História Política; - História das Mentalidades; - História Social; - História Econômica; - Microhistória; - História do Cotidiano; - História da Vida Privada; - História Ambiental; - História do Brasil. | --- |
| | Psicologia | <ul style="list-style-type: none"> - Intervenção Profissional; | --- |

| | | | |
|--|--------------------------|---|-----|
| | | <ul style="list-style-type: none"> - Avaliação Psicológica; - Processos Básicos e Cognição; - Análise do Comportamento; - Psicologia Clínica; - Psicanálise; - Psicologia e Saúde; - Psicobiologia; - Neurociências; - Psicologia do Desenvolvimento; - Psicologia Educacional; - Psicologia Social; - Psicologia Comunitária; - Psicologia Organizacional e do Trabalho; - História da Psicologia; - Psicologia Forense; - Psicologia Ambiental. | |
| | Sociologia | <ul style="list-style-type: none"> - Antropologia; - Sociologia; - Ciência Política. | --- |
| | Teologia | <ul style="list-style-type: none"> - Ciências da Religião Aplicada; - Ciências da Linguagem Religiosa; - Ciências Empíricas da Religião; - Epistemologia das Ciências da Religião; - História das Teologias e Religiões; - Teologia Fundamental-Sistemática; - Teologia Prática; - Tradições e Escrituras Sagradas. | --- |
| | Comunicação e Informação | <ul style="list-style-type: none"> - Comunicação; - Ciência da Informação; - Museologia. | --- |
| | Serviço Social | <ul style="list-style-type: none"> - Serviço Social; - Políticas Sociais; - Políticas Públicas; - Economia Doméstica. | --- |
| | Artes / Música | <ul style="list-style-type: none"> - Artes Cênicas; - Artes Visuais; - Música; - Dança. | --- |

5. PROCESSO DE AVALIAÇÃO DOS MANUSCRITOS

5.1. Política de Avaliação

Cada revista possui Editores e um Corpo de Avaliadores composto por cientistas e pesquisadores renomados, que exercem a função de avaliar e garantir a qualidade da publicação, emitindo pareceres sobre os trabalhos em cada seção da revista. Os trabalhos submetidos são apreciados por dois avaliadores, no Processo Pares Cegas, ou seja, com a omissão da identificação do(s) autor(es). Caso haja pareceres divergentes, o trabalho é encaminhado para um terceiro avaliador. Os pareceres são analisados e julgados pelo editor designado.

5.2. Diretrizes de Avaliação

Os trabalhos submetidos serão encaminhados aos avaliadores, uma vez que estes estejam inseridos nos eixos temáticos da revista específica e de acordo com as normas gerais do portal de periódicos. Primeiramente serão inseridos na fila de submissões, e conseqüentemente passam pela avaliação por pares cega e avaliação editorial. Caso aprovados, recebem edição de texto, composição e leitura de provas. No final do processo são designados a uma edição e volume. O processo geral de avaliação, entre submissão e resposta da avaliação dura cerca de três meses. Após avaliações, serão direcionados ao próximo volume específico, podendo ainda ser publicado nas edições posteriores, em atenção ao calendário acima apresentado.

6. NORMAS DE SUBMISSÃO

As normas de submissão são requisitos básicos para aceitação de trabalhos a serem publicados em qualquer uma das revistas da CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica. Admitem-se dois tipos de trabalhos acadêmicos: artigos ou notas científicas. Para cada um dos tipos de trabalhos admitidos os autores deveram observar requisitos de estrutura, formatação, citações e referências.

Não são aceitos autores que não tenham cadastro e currículo ativo na **Plataforma Lattes** (<http://lattes.cnpq.br>) do Conselho Nacional de Pesquisa do Brasil (CNPQ) e no **ORCID** (<https://orcid.org/>). O cadastro no Lattes é obrigatório, e no ORCID é opcional. Os pesquisadores brasileiros só poderão receber bolsas de estudo da CAPES e do CNPQ com estes cadastrados efetivados. O link para o **LATTES** deve ser inserido no campo URL, e o link para o **ORCID** deve ser inserido no campo ORCID do sistema de submissão.

6.1. ESTRUTURA

6.1.1. Seção Artigos

Na seção Artigos serão publicados artigos originais ou de revisão. Artigos originais são aqueles que apresentam temas e abordagem originais, enquanto artigos de revisão são aqueles que melhoram ou atualizam significativamente as informações de trabalhos anteriormente publicados. A estrutura do artigo, entre 10 e 20 laudas¹, deve conter os elementos pré-textuais, os textuais no formato IRMRDC (Introdução, Revisão, Metodologia, Resultados, Discussão e Conclusões) para trabalhos com resultados de campo, ou IMD_rC (Introdução, Metodologia, Discussão Teórica e Conclusões) para pesquisas de revisão teórica sem resultados de campo, e ainda os elementos pós-textuais, como segue:

- **Elementos pré-textuais:** título, subtítulo (se houver), nome e biografia dos autores (**apenas no sistema, pois na fase de submissão, devem ser excluídos do arquivo em Word ou Open Office**), resumo, palavras-chave (3 a 5), tradução para o inglês do título, subtítulo, resumo (abstract) e palavras-chave (keywords);
- **Elementos textuais (IRMRDC) para pesquisas com resultado de campo:**
 1. **I**ntrodução: contextualização histórica, fundamentação e delimitação do assunto, objetivos e justificativas;
 2. **R**evisão teórica: parte **opcional** que deverá ser concisa e clara e pode ser dividida em subseções ou capítulos;
 3. **M**etodologia (ou materiais e métodos): elaborada de forma que permita a replicabilidade da pesquisa;
 4. **R**esultados: preferencialmente usando figuras, gráficos, tabelas, quadros, claros e legíveis, para proporcionar posterior discussão e comparação com outras pesquisas;
 5. **D**iscussão: explicação ou comparação dos resultados, no mesmo trabalho ou com outras pesquisas semelhantes;
 6. **C**onclusões: opinião ou reflexão pessoal sobre o assunto, bem como proposituras de cunho científico.
- **Elementos textuais (IMD_rC) para pesquisas de revisão teórica sem resultados de campo:**
 1. **I**ntrodução: contextualização histórica, fundamentação e delimitação do assunto, objetivos e justificativas;
 2. **M**etodologia (ou materiais e métodos): elaborada de forma que permita a replicabilidade da pesquisa;
 3. **D**iscussão Teórica: explicações ou comparações resultantes da discussão teórica, dividida em subseções ou capítulos;
 - C**onclusões: opinião ou reflexão pessoal sobre o assunto, bem como proposituras de cunho científico.
- **Elementos pós-textuais:** referências (ver item 9).

O manuscrito deve ser iniciado com o **Título**, que deve ser conciso e informativo, com no máximo 15 palavras, todo em maiúsculas, negrito e centralizado. Os subtítulos incluídos no texto devem ser em maiúsculas, não numerados e alinhados à esquerda. Não deverão ser colocados os dados dos autores para preservar o sigilo da avaliação por pares cegas.

Logo após o **Título**, inserir o **Resumo**, que deve ter caráter informativo, apresentando as ideias mais importantes do trabalho, escrito em espaçamento simples, em um único parágrafo que deverá ter entre 200 e 400 palavras. Incluir, ao final, de 03 (três) até 05 (cinco) **Palavras-chave**. Na continuidade, o autor devera traduzir para a língua inglesa o **Título**, o **Resumo** e as **Palavras-chave**, nomeando a tradução para o inglês de **Abstract** e **Keywords**, respectivamente.

Nas **Referências**, as **obras/autores** devem ter sido citadas no texto do trabalho e devem obedecer as dispostas no final deste documento, que foram constituídas com base nas orientações da **ABNT**, bem como as orientações no final deste

documento. Trata-se de uma listagem dos livros, artigos e outros elementos de autores efetivamente utilizados e referenciados ao longo do artigo. Não podem existir referências sem as devidas citações, e vice-versa.

6.1.2. Seção Notas Científicas (Estudos de Caso)

Na seção Notas Científicas serão publicados relatos e estudos de caso que não se adequam à seção de artigos pelo caráter simplificado, mas que devem conter no mínimo a estrutura apresentada abaixo. A estrutura da Nota Científica no formato IRDC (Introdução, Relato, Discussão e/ou Considerações Finais, incluindo pré e pós-textuais) deverá ter até 10 laudas, e compreende:

- **Elementos pré-textuais:** título, subtítulo (se houver), nome e biografia dos autores (apenas no sistema, pois na fase de submissão, devem ser excluídos do arquivo em Word ou Open Office), resumo, palavras-chave (3 a 5), tradução para o inglês do título, subtítulo, resumo (abstract) e palavras-chave (keywords);
- **Elementos textuais (IRDC):**
 1. **I**ntrodução: contextualização histórica, fundamentação e delimitação do assunto, objetivos e justificativas;
 2. **R**elato: preferencialmente usando textos, figuras, gráficos, tabelas, quadros, claros e legíveis, para proporcionar clareza no estudo do caso;
 3. **D**iscussão: explicação ou comparação dos resultados, no mesmo trabalho ou com outras pesquisas semelhantes; **e/ou**
 4. **C**onsiderações Finais: opinião ou reflexão pessoal sobre o assunto, bem como proposituras de cunho científico.
- **Elementos pós-textuais:** referências (ver item 9).

7. FORMATAÇÃO

O manuscrito deve ser editado em Microsoft Word ou Open Office, sendo formatado em tamanho A4 (210 x 297 mm), texto na cor preta e fonte Calibri, tamanho 11 para o texto e tamanho 10 para citações longas, legendas de figuras, tabelas e referências, com ilustrações em escala cinza. Todas as margens do manuscrito (superior, inferior, esquerda e direita) devem ter 2,0 cm.

Os resumos, em qualquer uma das seções, deverão manter espaçamento simples em um único parágrafo e alinhamento justificado. Conteúdo e legendas de tabelas, quadros e figuras devem estar em Calibri, tamanho 9.

Os manuscritos deverão ter espaçamento entre linhas de 1,5, contendo espaçamento entre parágrafos, e estes, em alinhamento justificado e com recuo especial da primeira linha de 1,25. As notas de rodapé, as legendas de ilustrações e tabelas, e as citações textuais longas devem ser formatadas em espaço simples de entrelinhas.

As ilustrações que compreendem tabelas, gráficos, desenhos, mapas e fotografias, lâminas, plantas, organogramas, fluxogramas, esquemas ou outros elementos autônomos devem aparecer sempre que possível na própria folha onde está inserido o texto a que se refere.

8. CITAÇÕES

Citações são informações extraídas de outra fonte, e podem ser classificadas em: **citação direta** (quando é feita a partir de uma transcrição literal, ou seja, palavra por palavra, de trecho do texto do autor da obra consultada); **citação indireta** (quando são inseridas de forma não-literal, ou seja, ideias pertencentes ao autor ou a diversos autores); **citação de citação** (é aquela citação, direta ou indireta, de uma obra original a que não se teve acesso, mas que se teve conhecimento por citação existente em outra obra, desta vez com acesso efetivo).

8.1. Citações diretas

Na forma direta devem ser transcritas entre aspas, quando ocuparem até três linhas impressas, onde devem constar o autor, a data e opcionalmente a página, conforme o exemplo: “Sabe-se que há muito tempo o ser humano vem causando alterações na natureza e que algo urgente precisa ser feito no sentido de minimizar os efeitos provenientes dessa ação danosa” (NEIMAN, 2005).

As citações de dois ou mais autores sempre serão feitas com a indicação do sobrenome do primeiro autor seguindo por “et al.”, conforme o exemplo: Sato et al. (2005) afirmam que “a EA situa-se mais em areias movediças do que em litorais ensolarados”.

Quando a citação ultrapassar três linhas, deve ser separada com um recuo de parágrafo de 4,0 cm, em espaço simples no texto, com fonte 10, conforme o exemplo:

Severino (2002) entende que:

A argumentação, ou seja, a operação com argumentos, apresentados com objetivo de comprovar uma tese, funda-se na evidência racional e na evidência dos fatos. A evidência racional, por sua vez, justifica-se pelos princípios da lógica. Não se podem buscar fundamentos mais primitivos. A evidência é a certeza manifesta imposta pela força dos modos de atuação da própria razão.

8.2. Citação indireta

A citação indireta, denominada de conceitual, reproduz ideias da fonte consultada, sem, no entanto, transcrever o texto. Esse tipo de citação pode ser apresentado por meio de paráfrase, que se caracteriza quando alguém expressa a ideia de um dado autor ou de uma determinada fonte. A paráfrase, quando fiel à fonte, é geralmente preferível a uma longa citação textual, mas deve, porém, ser feita de forma que fique bem clara a autoria. Não se faz necessário constar o número da página, pois a paráfrase pode ser uma síntese de um pensamento inteiro.

8.3. Citação de citação

Evitar utilizar material bibliográfico não consultado diretamente, mas se imprescindível, referenciar através de “citado por”. A citação de citação deve ser indicada pelo sobrenome do autor seguido da expressão “citado por” e do sobrenome da obra consultada, em minúsculas, conforme o exemplos:

- Freire (1988, citado por SAVIANI, 2000)
- (FREIRE, 1988, citado por SAVIANI, 2000)

9. REFERÊNCIAS

Entende-se por referências bibliográficas o conjunto de elementos que permitem a identificação, no todo ou em parte, de documentos impressos ou registrados em diversos tipos de materiais. As referências bibliográficas são uma lista de fontes consultadas e citadas ao longo do corpo do trabalho, estas devem ser listadas em ordem alfabética de autor, alinhadas a esquerda, em tamanho 9, espaço simples entre linhas, e duplo entre as referências. Em nossa plataforma, e consequentemente em todos os periódicos da mesma, as referências seguem as orientações da ABNT.

ATENÇÃO: as obras que tiverem registro internacional do tipo DOI da CrossRef devem ter obrigatoriamente ao final o número de registro, como segue no exemplo abaixo:

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J.. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. *Revista Nordestina de Ecoturismo*, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008. DOI: <http://doi.org/10.6008/ESS1983-8344.2008.001.0001>

ATENÇÃO: O “et al.” só pode ser utilizado nas CITAÇÕES e não nas REFERÊNCIAS, onde deve constar obrigatoriamente o nome de todos os autores.

De forma genérica as referências devem ter os seguintes elementos: autor (quem?); título (o que?); edição; local de publicação (onde?); editora; e data de publicação da obra (quando?). Seguem orientações específicas para listagem de referências de alguns tipos mais usuais de obras consultadas:

a) periódicos (artigos de revistas científicas)

ARAÚJO, P. C.; CRUZ, J. B.; WOLF, S. M.; RIBEIRO, T. V. A. R.. Empreendedorismo e educação empreendedora: confrontação entre a teoria e a prática. *Revista de Ciência da Administração*, Florianópolis, v.8, n.15, p.45-67, 2006.

TAYRA, F.; RIBEIRO, H.. Modelos de indicadores de sustentabilidade: síntese e avaliação crítica das principais experiências. *Saúde e Sociedade*, São Paulo, v.15, n.1, p.84-95, 2006.

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J.. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. *Revista Nordestina de Ecoturismo*, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008.

b) livros

MARCONI, M. A.; LAKATOS, E. M.. *Técnicas de pesquisa: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração, análise e interpretação de dados*. 6 ed. São Paulo: Atlas, 2007.

KAPLAN, R. S.; NORTON, D. P.. *A estratégia em ação: balanced scorecard*. 26 ed. Rio de Janeiro: Elseiver, 1997.

QUIROGA, R.. *Indicadores de sostenibilidad ambiental y de desarrollo sostenible: estado del arte y perspectivas*. Santiago do Chile: CEPAL, 2001.

SEGNESTAM, L.; WINOGRAD, M.; FARROW, A.. *Desarrollo de indicadores: lecciones aprendidas de América Central*. Washington: CIAT-BM-PNUMA, 2000.

c) capítulos de livro

BOO, E.. O planejamento ecoturístico para áreas protegidas. In: LINDBERG, K.; HAWKINS, D. E.. *Ecoturismo: um guia para planejamento e gestão*. São Paulo: Senac São Paulo, 1999. p.65-80.

PEDRINI, A. G.. A educação ambiental no ecoturismo brasileiro: passado e futuro. In: SEABRA, G.. *Turismo de base local: identidade cultural e desenvolvimento regional*. João Pessoa: EDUFPB, 2007. p.30-56.

d) anais de eventos

SILVA, C. E.. Ecoturismo no Horto Florestal do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. In: ENCONTRO PARANAENSE DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL, 9. *Anais*. Guarapuava: Unicentro, 2006.

PAIVA JÚNIOR, F. G.; CORDEIRO, A. T.. Empreendedorismo e o espírito empreendedor: uma análise da evolução dos estudos na produção acadêmica brasileira. In: ENCONTRO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ADMINISTRAÇÃO, 27. *Anais*. Salvador: UFBA, 2002.

e) revistas de notícias

NILIPOUR, A. H.; BUTCHER, G. D.. Manejo de broilers: las primeras 24 horas. *Industria Avícola*, Mount Morris, v.46, n.11, p.34-37, nov. 1999.

f) teses, dissertações e monografias

CARVALHO, F.. **Práticas de planejamento estratégico e sua aplicação em organizações do terceiro setor**. Dissertação (Mestrado em Administração) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BETTIOL JÚNIOR, A.. **Formação e destinação do resultado em entidades do terceiro setor: um estudo de caso**. Tese (Doutorado em Ciências Contábeis) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

g) leis ou normas jurídicas

BRASIL. **Lei n.11428 de 22 de dezembro de 2006**. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. Brasília: DOU, 2006.

SERGIPE. **Decreto n.13713 de 14 de junho de 1993**. Institui a criação da Área de Proteção Ambiental Morro do Urubu. Aracaju: DOE, 1993.

h) documentos governamentais ou empresariais

BRASIL. **Diretrizes e prioridades do plano de ação para implementação da Política Nacional da Biodiversidade**. Brasília: MMA, 2006.

PETROBRAS. **Indicadores de desenvolvimento sustentável: campos de petróleo e gás 2008**. Rio de Janeiro: CENPES, 2009.

MMA; MEC. **Coletivos jovens de meio ambiente: manual orientador**. Brasília: Dreams, 2005.

OBSERVAÇÃO RELEVANTE: a CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica, através de seus selos editoriais, não é contrária a utilização de materiais coletados na internet, inclusive a maioria de nossos trabalhos são divulgados e publicados neste meio. No entanto para referenciar estes materiais, os autores deverão utilizar um dos itens anteriores, se não for possível fazer referência nas formas acima citadas, a mesma não será válida.

É proibida a utilização dos itens “Disponível em: <http://site.com>” e “Acessado em: DD/MM/AAAA”, conforme exemplo abaixo:

MMA; MEC. **Coletivos jovens de meio ambiente: manual orientador**. Brasília: Dreams, 2005. Disponível em: <http://site.com>. Acessado em: DD/MM/AAAA.