



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LUCIANE EFFTING

**DESENVOLVIMENTO DE MICROSSISTEMAS DE PRÉ-
CONCENTRAÇÃO BASEADOS EM SOLVENTE
SUPRAMOLECULAR PARA DETERMINAÇÃO DE
PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E FARINHAS DE
CEREAIS POR HPLC-DAD**

Londrina
2024

LUCIANE EFFTING

**DESENVOLVIMENTO DE MICROSSISTEMAS DE PRÉ-
CONCENTRAÇÃO BASEADOS EM SOLVENTE
SUPRAMOLECULAR PARA DETERMINAÇÃO DE
PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E FARINHAS DE
CEREAIS POR HPLC-DAD**

Tese de doutorado apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química.

Acadêmica: Me. Luciane Effting

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira
Tarley

Londrina

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Effting, Luciane.

Desenvolvimento de microssistemas de pré-concentração baseados em solvente supramolecular para determinação de pesticidas em amostras de água e farinhas de cereais por HPLC-DAD / Luciane Effting. - Londrina, 2024. 155 f. : il.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Pesticidas - Tese. 2. Microextração - Tese. 3. Solvente supramolecular - Tese. 4. Micelas reversas - Tese. I. Tarley, César Ricardo Teixeira. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU 54

LUCIANE EFFTING

**DESENVOLVIMENTO DE MICROSSISTEMAS DE PRÉ-
CONCENTRAÇÃO BASEADOS EM SOLVENTE
SUPRAMOLECULAR PARA DETERMINAÇÃO DE
PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E FARINHAS DE
CEREAIS POR HPLC-DAD**

Tese de doutorado apresentada à Universidade Estadual de Londrina, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado em Química, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Eduardo Carasek
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Dr. Affonso Celso Gonçalves Junior
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste

Prof^ª. Dr^ª. Maria Cristina Solci
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof^ª. Dr^ª. Maria Luiza Zeraik
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 21 de junho de 2024.

Dedico esse trabalho aos meus pais, Pedro e Teresinha Effting.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Tarley, pelos seis anos de parceria científica, ensinamentos, conversas e, principalmente, por me apresentar a área de pesquisa que eu desenvolvi todo o meu trabalho, com certeza vou levar para a vida o aprendizado sob preparo de amostra em suas aulas e no laboratório.

Ao programa de Pós-graduação em Química pela oportunidade de cursar mestrado e doutorado. A Universidade Estadual de Londrina, por ser minha segunda casa durante seis anos e fornecer educação pública de qualidade.

As demais instituições de ensino que passei, desde a Escola Municipal Plínio Tourinho, o Colégio Estadual Marechal Arthur da Costa e Silva e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, todas públicas e que oferecem educação de qualidade, foram essenciais no meu desenvolvimento acadêmico e me fizeram chegar até aqui.

A Capes, pela bolsa concedida. Ao demais órgãos de financiamento por proporcionar as condições de realização do trabalho.

A todos os professores que fizeram parte da minha formação, por todo conhecimento transmitido, ensinamentos, conversas, exemplo profissional. Em especial ao professor Postai, que no ensino médio me incentivou a seguir a Química.

Ao professor Alesandro Bail, meu primeiro orientador, que me incentivou a buscar a área acadêmica. Além de todos os conselhos científico, me acolheu em Londrina e se tornou um grande amigo, juntamente com sua esposa Cibele, a Natália e a Alice me acolheram como parte da família e, ainda me presentearam como madrinha de Crisma da Natália.

Ao grupo de pesquisa LADEMA pelas amizades e parcerias construídas nos seis anos de pesquisa. A Maiyara Prete, por me auxiliar e ensinar a operar os equipamentos. Ao Daniel Nanicuacua, pela parceria nos experimentos e uso do HPLC, amizade, conversas e discussões. Ao Felipe Gorla, pela ajuda com os softwares, conversas e discussões. Ao Edson da Silva, pela parceria discutindo resultados e as conversas. Aos colegas que passaram pelo laboratório, nos grupos de pesquisa LADEMA, GMPC e LAEEM, que sempre foram parceiros nas discussões científicas e nas conversas do dia a dia, em especial, Alexandre, Renata, Diego, Ingrid, Paula e Pedro.

Aos amigos que durante os seis anos de laboratório se tornaram pessoas essenciais, muito além da pesquisa. A Milena, minha companheira desde o início na pós-graduação, dividimos apartamento, a vida acadêmica, conversas, choros e muito risos. A Maria, com

quem eu conversava de pesquisa científica ou sobre os assuntos mais aleatórios possíveis e por todas as pontas seguradas, desde a mesa até as pontas emocionais. Junto com a Maria e Milena, agradeço a Érica, Beatriz Benuto, Caroline Santana, Livia, Francisnara, Paula, Beatriz Helena, Tulio, Caroline Teixeira, por todo o amor que a nossa amizade representa, pela parceria, conversas, almoços, jantares e dias que só a companhia deles fazia tudo ficar melhor. Vocês são o perfeito significado da música “*Quem tem um amigo tem tudo*” do Emicida, porque, como diz a música “*se o poço devorar, ele busca no fundo, é tão dez que junto todo stress é miúdo, é um ponto pra escorar quando foi absurdo*”.

A minha amiga, comadre e irmã Caroline, por ser minha conselheira e ouvinte, por estar sempre perto, mesmo que a distância física fosse grande, por todo amor que a nossa relação significa e, por confiar a mim, a missão de ser madrinha do Hector. Deixo aqui minha lembrança ao Evandro, que nos deixou em 2023, que sempre será meu compadre, a melhor companhia para ouvir um rock e tomar uma cerveja. *So close, no matter how far.*

A minha amiga Jéssica, pelas conversas acadêmicas, troca de experiências e principalmente, pelas melhores tardes de sábado em boa companhia.

A Ana e Juliana, por partilhar o nosso sonho de um doutorado desde a graduação e vibrar com as conquistas uma das outras.

A minha irmã Letícia, por ser minha parceira desde a infância, por dividir alguns gostos, como o da química e da pesquisa, dividir apartamentos e laboratórios.

Ao meu namorado, Diego, que não me deixar desistir, por incentivar, acreditar, abraçar e me escutar, por ser parceiro e por tudo o que conquistamos e principalmente, pelo que estarmos construindo juntos.

Aos meus pais, Pedro e Teresinha, a quem dedico essa tese, que desde criança me incentivaram a estudar e se fosse necessário, eles moviam o mundo para isso. Tudo isso só foi possível graças ao apoio deles, que sempre foram o lugar seguro da minha vida.

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora das Graças, por todas as vezes que eu pedi e fui atendida, pela proteção e por nunca me deixarem sozinha, mesmo nos momentos mais difíceis. *Eu vos saúdo, ó Maria, cheia de graça!*

Cada célula, todo fio de cabelo

Falando assim parece exagero

Mas se depender de mim, eu vou até o fim.

Humberto Gessinger

Resumo

EFFTING, Luciane. **Desenvolvimento de microssistemas de pré-concentração baseados em solvente supramolecular para determinação de pesticidas em amostras de água e farinhas de cereais por HPLC-DAD.** 2024. 155 f. Tese de Doutorado em Química – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

Pesticidas têm sido amplamente utilizados em lavouras nas fases de cultivo ou armazenamento pós-colheita para controlar o rendimento e melhorar a qualidade da produção. O uso desses produtos gera preocupação do ponto de vista ambiental e alimentar, devido aos danos à saúde que os pesticidas podem causar e por esse motivo, diversos órgãos analisam e estabelecem limites máximos permitidos. Esses limites estão na ordem de microgramas por litro ou quilo, o que dificulta a análise direta, levando ao emprego de métodos de extração e pré-concentração. Métodos de microextração baseados em solvente supramolecular são alternativas viáveis para pré-concentração simultânea de pesticidas em amostras de águas e de farinhas e determinação por cromatografia líquida acoplada a detecção por arranjo de fotodiodos. O primeiro método de microextração baseado em solvente supramolecular foi desenvolvido para a microextração e pré-concentração simultânea dos pesticidas acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, carbendazim, clorpirifós, imidacloprido e tebuconazol, que apresentam altas taxas de detecção em alimentos de origem vegetal, segundo o monitoramento realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). O segundo método foi desenvolvido para a microextração e pré-concentração simultânea dos pesticidas clorantraniliprole, cresoxim-metílico, procloraz, propanil e trifluralina, que são amplamente empregados com diferentes finalidades nas culturas de grãos do estado do Paraná. Em ambos os métodos, fez-se o uso de um solvente supramolecular no qual micelas reversas de 1-decanol são dispersas em soluções de tetrahidrofurano/água. O primeiro método foi otimizado empregando um planejamento fatorial 2^5 e matriz de Doehlert combinado com função de desejabilidade de Derringer-Suich e metodologia de superfície de resposta, obtendo-se como melhores condições pH 6,3 usando tampão BR (Britton-Robinson) $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $113,0 \mu\text{L}$ de 1-decanol, $500,0 \mu\text{L}$ de THF, 5% NaCl (m/v), 30 s de vórtice e 10 min de centrifugação. No desenvolvimento do método analítico, destacam-se os valores baixos obtidos como limite de quantificação, entre $9,0$ e $29,9 \mu\text{g L}^{-1}$, e os altos valores de pré-concentração, na faixa de 3,6 a 266,1 vezes, que possibilitaram a aplicação dos métodos em amostras de águas de dois lagos, um riacho e de três farinhas, onde não foi encontrado nenhum resíduo dos pesticidas. As recuperações obtidas, na faixa de 80 a 112%, permitem inferir que o método não sofre com possíveis interferências de componentes da matriz. O segundo método foi otimizado univariadamente, obtendo-se como melhores condições pH 6,0 usando tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $75,0 \mu\text{L}$ de 1-decanol, $400,0 \mu\text{L}$ de THF, 4% NaCl (m/v), 120 s de vórtice e 120 s de centrifugação. No desenvolvimento do método analítico, destacam-se os valores baixos obtidos como limite de quantificação, entre $1,3$ e $27,3 \mu\text{g L}^{-1}$, e os altos valores de pré-concentração, na faixa de 50,1 a 90,3 vezes, que possibilitaram a aplicação dos métodos em amostras de águas de dois lagos, um riacho e de três farinhas, onde não foi encontrado nenhum resíduo dos pesticidas. As recuperações obtidas, na faixa de 81 a 111%, permitem concluir que o método não sofre com interferências de componentes da matriz.

Palavras-chave: pesticidas, microextração, solvente supramolecular, micelas reversas, 1-decanol.

Abstract

EFFTING, Luciane. **Development of preconcentration microsystems based on supramolecular solvent for determination of pesticides in water and cereal flour samples by HPLC-DAD.** 2024. 155 f. Thesis of PhD in Chemistry – Center of Exact Sciences, State University of Londrina, Londrina, 2024.

Pesticides have been widely used on crops in the cultivation or post-harvest storage stages to control yield and improve the quality of production. The use of these products raises concerns from an environmental and food point of view, due to the damage to health that pesticides can cause and for this reason, several bodies analyze and establish maximum permitted limits. These limits are in the order of micrograms per liter or kilogram, which makes direct analysis difficult, leading to the use of extraction and pre-concentration methods. Supramolecular solvent microextraction methods are viable alternatives for simultaneous pre-concentration of pesticides in water and flour samples and determination by high pressure liquid chromatography with diode array detect. The first supramolecular microextraction method was developed for the unprecedented simultaneous extraction and pre-concentration of the pesticides acetamiprid, azoxystrobin, bifenthrin, carbendazim, chlorpyrifos, imidacloprid and tebuconazole, which have high detection rates according to monitoring carried out by Anvisa. The second method was developed for the unprecedented simultaneous extraction and pre-concentration of the pesticides chlorantraniliprole, cresoxim-methyl, prochloraz, propanil and trifluralin, which are used for different purposes in grain crops. In both methods, a supramolecular solvent was used in which 1-decanol reverse micelles were dispersed in tetrahydrofuran/water solutions. The first method was optimized using a 2^5 factorial design and Doehlert matrix combined with Derringer-Suich desirability function and response surface methodology, obtaining pH 6.3 as the best conditions using BR buffer 0.01 mol L^{-1} , $113.0 \text{ }\mu\text{L}$ of 1-decanol, $500.0 \text{ }\mu\text{L}$ of THF, 5% NaCl (w/v), vortex shaking for 30 s and centrifugation for 10 min. In the development of the analytical method, the low values obtained as a limit of quantification stand out, between 9.0 and $29.9 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, and the high pre-concentration values, in the range of 3.6 to 266.1 times, which made it possible to apply the methods to water samples from two lakes, a stream and three flours, where no pesticide residue was found. The recoveries obtained, in the range of 80 to 112%, allow us to infer that the method does not suffer from possible interference from matrix components. The second method was optimized univariately, obtaining pH 6.0 as the best condition using BR buffer 0.01 mol L^{-1} , $75.0 \text{ }\mu\text{L}$ of 1-decanol, $400.0 \text{ }\mu\text{L}$ of THF, 4% NaCl (m/v), vortex shaking for 120 s and centrifugation for 120 s. In the development of the analytical method, the low values obtained as a limit of quantification stand out, between 1.3 and $27.3 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, and the high pre-concentration values, in the range of 50.1 to 90.3 times, which made it possible to apply the methods to water samples from two lakes, a stream and three flours, where no pesticide residue was found. The recoveries obtained, in the range of 81 to 111%, allow us to infer that the method does not suffer from possible interference from matrix components.

Keywords: pesticides, microextraction, supramolecular solvent, reverse micelles, 1-decanol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Total de Registros de Agrotóxicos, seus Componentes e Afins -----	26
Figura 2 - Estruturas do tipo micelas ou vesículas aquosas/reversas (a) e esquema do arranjo hexagonal das moléculas anfífilas em um procedimento supramolecular (b)-----	40
Figura 3 - Fórmula estrutural dos pesticidas -----	52
Figura 4 - Processo esquemático de automontagem e coacervação durante as etapas de microextração supramolecular dos pesticidas-----	60
Figura 5 - Cromatogramas da injeção da fase rica do experimento com 10,0 mL da solução de sete pesticidas na concentração de 1000,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4,0, tampão BR 0,01 mol L^{-1} , 100,0 μL de 1-decanol, 400,0 μL de THF e 60 s de vórtice e injeção direta da solução com sete pesticidas na concentração de 1000,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4, tampão BR 0,01 mol L^{-1} . Comprimento de onda dos cromatogramas: $\lambda = 220 \text{ nm}$ -----	65
Figura 6 – Cromatograma da injeção da fase rica do experimento com 10,0 mL da solução de pesticida com a AZO 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os outros seis pesticidas 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ e pH 4,0, tampão BR 0,01 mol L^{-1} , 100,0 μL de 1-decanol, 400,0 μL de THF e 60 s de vórtice. Comprimento de onda do cromatograma: $\lambda = 220 \text{ nm}$ -----	66
Figura 7 - Diagrama de Pareto obtido a partir das desejabilidades globais dos experimentos para os sete analitos simultaneamente -----	72
Figura 8 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para pH x DEC -	80
Figura 9 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para THF x DEC	81
Figura 10 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para THF x pH	81
Figura 11 – Gráfico dos valores observados versus resíduos -----	82
Figura 12 – Gráfico dos valores observados versus valores preditos -----	83
Figura 13 – Distribuições de tamanho de gotículas de coacervado em diferentes valores de pH -----	84
Figura 14 – Efeito do tipo de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 μL de 1-decanol, 500,0 μL de THF, 30 s de agitação em vortex e 10 min de centrifugação-----	85
Figura 15 – Efeito da concentração de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 μL de 1-decanol, 500,0 μL de THF, 30 s de agitação em vórtex e 10 min de centrifugação -----	86

Figura 16 – Efeito do tipo de síntese do solvente supramolecular (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3 tampão BR 0,01 mol L ⁻¹ , 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 30 s de agitação em vortex e 10 min de centrifugação-----	87
Figura 17 – Resultado da análise AGREE para o método de microextração supramolecular desenvolvido-----	95
Figura 18 - Cromatograma obtido na aplicação do método de microextração supramolecular em amostra de farinha de trigo enriquecida conforme o LMR definido pela ANVISA de cada pesticida -----	99
Figura 19 - Fórmula estrutural dos pesticidas-----	103
Figura 20 - Esquema de extração e variáveis estudadas-----	107
Figura 21 – Cromatogramas da injeção do mix dos pesticidas em água e da fase supramolecular rica. Condições SUPRA: 10,0 mL de solução aquosa pH ajustado em 4, tampão BR 0,01 mol L ⁻¹ sem adição de sal, 100,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 2 min de agitação e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L ⁻¹ , CRE e PROC 100 µg L ⁻¹ e TRI 600 µg L ⁻¹ . Comprimento de onda dos cromatogramas: λ = 206 nm-----	110
Figura 22 – Distribuição das espécies de CLO em relação ao pH. As demais espécies de CLO são apresentadas no Apêndice E -----	111
Figura 23 – Distribuição das espécies de CRE em relação ao pH-----	112
Figura 24 – Distribuição das espécies de PROC em relação ao pH -----	112
Figura 25 – Distribuição das espécies de PROP em relação ao pH-----	113
Figura 26 – Efeito da variação do pH na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas, tampão BR 0,01 mol L ⁻¹ , ausência de sal, 100,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L ⁻¹ , CRE e PROC 100 µg L ⁻¹ e TRI 600 µg L ⁻¹ -----	114
Figura 27 - Efeito do volume de 1-decanol na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L ⁻¹ , ausência de sal, 500,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L ⁻¹ , CRE e PROC 100 µg L ⁻¹ e TRI 600 µg L ⁻¹ -----	115

Figura 28 - Efeito do volume de THF na microextração supramolecular dos pesticidas. Condições: 10 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, ausência de sal, 75,0 µL de 1-decanol, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹ ----- 116

Figura 29 - Efeito da presença de sal na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹ ----- 119

Figura 30 - Efeito do tipo de sal na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 4% de sal (m/v) e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹----- 120

Figura 31 - Efeito da concentração de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 4% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹ ----- 121

Figura 32 - Efeito do tipo de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão, 4% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹----- 122

Figura 33 – Efeito do tempo de agitação em vortex na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão BR, 4% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹ ----- 123

Figura 34 – Efeito do tempo de centrifugação na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão BR, 4,0% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF e

120 s de vortex. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e TRI 600 $\mu\text{g L}^{-1}$ -----	124
Figura 35 - Curvas analíticas do CLO com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta-----	126
Figura 36 - Curvas analíticas do CRE com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta-----	127
Figura 37 - Curvas analíticas do PROC com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta-----	127
Figura 38 - Curvas analíticas do PROP com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta-----	128
Figura 39 - Curvas analíticas do TRI com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta-----	128
Figura 40 - Resultado da análise AGREE para o método de microextração supramolecular desenvolvido-----	132
Figura 41 – Cromatograma da amostra de Rio da cidade de Medianeira – PR, fortificada no nível 2,0xLQ-----	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pesticidas, sigla, tempo de retenção em ordem crescente e comprimento de onda	59
Tabela 2 - Valores das variáveis e níveis codificados do planejamento fatorial 2^5	60
Tabela 3 - Planejamento fatorial 2^5 , com as variáveis decodificadas, codificadas (entre parênteses) e respostas obtidas (área para cada pesticida) em duplicata	68
Tabela 4 - Desejabilidade individuais (di) e desejabilidade global (Dg) dos experimentos em duplicata	71
Tabela 5 – Matriz de Doehlert para otimização das variáveis pH, 1-decanol e THF (variáveis decodificadas e codificadas) e respostas obtidas (área para cada pesticida) e a desejabilidade calculada com triplicata no ponto central	77
Tabela 6 – Tabela de ANOVA para o modelo gerado pela Matriz de Doehlert	79
Tabela 7 – Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdia, faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas e f-valores obtidas da ANOVA	89
Tabela 8 – Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação dos pesticidas com detecção por HPLC-DAD	91
Tabela 9 - Aplicação do método em amostras ambientais de águas e de farinhas e testes de adição e recuperação (n=3)	96
Tabela 10 – Pesticidas, sigla, tempo de retenção em ordem crescente e comprimento de onda	106
Tabela 11 - Variáveis experimentais avaliadas	106
Tabela 12 - Faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas e f-valores obtidas da ANOVA, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdia	125
Tabela 13 - Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação dos pesticidas com detecção por HPLC-DAD	129
Tabela 14 – Aplicação do método em amostras ambientais de águas e testes de adição e recuperação (n=3)	133

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação do pesticida, exemplo e pragas-alvo ou função-----	30
Quadro 2 - Valores de limite máximo permitidos em águas e alimentos segundo o Conama, a Anvisa, a União Europeia (EU) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) -----	51
Quadro 3 - Pesticidas analisados simultaneamente, método de extração e quantificação, tipo e origem das amostras e pesticidas detectados-----	53
Quadro 4 - Classe, grupo químico, classificação toxicológica, fórmula e peso molecular, Log Kow e pKa dos pesticidas-----	56
Quadro 5 - Características químicas, culturas de grãos permitidas, fórmula e peso molecular, Log Kow, pKa e solubilidade a 20 °C -----	102
Quadro 6 - Valores de limite máximo permitidos em águas e alimentos segundo o CONAMA, a Anvisa, União Europeia e a USEPA -----	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGREE	<i>Analytical GREENness</i> – Analítica verde
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CMC	Concentração Micelar Crítica
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPE	<i>Cloud Point Extraction</i> - Extração de Ponto de Nuvem
DAD	Detector de arranjo de diodos
DEC	1-decanol
DES	<i>Deep Eutetic Solvents</i> – solventes eutéticos profundos
DLLME	<i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i> - Microextração Líquido-Líquido Dispersiva
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i> – Espalhamento dinâmico de luz
d-SPE	<i>Dispersive Solid Phase Extraction</i> - Extração em Fase Sólida Dispersiva
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i> - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FP	Fator de pré-concentração
GAC	<i>Green Analytical Chemistry</i> - Química analítica verde
GSP	<i>Green Sample Preparation</i> – Preparo de amostras verdes
HF-LPME	<i>Hollow-Fiber Liquid Phase Microextraction</i> - Fibra Oca Microextração em Fase Líquida
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i> - Cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC-DAD	<i>High-performance liquid chromatography - Diode array Detector</i> - Cromatografia líquida de alta eficiência - detector de arranjo linear de diodos
HS-SDME	<i>Headspace Single-Drop Microextraction</i> - Microextração de Gota Única
Ibama	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL	<i>Ionic Liquids</i> – Líquidos iônicos
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> – União Internacional de Química Pura e Aplicada
K_{ow}	Coefficiente de Partição n-Octanol-Água
LD	Limite de detecção
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i> – Extração Líquido-Líquido
LMR	Limites Máximo Residual
LPME	<i>Liquid Phase Microextraction</i> - microextração em fase líquida
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MIPs	<i>Molecularly Imprinted Polymers</i> – Polímeros com impressão molecular
MOFs	<i>Metal Organic Frameworks</i> – estruturas metal-orgânicas
MSPE	<i>Magnetic Solid Phase Extraction</i> - Extração em Fase Sólida Magnética
MWCNT	<i>Multi-Walled Carbon Nanotube</i> – Nanotubo de carbono de paredes

	múltiplas
NaCl	Cloreto de Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PIB	Produto Interno Bruto
PPDB	<i>Pesticide Properties DataBase</i> - Banco de dados de propriedades de pesticidas
PPPs	Produtos para Proteção de Plantas
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i> – Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto e Seguro
SDME	<i>Single Drop Microextraction</i> - Microextração de Gota Única
SLE	<i>Solid-Liquid Extraction</i> – Extração Sólido-Líquido
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> – Extração em Fase Sólida
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i> - Microextração em Fase Sólida
SUPRAs	Solventes Supramoleculares
S _w	Solubilidade em Água
THF	Tetraidrofurano
UE	União Europeia
UPLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i> – Cromatografia Líquida de Ultra-Alto Desempenho
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
VP	Pressão de Vapor

Pesticidas analisados no Capítulo I

ACE	Acetamiprido
AZO	Azoxistrobina
BIF	Bifentrina
CAR	Carbendazim
CLO	Clorpirifós
IMI	Imidacloprido
TEB	Tebuconazol

Pesticidas analisados no Capítulo II

CLO	Clorantraniliprole
CRE	Cresoxim-Metílico
PROC	Procloraz
PROP	Propanil
TRI	Trifluralina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	HISTÓRICO, CONSUMO E LEGISLAÇÃO DOS PESTICIDAS	25
2.2	CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES DOS PESTICIDAS	27
2.3	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS	32
2.4	SOLVENTES SUPRAMOLECULARES	38
2.5	OTIMIZAÇÃO UNI E MULTIVARIADA	43
2.6	QUÍMICA ANALÍTICA VERDE	46
	CAPÍTULO I: DESENVOLVIMENTO DE MICROSSISTEMA DE PRÉ- CONCENTRAÇÃO BASEADO EM SOLVENTE SUPRAMOLECULAR PARA DETERMINAÇÃO DE SETE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E FARINHAS DE CEREAIS POR HPLC-DAD	50
3	INTRODUÇÃO	50
4	OBJETIVOS	56
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	56
5	METODOLOGIA	56
5.1	REAGENTES E PREPARO DAS SOLUÇÕES	56
5.2	INSTRUMENTAÇÃO	57
5.3	DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA	57
5.4	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR	57
5.5	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR	59
5.6	AVALIAÇÃO DO TAMPÃO	61
5.7	AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE EXTRATOR E DISPERSOR	61
5.8	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS	61
5.9	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS	62
5.10	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS	62
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
6.1	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR	64
6.2	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR	66
6.2.1	Planejamento fatorial para triagem das variáveis	66
6.2.2	Otimização final usando design de Doehlert	75
6.2.3	Influência do Tampão	83
6.2.4	Avaliação da Adição de Extrator e Dispersor	85
6.3	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO	86
6.4	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E ALIMENTÍCIAS	95
7	CONCLUSÃO	99
	CAPÍTULO II: Desenvolvimento de microssistema de pré-concentração baseado em solvente supramolecular para determinação de cinco pesticidas em amostras de água e farinhas de cereais por HPLC-DAD	100
8	INTRODUÇÃO	100
9	OBJETIVOS	103
9.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	103
10	METODOLOGIA	103
10.1	REAGENTES E PREPARO DAS SOLUÇÕES	103
10.2	INSTRUMENTAÇÃO	104
10.3	DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA	104
10.4	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR	105
10.5	ESTUDO DAS MELHORES CONDIÇÕES DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR	105

10.6	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS	106
10.7	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS	107
10.8	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS	108
11	RESULTADOS E DISCUSSÃO	109
11.1	MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS PESTICIDAS	109
11.2	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR	110
11.2.1	pH	110
11.2.2	1-Decanol	113
11.2.3	THF	115
11.2.4	Sal	117
11.2.5	Efeito do Tampão	119
11.2.6	Tempo de Vortex	121
11.2.7	Tempo de Centrifugação	122
11.3	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS	123
11.4	APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E ALIMENTÍCIAS	131
12	CONCLUSÃO	134
13	REFERENCIAS	135
	APÊNDICE A – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE CAR	150
	APÊNDICE B – CURVAS ANALÍTICAS DOS SETE PESTICIDAS SEM	
	PRÉ-CONCENTRAÇÃO E COM A ETAPA DE PRÉ-	
	CONCENTRAÇÃO USANDO 10,0 E 40,0 mL DE SOLUÇÃO AQUOSA	
	DOS PESTICIDAS	151
	APÊNDICE C – VALOR DE F TABELADO	154
	APÊNDICE D – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE CLO EM	
	RELAÇÃO AO PH	155
	APÊNDICE E – VALOR DE F TABELADO	155

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a agricultura é o setor que mais contribui para o crescimento do produto interno bruto (PIB), respondendo por 21% da soma de todas as riquezas produzidas e, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). A cultura da soja apresenta o maior valor comercial de produção enquanto a cana-de-açúcar é produzida em maior quantidade (IBGE, 2024).

Quanto aos grãos, os principais cereais produzidos no Brasil são o milho, o trigo, a aveia e a cevada. Em 2024, segundo o IBGE, a produção de trigo (em grão) deve alcançar 9,6 milhões de toneladas, da aveia (em grão) foi estimada em 1,2 milhão de toneladas e a produção do arroz foi estimada em 10,4 milhões de toneladas (IBGE, 2024).

A fim de manter os níveis elevados de produtividade, o uso de produtos de origem biológica ou química para controlar pragas e plantas daninhas e melhorar a produção de alimentos se faz cada vez mais necessário. Esses produtos são conhecidos como pesticidas, e contém compostos químicos que podem matar, obstruir ou controlar o crescimento de qualquer organismo que danifique uma plantação (Parra-Arroyo et al., 2022).

Os pesticidas não afetam apenas os organismos-alvo, mas todo o ambiente, incluindo a atmosfera, solo, águas subterrâneas e águas superficiais por processos de fluxo, lixiviação e pulverização, contaminando todo o ecossistema (Souza et al., 2020). De acordo com a FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês, *Food and Agriculture Organization*), em uma média histórica desde 1990, o Brasil é segundo maior consumidor de pesticidas, com um consumo total estimado em 295.225,97 toneladas, atrás apenas dos Estados Unidos (FAO, 2024).

A quantidade máxima de resíduo de pesticida oficialmente aceita em um alimento em decorrência da aplicação adequada do pesticida é chamada de limites máximo residual (LMR), ou seja, é o limite tolerável de resíduo que pode permanecer no alimento, tendo como referência boas práticas agrícolas aplicadas no campo. O LMR é expresso em miligrama de resíduo por quilograma de alimento. No Brasil, esses limites são definidos pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que disponibiliza em seu site, as monografias dos produtos autorizados e excluídos para consulta (Anvisa, 2019).

O Ministério da Saúde do governo brasileiro é responsável pelas resoluções que regem águas potáveis para o consumo humano, sendo a mais recente a Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021 (Brasil, 2021). Para águas que podem ser utilizadas para recreação, pesca, irrigação de hortaliças e abastecimento para consumo humano após tratamento convencional

ou avançado, o órgão responsável pela resolução é o CONAMA, com a Resolução CONAMA N° 430 de 2011 (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (CONAMA, 2011).

O monitoramento dos LMR de pesticidas em amostras de águas e alimentos, em sua maioria é feito por técnicas cromatográficas, como cromatografia a gás e cromatografia líquida, devido a capacidade de separação e identificação inerentes a essas técnicas. Além dessas, outros métodos como o ensaio imunoenzimático (ELISA - *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) e a eletroforese capilar e eletroanalíticas têm sido utilizados na determinação de resíduos de pesticidas em amostras reais (Narendran et al., 2020).

Apesar das características dessas técnicas, quantificar pesticidas em amostras reais, como alimentícias, ambientais ou até mesmo biológicas, representam um desafio devido à presença de interferentes da matriz e principalmente, a baixa quantidade que são encontrados, motivo pelo qual a quantificação direta desses pesticidas é inviabilizada em grande parte das amostras reais. Para melhorar a sensibilidade analítica e compatibilizar a injeção das amostras com a técnica cromatográfica, faz-se necessário uma etapa de preparo da amostra. Idealmente, esse preparo da amostra deve ser fácil, prático e rápido, economizando tempo, reagentes e reduzindo a possibilidade de contaminação (Nasiri et al., 2020).

Pensando nessas características, os métodos analíticos devem ser capazes de monitorar o resíduo de pesticidas em diferentes amostras em um nível baixo (micrograma ou nanograma por quilo ou litro) com exatidão e precisão aceitáveis. Assim, novas abordagens de preparo de amostras ainda buscam por limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) abaixo dos relatados e, para atingir esse nível, altos fatores de pré-concentração contribuem significativamente (Jagirani et al., 2021).

Várias abordagens de preparação de amostras são relatadas para a separação e pré-concentração de analitos, baseadas majoritariamente em duas diferentes estratégias: extração em fase sólida (SPE) e extração por solvente (extração líquido-líquido, LLE e extração sólido-líquido, SLE) (Rubio, 2020).

A extração em fase sólida é capaz de reter analitos com base em diferentes mecanismos de interação, enquanto a extração líquido-líquido é amplamente utilizada devido à sua simplicidade. No entanto, a extração líquido-líquido usa grandes volumes de solventes orgânicos convencionais e extrações repetitivas para obter rendimentos aceitáveis apresentando preocupações ambientais e de saúde aos operadores. A extração em fase sólida envolve várias etapas (condicionamento, sorção, lavagem, eluição e evaporação), o que torna o processo laborioso, aumentando a possibilidade de erros (Nasiri et al., 2020).

Um dos métodos mais usados para preparação de amostras de alimentos é o QuEChERS (acrônimo de rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro - do inglês, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), que envolve o uso de solventes orgânicos, acetato de etila, acetonitrila ou acetona para extrair o pesticida da amostra sólida, seguida por extração líquido-sólido. O processo de extração na maioria dos casos, resulta baixo fator de pré-concentração e, conseqüentemente, baixa sensibilidade (Prestes et al., 2009).

Esforços recentes têm sido dedicados à busca de melhores métodos de preparo de amostras, para reduzir o consumo de solventes convencionais e ampliar o uso de solventes alternativos mais ecológicos. Nesse contexto, as técnicas miniaturizadas são baseados nas tradicionais e, por utilizar menores quantidades de solventes, tornam o procedimento mais simples, a análise mais rápida, com maior desempenho de extração. Podem ser associadas ao uso de solventes considerados verdes, que exibem propriedades notavelmente melhoradas quando comparados com os solventes orgânicos convencionais. Exemplos de solventes verdes incluem solventes eutéticos profundos (DES), líquidos iônicos (IL – *ionic liquid*), solventes comutáveis e solventes supramoleculares (SUPRA) (Musarurwa; Tavengwa, 2021a).

Solventes supramoleculares são solventes imiscíveis em água gerados pela automontagem sequencial de anfifílicos (moléculas que apresentam a característica de possuírem uma região hidrofílica e uma região hidrofóbica solúvel em solvente orgânicos) em nanoescala dispersos em uma fase contínua, permitindo obter um tempo de extração curto e fácil preparação da amostra e não requerem grandes quantidades de substâncias com características tóxicas. Métodos que utilizam solventes supramoleculares foram desenvolvidos como uma alternativa aos solventes orgânicos e têm sido amplamente usados como um solvente ecologicamente correto para a extração de compostos orgânicos e inorgânicos (Jalili et al., 2021).

Os solventes supramoleculares são considerados não voláteis e não inflamáveis, com propriedades que podem ser facilmente alteradas pela variação dos grupos hidrofóbicos ou polares do anfifílico, características que os tornam muito atraentes para substituir os solventes orgânicos convencionais na microextração em fase líquida, pois fornecem diferentes interações com moléculas dos analitos, resultando em um aumento na eficiência da extração (Musarurwa; Tavengwa, 2021b e (Rubio, 2020).

Em um processo de microextração supramolecular, além dos anfifílicos dispostos em estruturas ordenadas e da água, componentes químicos e físicos são usados para acelerar a separação de fases, como os dispersores, pH, contra-íons anfifílicos, eletrólitos, temperatura,

agitação e centrifugação (Ballesteros-Gómez et al., 2010). Todas essas variáveis tem papel importante e influenciam na eficiência do processo e, por esse motivo, faz-se necessário avaliá-las para estabelecer a melhor condição de microextração (Ballesteros-Gómez et al., 2019).

A otimização do processo de microextração tem como objetivo melhorar o desempenho a fim de obter as máximas respostas possíveis. O estudo para a obtenção das melhores condições de microextração pode ser realizado de duas maneiras: univariado e multivariado. No método univariado monitora-se um fator por vez e observa-se a sua influência sobre a resposta experimental, ou seja, enquanto o nível de um fator é alterado, os níveis dos demais são mantidos em um valor constante. No método multivariado, as variáveis estudadas são otimizadas simultaneamente, permitindo estabelecer interações de primeira ou ordem superior entre as variáveis e seus níveis (Novaes et al., 2017). Esse procedimento costuma ser mais econômico e efetivo, diminuindo o número de experimentos.

Essa tese apresenta o desenvolvimento de dois métodos de microextração supramolecular usando o 1-decanol (DEC) como solvente extrator. No primeiro capítulo, o 1-decanol foi usado juntamente com o THF (tetraidrofurano) para extrair sete pesticidas: acetamiprido (ACE), azoxistrobina (AZO), bifentrina (BIF), carbendazim (CAR), clorpirifós (CLO), imidacloprido (IMI) e tebuconazol (TEB). O método de microextração foi otimizado empregando planejamento de experimentos, com o uso de um planejamento fatorial 2^5 e matriz de Doehlert, em seguida, foi validado com a obtenção parâmetros analíticos e aplicado em amostras de águas e farinhas alimentícias de cereais.

O segundo capítulo apresenta o 1-decanol como solvente extrator e THF como dispersante em um método de microextração supramolecular para cinco pesticidas: clorantraniliprole (CLO), cresoxim-metílico (CRE), procloraz (PROC), propanil (PROP) e trifluralina (TRI). O método de microextração foi otimizado univariadamente, validado pelas figuras de mérito analíticas e, aplicado em amostras de águas e farinhas alimentícias de cereais.

Uma revisão bibliográfica acerca dos tópicos importantes para o desenvolvimento dessa tese é apresentada anteriormente aos capítulos I e II. Também, uma breve introdução em cada capítulo é apresentada, para facilitar o entendimento. Por fim, todas as referências consultadas são apresentadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTÓRICO, CONSUMO E LEGISLAÇÃO DOS PESTICIDAS

A agricultura brasileira é reconhecida mundialmente, destacando-se a produção de grãos, cana de açúcar e frutas, sendo um grande exportador de alguns desses produtos, como soja, milho e algodão, ou de seus derivados, como açúcares e melaços derivados de cana-de-açúcar e farelo de soja (IBGE, 2024).

A definição da Organização Mundial da Saúde (OMS) para Produtos para Proteção de Plantas (PPP), também conhecidos pelo termo mais comum de pesticidas, são os compostos químicos usados para combater parasitas, incluindo insetos, roedores, fungos e plantas indesejáveis (ervas daninhas). Esses produtos são usados pela saúde pública afim de combater vetores de doenças, como mosquitos, e na agricultura com a maior concentração de uso, para destruir pragas que prejudicam as lavouras. Por sua natureza, esses compostos são potencialmente tóxicos para outros organismos, incluindo humanos, e devem ser usados com segurança e descartados de maneira adequada (Campanale et al., 2021).

O uso de pesticidas não é recente, sumérios, gregos e romanos aplicavam diversos produtos para matar insetos, incluindo enxofre, mercúrio, cobre e extratos de planta. Mas as consequências não eram somente as esperadas, devido à falta de segurança do manuseio, na produção e de estratégias de aplicação. Após a segunda guerra mundial, o uso de pesticidas tornou-se popular pelo uso do diclorodifeniltricloroetano (DDT), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), hexacloreto de benzeno, aldrin e dieldrin (Rani et al., 2021).

Segundo dados da FAO, em 2021 o Brasil foi o país que mais usou pesticidas na agricultura, foram 719507.44 toneladas e por esse motivo, em uma série histórica desde 1990, o Brasil é o segundo maior consumidor desse tipo de produto (FAO, 2024). Nos últimos anos, cresceu também a aprovação de registros de agrotóxicos, seus componentes e afins, conforme dados disponibilizados pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) (Figura 1) (Ministério da Agricultura e Pecuária, 2024).

Figura 1 - Total de Registros de Agrotóxicos, seus Componentes e Afins

Fonte: Adaptado do Ministério da Agricultura e Pecuária

Além do termo pesticida, outros termos são usados para se referir a esses produtos no Brasil, como agroquímico, defensivo agrícola ou produto fitossanitário. A literatura científica utiliza preferencialmente os termos pesticida e agroquímico, abrangendo produtos químicos tanto venenosos como não venenosos. Ainda, existe uma tendência no Brasil de que o termo agrotóxico refira-se apenas a produtos de toxicidade comprovada (ANVISA, 2023a e Brasil, 2023).

No Brasil, órgãos ligados ao governo federal são responsáveis pela legislação, pesquisa e fiscalização dos pesticidas. O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), é responsável por garantir a eficácia e segurança agronômica, o Ministério da Saúde (por meio da Anvisa), fiscaliza quanto a saúde pública, risco ocupacional ou risco para consumidores. E o Ministério do Meio Ambiente, com dois órgãos atuando, o Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), no que se refere ao impacto ambiental e o CONAMA, responsável pelas águas usadas em atividades produtivas e para recreação.

Recentemente, foi aprovado a Lei nº 14.785, sancionada em 27 de dezembro de 2023, conhecida como o novo marco legal para o uso de pesticidas, que revogou as legislações anteriores que datavam de 1989 e 2000. A lei dispõe sobre “a pesquisa, experimentação, produção, embalagem, rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, utilização,

importação, exportação, destino dos resíduos e das embalagens, registro, classificação, controle, inspeção e fiscalização de agrotóxicos, de produtos de controle ambiental, de seus produtos técnicos e afins” (Brasil, 2023).

Em seu artigo 2º, a lei define como agrotóxicos, “produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens ou na proteção de florestas plantadas, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos” (Brasil, 2023).

Ainda, define como limite máximo de resíduo (LMR) “a quantidade máxima de resíduo de agrotóxicos ou afins oficialmente aceita no alimento, em decorrência de aplicação adequada em fases específicas, desde a sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do ingrediente ativo do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes (em peso) de alimento (ppm ou mg/kg)” (Brasil, 2023).

Essas definições são muito parecidas com as disponibilizadas pela Anvisa, que desde 2001 atua no Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA, que tem como objetivo “monitorar resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal, visando mitigar o risco à saúde decorrente da exposição a essas substâncias pela dieta, mediante avaliação do cenário de irregularidades e risco à saúde, a partir dos resultados das análises das amostras coletadas” (Anvisa, 2019).

No relatório publicado em 2019 (ciclo 2017/2018), foram analisadas 4616 amostras de 14 alimentos de origem vegetal e dessas, 250 amostras (5,4% das 4616 amostras analisadas) apresentaram resíduos em concentrações acima do LMR, 941 amostras (20,4% das 4616 amostras analisadas) apresentaram resíduos de agrotóxicos não permitidos para a cultura. Resíduos de 122 ingredientes ativos diferentes foram detectados em 4616 amostras analisadas, totalizando 8270 detecções (Anvisa, 2019).

O relatório publicado em 2023, referente ao ciclo 2018 e 2019, analisou 3296 amostras de 14 alimentos de origem vegetal, no qual um total de 126 amostras (3,8% das 3296 amostras analisadas) apresentaram resíduos em concentrações acima do LMR, 747 amostras (22,6% das 3296 amostras analisadas) apresentaram resíduos de agrotóxicos não permitidos para a cultura. Foram detectados resíduos de 109 ingredientes ativos diferentes nas 3296 amostras analisadas, o que resultou no total de 7870 detecções (Anvisa, 2023a).

No período de setembro a dezembro de 2022, a Anvisa voltou a fazer coletas de alimentos após um intervalo devido ao período pandêmico, em que foram coletadas 1772

amostras de 13 alimentos de origem vegetal. Dessas, 171 amostras (9,7% das 1772 amostras analisadas) apresentaram resíduos em concentrações acima do LMR, 366 amostras (20,7% das 1772 amostras analisadas) continham resíduos de agrotóxicos não permitidos para a cultura. Foram detectados resíduos de 98 ingredientes ativos diferentes nas 1772 amostras analisadas, o que resultou no total de 3668 detecções (Anvisa, 2023a).

2.2 CLASSIFICAÇÃO E PROPRIEDADES DOS PESTICIDAS

O termo pesticida é um termo usado para designar vários grupos de diferentes produtos químicos. A fim de facilitar a avaliação e emprego desses produtos, pesticidas podem ser classificados de acordo com suas propriedades e atividades semelhantes. Geralmente, os pesticidas são classificados de acordo com suas classes químicas (organoclorados, carbamatos, neocotinóides, etc), o tipo de praga para a qual foram projetados para controlar (herbicidas, fungicidas, rodenticidas e inseticidas), o mecanismo de ação (um inibidor da acetilcolinesterase), a persistência ambiental e a toxicidade, entre outros (Souza et al., 2020).

A maioria dos esquemas de classificação combina estas estratégias para fornecer uma abordagem mais precisa à identificação de potenciais riscos e perigos associados a estes produtos químicos. A separação dos pesticidas de acordo com seus mecanismos de ação é útil para o desenvolvimento de estratégias de manejo e redução de seu uso, evitando o desenvolvimento de mecanismos de resistência das pragas. Ao mesmo tempo, as classes químicas podem refletir as características físicas e químicas dos pesticidas, como hidrofobicidade e ponto de ebulição (Souza et al., 2023).

A classificação baseada no tipo de praga que se pretende controlar é útil para escolher o produto químico apropriado para problemas específicos de pragas, minimizando o dano potencial a espécies não-alvo.

Os herbicidas são produtos que previnem e controlam o crescimento de plantas invasoras. São considerados a classe de pesticidas mais empregada, representando cerca de 80% do consumo de pesticidas e mais de 300 herbicidas estão disponíveis para controlar ervas daninhas na agricultura. Com o avanço dos estudos, os herbicidas foram melhorando sua eficácia, espectro de ação e segurança ambiental e podem ser classificados como seletivos e não seletivos. Um herbicida não seletivo mata ou danifica todo o crescimento de todas as plantas e geralmente é reservado para uso agrícola para limpar grandes áreas com vegetação

alta de plantas invasoras. Um herbicida seletivo é usado para controlar ervas daninhas alvo e geralmente funciona através de alguma perturbação hormonal (Souza et al., 2023).

Os inseticidas são produtos empregados para matar, repelir, atrair ou perturbar os insetos. O uso de inseticidas é antigo, mas a descoberta do diclorodifeniltricloroetano - DDT em 1939), o primeiro pesticida sintético, revolucionou o manejo de pragas agrícolas, além de auxiliar em problemas de saúde relacionados com insetos, como os vetores da malária ou do tifo (Souza et al., 2023). Essas substâncias possuem mecanismos de ação que variam de acordo com o tipo de inseticida e podem ser aplicadas em culturas, plantas ou outras áreas onde os insetos estão presentes para evitar que causem danos ou espalhem doenças. Têm como alvo mecanismos biológicos específicos dos insetos, como os sistemas nervoso ou digestivo, levando à morte ou paralisia, resultado em um desequilíbrio na transmissão de impulso nervoso (Hassaan; Nemr, 2020).

Fungicidas são substâncias aplicadas em plantas ou sementes para prevenir infecções fúngicas em tubérculos, frutas e vegetais. Os modos de ação dos fungicidas variam com o tipo de substância fungicida, em geral, danificam a membrana celular, afetam processos metabólicos específicos, inativam enzimas e/ou alteram processos relacionados à produção de energia e à respiração (Rani et al., 2021).

Substâncias com potencial fúngico são usados há mais de 200 anos, compostos inorgânicos como enxofre, cal, cobre e mercúrio foram aplicados em culturas de cereais e uvas para protegê-las contra certos fungos. Esses compostos foram amplamente utilizados antes de perderem eficácia à medida que as pragas se tornaram resistentes a eles, embora o enxofre ainda seja usado. Além disso, os compostos inorgânicos são extremamente tóxicos para o meio ambiente devido a bioacumulação no solo, inibindo o crescimento das culturas. A necessidade de expansão da agricultura e a falta de pesticidas eficazes impulsionaram o desenvolvimento de compostos sintéticos com potencial para combater fungos (Souza et al., 2020).

Além desses três tipos, outros muitos são usadas com variadas funções, como pode ser visto no Quadro 1. Alguns desses estão presentes no cotidiano das pessoas, sem que elas percebam que estão usando pesticidas, como por exemplo, o uso de diclorobenzeno (líquido volátil, não inflamável e que não apresenta um odor característico) em substituição à tradicional naftalina, o fipronil, indicado no tratamento, controle e prevenção de pulgas e carrapatos em cães e outros animais domésticos e de cupins, que atacam móveis de madeira

ou a icaridina, presente em repelentes de insetos que protegem por um período de 10 a 12 horas, a depender da marca.

Quadro 1 - Classificação do pesticida, exemplo e pragas-alvo ou função

Tipo de pragas	Exemplo de pesticidas	Pragas alvo/Função
Acaricidas	Bifenazato	Ácaros que se alimentam de plantas e animais
Algicidas	Sulfato de cobre	Algas
Atraentes	Feromônios	Atraí grande variedade de pragas
Avicidas	Avitrol (aminopiridina)	Pássaros
Bactericidas	Complexos de cobre	Bactérias ou agir contra bactérias
Biopesticida	Bacillus thuringiensis	Grande variedade de organismos
Bolas de naftalina	Diclorobenzeno	Danos às roupas causado por larvas de mariposas ou fungos
Cupins, carrapatos e pulgas	Fipronil	Cupins
Desfolhante	Tribufos	Remove a folhagem das plantas
Dessecantes	Ácido bórico	Atua nas plantas secando seus tecidos
Fumigante	Fosfeto de alumínio	Grande variedade de organismos
Fungicidas	Azoxistrobina, clorotalonil	Fungos (pragas, bolores e ferrugem)
Herbicidas	Atrazina, glifosato, 2,4-D	Ervas daninhas e outras plantas que crescem onde não são desejadas
Inseticidas	Aldicarbe, carbaril, imidacloprido	Insetos e outros artrópodes
Isca	Anticoagulantes	Grande variedade de organismos
Lampricidas	Trifluorometil	Larvas alvo de lampreias (peixes sem mandíbula que se agarram a peixes vertebrados nos rios)
Larvicidas	Metopreno	Inibe o crescimento de larvas
Moluscicidas	Metaldeído	Moluscos (caracóis)
Nematicidas	Aldicarbe, etoprope	Nematóides que atuam como parasitas de plantas
Ovicidas	Benzoxazina	Inibe o crescimento de ovos de insetos e ácaros
Piscicidas	Rotenona	Peixes
<i>Predacide</i>	Estricnina	Predadores de mamíferos
Regulador de crescimento de insetos	Diflubenzurão	Insetos
Regulador de crescimento de plantas	Ácido giberélico, 2,4-D	Regula o crescimento das plantas
Repelentes	Metiocarbe, icaridina	Repelir pragas pelo seu sabor ou cheiro, vertebrados e invertebrados

Rodenticidas	Varfarina	Controle ratos e outros roedores
Silvicidas	Tebutiurão	Atua contra a vegetação lenhosa
Virucidas	Citovirina	Vírus

Fonte: adaptado de (Hassaan; Nemr, 2020)

Quanto a classificação pela classe química a que pertencem, as mais comuns de pesticidas químicos, ou seja, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides e neonicotinóides.

Pesticidas organoclorados (OCPs) são moléculas orgânicas com cinco ou mais átomos de cloro ligados a elas. Esses compostos foram amplamente utilizados entre os anos de 1940 e 1960 na agricultura e no controle de mosquitos. Muitos organoclorados são altamente solúveis e extremamente persistentes no meio ambiente e nos organismos vivos, apresentando propriedades disruptivas endócrinas, além de serem potenciais agentes cancerígenos e, por esta razão, foram amplamente proibidos na América do Norte, Austrália, Brasil e na União Europeia, mas são amplamente utilizados em muitas outras nações, como Índia, China e Indonésia (Ahmad et al., 2021).

Os organofosforados são todos os compostos orgânicos que contêm fósforo e são utilizados no combate a pragas em plantações, pomares e cultivo de hortaliças. Surgiram como uma alternativa mais ecológica aos organoclorados, incluindo uma grande variedade de pesticidas, sendo um dos mais comuns o glifosato e, por esse motivo, correspondem ao principal grupo de compostos usados no combate de pragas (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016).

Os carbamatos são usados como inseticidas, acaricidas, nematocidas, herbicidas e moluscicidas para a proteção de uma grande variedade de culturas, como arroz, algodão, árvores frutíferas e vegetais. O grande uso é devido à sua ampla atividade biológica, baixo potencial de bioacumulação e toxicidade relativamente baixa em mamíferos. No entanto, por serem inibidores da acetilcolinesterase, estes compostos são considerados perigosos para o ambiente e para a saúde humana atribuído aos altos pontos de fusão e baixas pressões de vapor e podem ser distribuídos em ambientes aquosos por lixiviação e escoamento do solo para águas subterrâneas e superficiais devido à sua alta solubilidade em água (Wu et al., 2009).

Neonicotinóides são uma classe relativamente nova empregada como inseticidas, quimicamente relacionados à nicotina. Em menos de 20 anos, tornaram-se a classe de inseticidas mais utilizada, representando pelo menos um quarto do mercado mundial de

inseticidas. Destinam-se ao tratamento de uma ampla variedade de plantas, incluindo girassol, milho, canola, algodão, batata, arroz, plantas ornamentais, viveiros de árvores e frutas. A Comissão Europeia proibiu o uso de alguns neonicotinóides, como o imidacloprido, tiametoxame e clotianidina em culturas atrativas para insetos polinizadores, devido ao potencial impacto prejudicial dos neonicotinóides nas abelhas e nos seus produtos (Jovanov et al., 2015).

Piretróides são uma classe de inseticidas orgânicos sintéticos derivados de piretrinas, usados em todo o mundo desde a década de 1980 devido ao seu alto nível de eficácia e baixa toxicidade em comparação com outros inseticidas, como os organofosforados e os carbamatos. São tóxicos para os organismos aquáticos e podem causar efeitos adversos a longo prazo em ambientes aquáticos. Devido à lipofilicidade dos piretróides, é difícil removê-los quando entram em organismo. A exposição prolongada e em baixas doses a piretróides pode causar doenças crônicas e ter efeitos tóxicos nos sistemas nervoso, imunológico, cardiovascular e genético dos organismos (Tang et al., 2018).

Além das classes, as propriedades físicas e químicas intrínsecas as estruturas moleculares dos pesticidas facilitam o entendimento e desenvolvimento de técnicas apropriadas para extração e limpeza e separação (cromatografia gasosa ou líquida) e são importantes na determinação do comportamento dos pesticidas não apenas nas análises em laboratório, mas também para entender o comportamento no meio ambiente. Destacam-se aqui o coeficiente de partição octanol-água (K_{OW}), solubilidade em água (S_w) e pressão de vapor (VP) (Guo; Li, 2024).

O coeficiente de partição octanol-água é a medida de solubilidade determinado pela relação entre a quantidade relativa de herbicida que se dissolve em octanol e aquela que se dissolve em água. Os herbicidas com baixo K_{ow} são solúveis em água (ex.: glifosato, $K_{ow} = 0,0006$), ao passo que aqueles com alto K_{ow} são solúveis em solventes orgânicos (ex.: diclofope-metílico, $K_{ow} = 37800$). Esses valores são geralmente apresentados em escala logarítmica, onde os valores variam de -3 a 7. No desenvolvimento de pesquisa científica, o $\text{Log } K_{ow}$ dos compostos alvo é a principal referência no desenvolvimento de métodos de extração baseados em partição da fase líquida, mesmo que o líquido de extração não seja o octanol. Esse valor pode ser referência ainda, na cromatografia líquida de fase reversa, onde a retenção relativa nas colunas se correlaciona com os valores de $\text{Log } K_{ow}$ de compostos individuais, quando a partição é dominada por interações hidrofóbicas (Rasool et al., 2022).

A solubilidade de pesticidas em água (S_w) é considerada como um indicador de adsorção no solo, que ocorre em meio aquoso, por isso, conhecer a interação entre a água e o pesticida muito importante. Moléculas com valores altos de S_w , como o glifosato ($S_w=100000 \text{ mg L}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$) e o 2,4-D (24300 mg L^{-1} , $20 \text{ }^\circ\text{C}$), bem como os seus metabólitos, têm o potencial de contaminar o abastecimento de água potável, causando problemas de saúde e dificultando a extração destes contaminantes da água. Enquanto os pesticidas com baixa solubilidade, como o diuron ($35,6 \text{ mg L}^{-1}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$), não são adsorvidos no solo e estão expostos à biodegradação. As substâncias muito insolúveis (solubilidade em água inferior a $0,5 - 1 \text{ mg L}^{-1}$) são difíceis de analisar em níveis vestigiais devido à sua tendência de adsorver em materiais de vidro e às limitações da detecção instrumental (Duchowicz, 2020).

A pressão de vapor (VP) é uma medida de volatilidades, ou seja, a tendência aos pesticidas serem perdidos para a atmosfera na forma gasosa, afetando a mobilidade no meio ambiente e seu potencial para transporte atmosférico de longo alcance. Não existe uma definição clara e amplamente aceita, mas são classificados como voláteis, semivoláteis e não voláteis. Nos laboratórios, devem ser feitos esforços para evitar perdas devido à vaporização durante todas as etapas da pesquisa se os analitos forem voláteis. A pressão de vapor dos compostos pode sugerir os métodos para cada etapa, desde a amostragem até a análise instrumental. Por exemplo, extração Soxhlet e líquido pressurizado não podem ser usados para os compostos voláteis. Para voláteis e semivoláteis, a escolha do instrumento analítico é frequentemente a cromatografia a gás (Guo; Li, 2024).

2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS

Os pesticidas são geralmente quantificados por técnicas cromatográficas, como cromatografia a gás e cromatografia líquida, e o acoplamento de outras técnicas, como espectrômetro de massas tornou-se uma ferramenta bastante utilizada na detecção destes analitos (Hassaan; Nemr, 2020). Além dessas técnicas, observa-se o uso em menor quantidade de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) e eletroforese capilar (Samsidar et al., 2018). Ainda, algumas técnicas usando sensores que possibilitam a detecção no local da coleta estão em desenvolvimento (Raymundo-Pereira et al., 2021 e Songa; Okonkwo, 2016).

A cromatografia gasosa (CG) é a técnica cromatográfica mais comum na análise de pesticidas, na qual separa principalmente os compostos com base em suas volatilidades. A

técnica CG é aplicável para compostos não polares, voláteis e facilmente vaporizados (Samsidar et al., 2018).

Com o avanço da indústria agroquímica em produzir produtos fitossanitários cada vez mais instáveis e polares para evitar bioacumulação e persistência no meio ambiente, a análise de pesticidas e seus produtos de degradação com estruturas mais polares, de baixa volatilidade e termolábeis passou a ser realizada também pela cromatografia líquida (CL) (Hassaan; Nemr, 2020).

Os métodos baseados em cromatografia líquida têm sido amplamente relatados para a detecção e quantificação de pesticidas de alta polaridade e não voláteis e termicamente lábeis, envolvendo diferentes técnicas cromatográficas, como HPLC (*High-performance liquid chromatography* - Cromatografia líquida de alta eficiência) e UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography* - Cromatografia Líquida de Ultra Desempenho), em sua maioria, utilizando fase reversa (quando a fase estacionária apresenta menor polaridade que o solvente da fase móvel). Observa-se que menores tempo de corrida cromatográfica costumam ser alcançados ao usar as técnicas UPLC e UHPLC (Wang et al., 2020).

Os métodos baseados em técnicas de cromatografia líquida podem ser combinados com diferentes detectores, como ultravioleta-visível (UV-VIS), arranjo de diodos (*diode array detector* – DAD), fluorescência (FLD) e massas (MS), para a detecção de pesticidas em diversas matrizes, apresentando maior versatilidade em comparação com outras técnicas cromatográficas (Liang et al., 2022).

O detector DAD é capaz de detectar vários comprimentos de onda simultaneamente, registrando espectros de 190 a 400 nm, enquanto o detector UV-Vis é capaz de variar o comprimento de onda de detecção, mas apenas uma leitura é feita a cada tempo, ambos os detectores são baseados na absorbância no espectro UV-vis. A detecção por FLD pode ser mais seletiva e sensível, contudo limita-se a compostos que absorvem e emitem luz a um dado comprimento de onda de excitação e emissão. O acoplamento de um detector MS torna a análise sensível a nível traços, com a necessidade dos analitos serem previamente ionizados (Samsidar et al., 2018).

O detector usado também influencia no número de pesticidas detectados. Em geral, os métodos que utilizam detector de massas e detector de arranjo de diodos permitem a detecção de diversos pesticidas simultaneamente com propriedades estruturais diferentes, desde que possuam as características necessárias, enquanto detector UV e por fluorescência costumam

ser usados principalmente para a detecção seletiva de pesticidas ou de uma classe (Fama et al., 2023 e Wang et al., 2020).

Apesar da grande evolução das técnicas cromatográficas, matrizes alimentares, ambientais e biológicas são compostas por inúmeros outros constituintes, o que torna necessário a separação do analito alvo da matriz e a remoção de impurezas. Ainda, as concentrações de resíduos de pesticidas em matrizes alimentares e ambientais geralmente estão em baixas concentrações (LMR normalmente variam de $\mu\text{g kg}^{-1}$ a mg kg^{-1}), que é um fator limitante para a quantificação direta (Carasek et al., 2021).

Assim, a pré-concentração se tornou uma etapa crítica antes da análise cromatográfica, necessitando de métodos analíticos rápidos, baratos e confiáveis, viáveis para determinar a baixa concentração de pesticidas em matrizes complexas. O preparo de amostras antes da determinação de pesticidas é uma etapa fundamental para atingir a seletividade e a sensibilidade necessárias para obter resultados quantitativos precisos. Além da pré-concentração, nessa mesma etapa ainda promove-se a homogeneização, extração, limpeza e a separação dos analitos de interesse (Musarurwa; Tavengwa, 2021a, 2021b).

Na literatura, encontram-se vários relatos de métodos de extração de pesticidas, baseados em sorção empregando sorventes ou, em partição em solventes de extração, para eliminar as substâncias interferentes de matrizes complexas e concentrar os pesticidas.

O método de extração em fase sólida (SPE) tem ampla aplicação para extração de inúmeros compostos, incluindo os pesticidas. Baseado na adsorção de analitos em sorventes sólidos, é fortemente dependente da interação entre o sorvente e os analitos, o que torna a seleção de um sorvente adequado muito importante no processo e exige várias etapas de tratamento desse material, envolvendo lavagem, condicionamento, carregamento de amostra, eluição e secagem do cartucho sólido. Outra dificuldade muito presente nesse método é a possibilidade de bloqueio da coluna SPE (Sousa et al., 2021).

Entre os sorventes, observa-se um grande uso de materiais com características hidrofóbicas e não seletivos, como grafeno e sílica, disponíveis comercialmente e novos nanomateriais, como nanotubo de carbono de paredes múltiplas (*multi-walled carbon nanotube* - MWCNT), estruturas metal-orgânicas (*metal organic frameworks* - MOFs) e polímeros com impressão molecular (*molecularly imprinted polymers* - MIPs). Esses materiais fornecem um bom fator de enriquecimento, promovendo baixos valores de limite de detecção em análises de traços de pesticidas em água (Nasiri et al., 2020).

Recentemente, o método SPE sofreu algumas alterações com o intuito de aprimorar suas funcionalidades e novas possibilidades se abriram. A microextração em fase sólida (*solid phase microextraction* - SPME) é um método de pré-tratamento simples, livre de solventes, rápido, sensível e de fácil automação, baseado na sorção de analitos na superfície de uma fibra quimicamente modificada, imersa em uma amostra, com posterior dessorção térmica dos analitos em um cromatógrafo gasoso. Portanto, assim como na SPE tradicional, a fase estacionária revestida na fibra desempenha um papel fundamental na melhoria da sensibilidade, taxa de transferência de massa e reprodutibilidade, com a vantagem de minimizar o problema de bloqueio da coluna (Azzouz et al., 2018).

O método d-SPE (*dispersive solid phase extraction* - extração em fase sólida dispersiva) foi desenvolvido para permitir a adição de um sorvente diretamente na solução de trabalho, favorecendo a interação entre o sorvente e os analitos. Após a agitação, os analitos são separados por um processo mecânico, geralmente centrifugação ou filtração. Essa técnica tem várias vantagens sobre o SPE tradicional, como menor tempo, baixo custo, fácil operação e baixo consumo de solventes orgânicos (Azizi; Bottaro, 2020).

Um sorvente que possui propriedades magnéticas facilita o processo de extração empregando um campo magnético externo para separar o sorvente da solução dos analitos. A MSPE (*magnetic solid phase extraction* - extração em fase sólida magnética) faz uso de partículas magnéticas compostas de ferro, cobalto, níquel ou seus óxidos, com a possibilidade de melhorar suas propriedades de sorção com revestimentos a base de alumina, sílica, óxido de manganês, MIPs quitosana e surfactantes. Como resultado, a MSPE tem rota de difusão curta, uma alta proporção de área de superfície para volume, capacidade de reutilização, alta recuperação e consumo mínimo de solventes orgânicos em comparação com o SPE tradicional (Azzouz et al., 2018).

O método QuEChERS (acrônimo de *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe* - rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro) consiste em uma série de etapas analíticas simples que são rápidas, fáceis e não requerem implementações específicas. O QuEChERS fornece altas recuperações para uma ampla gama de pesticidas pertencentes a várias classes químicas, sendo capaz de extrair compostos polares e apolares simultaneamente e amplamente utilizado para a extração de resíduos de pesticidas de frutas e vegetais, cereais, ervas e outros alimentos usando uma proporção de amostra-solvente de 1: 1 (Nasiri et al., 2020).

O procedimento QuEChERS envolve várias etapas: 1) Etapa de extração inicial com um solvente orgânico; 2) Etapa de extração/partição com adição da mistura de sal e; 3) Etapa de limpeza de uma alíquota das matérias-primas do extrato; 4) O extrato orgânico final obtido analisado diretamente com o sistema instrumental (Alcântara et al., 2019). Conforme pode ser consultado no PARA 2017-2018 e PARA 2018 - 2019 e 2022, o QuEChERS é o método usado para extrair os pesticidas das amostras de alimentos analisadas (Anvisa, 2019, 2023a), devido ao fato de ser adequado para uma grande variedade de pesticidas.

A extração líquido-líquido (*liquid-liquid extraction* - LLE) é um método simples, geralmente empregado para amostras aquosas e reconhecido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) como um método oficial. Os analitos são dissolvidos em dois líquidos imiscíveis, geralmente solventes orgânicos e água, que possuem características antagônicas, como água/hexano, diclorometano/acetona, acetato de etila/ciclohexano e acetonitrila para a análise de pesticidas (Samsidar et al., 2018).

Uma das grandes vantagens deste método é a grande disponibilidade de estudos na literatura, com informações consolidadas sobre a seleção adequada de solventes orgânicos. No entanto, costuma exigir um grande tempo de trabalho e o manuseio de grandes volumes de solventes orgânicos perigosos ou tóxicos, prejudiciais ao meio ambiente e até carcinogênicos (por exemplo, diclorometano) (Campanale et al., 2021).

A grande quantidade de reagente utilizada pode levar ao risco de perdas do analito durante as fases de transferência da amostra e evaporação do solvente. Devido a grande quantidade de extrato final, torna-se necessário uma redução significativa do volume por meio da evaporação do solvente para concentrar os analitos de interesse, gerando o risco de perder a maioria dos analitos voláteis da amostra (Nasiri et al., 2020).

Com a demanda de métodos de pré-tratamento de amostras mais rápidos, econômicas e ambientalmente amigáveis, pesquisadores desenvolveram a microextração em fase líquida (*liquid phase microextraction* - LPME), em que apenas alguns microlitros de solvente são necessários para extrair analitos. Por esse motivo, o LPME é um método mais amigável do ponto de vista ambiental, além de rápido e simples (Kokosa; Przyjazny, 2022).

No LPME, o processo de extração ocorre entre uma pequena quantidade de solvente imiscível em água (fase aceptora) e uma fase aquosa (fase doadora) contendo compostos alvo. A aplicação do LPME foi desenvolvida em várias subclasses com modos de extração diferentes: microextração de gota única (*single drop microextraction* - SDME), fibra oca-

LPME (*hollow-fiber liquid phase microextraction* - HF-LPME), microextração líquido-líquido dispersiva (*dispersive liquid-liquid microextraction* - DLLME) (Hashemi et al., 2017).

A mais popular entre essas subdivisões é a DLLME, que utiliza um solvente orgânico de alta densidade como solvente de extração e um solvente polar (miscível em água) como agente dispersivo. Quando o solvente de extração contendo uma pequena quantidade do agente dispersivo é rapidamente injetado em uma solução aquosa da amostra, forma-se uma solução turva e gotículas finas do solvente de extração são formadas e a área de superfície entre a água e o solvente de extração torna-se infinitamente grande, de modo que ocorre uma transferência de massa rápida e eficaz. Em seguida, a solução é centrifugada e o solvente de extração se agregará no fundo da solução e poderá ser extraído para análise posterior (Sun et al., 2021).

A SDME é uma modalidade do LPME baseada na formação de uma pequena gota suspensa de solvente de extração imersa em seu interior na solução amostral ou em seu headspace (*headspace single-drop microextraction* - HS-SDME). No HF-LPME, como em outros LPME assistidos por membrana, a transferência dos analitos entre as fases aceitadora e doadora é mediada por uma fibra porosa, que favorece a exclusão de macromoléculas. A técnica pode ser realizada em sistemas ternários ou binários utilizando ou não um solvente na fibra porosa (Burato et al., 2020).

Mesmo com a evolução dos métodos, a maioria ainda tem como característica comum o uso de solventes orgânicos durante os processos de pré-concentração e extração (Musarurwa; Tavengwa, 2021a, 2021b). Nos últimos anos, tem-se aprimorado os estudos empregando-se solventes alternativos e sustentáveis durante a pré-concentração e extração de pesticidas em alimentos, amostras ambientais e biológicas, empregando-se substâncias que melhoram a sensibilidade, seletividade e precisão das metodologias de determinação final. Esses solventes são conhecidos como “solventes verdes emergentes” e incluem solventes eutéticos profundos (DES) (Vilková et al., 2020), líquidos iônicos (Yavir et al., 2020) e solventes supramoleculares (SUPRA) (Ballesteros-Gómez; Rubio, 2023), que podem ser aplicados em microextrações.

Solventes eutéticos profundos (*Deep Eutetic Solvents* – DES) são preparados pela mistura de um aceitador de ligação de hidrogênio (sais quaternários) e um doador de ligação de hidrogênio (aminas, ácidos carboxílicos, álcool e carboidratos) e são formados por meio de interações de ligações de hidrogênio na presença de um solvente altamente polar, como a água (Vilková et al., 2020).

Os líquidos iônicos (*Ionic Liquids* - IL) são definidos como substâncias compostas por íons cujo ponto de fusão é inferior à 100 °C, que resultam da combinação de um cátion orgânico e um ânion orgânico ou inorgânico. Apresentam várias vantagens em relação aos solventes orgânicos clássicos, sendo a mais importante a capacidade de ter suas propriedades físicas projetadas de acordo com seu objetivo e área de aplicação, selecionando o cátion, ânion e comprimento de cadeia alquil substituinte desejado (Delińska et al., 2021).

2.4 SOLVENTES SUPRAMOLECULARES

Solventes supramoleculares (SUPRA) é um termo recente, citado pela primeira vez em 2009 por um grupo de pesquisa espanhol (Ballesteros-Gómez et al., 2009) para se referir a um processo sequencial de automontagem de líquidos nanoestruturados imiscíveis em água, gerados a partir de moléculas de anfífilos, que ocorre em duas escalas, molecular e nano. Esses anfífilos podem ser moléculas de surfactantes, álcoois ou ácidos carboxílicos de cadeia longa (Ballesteros-Gómez et al., 2010).

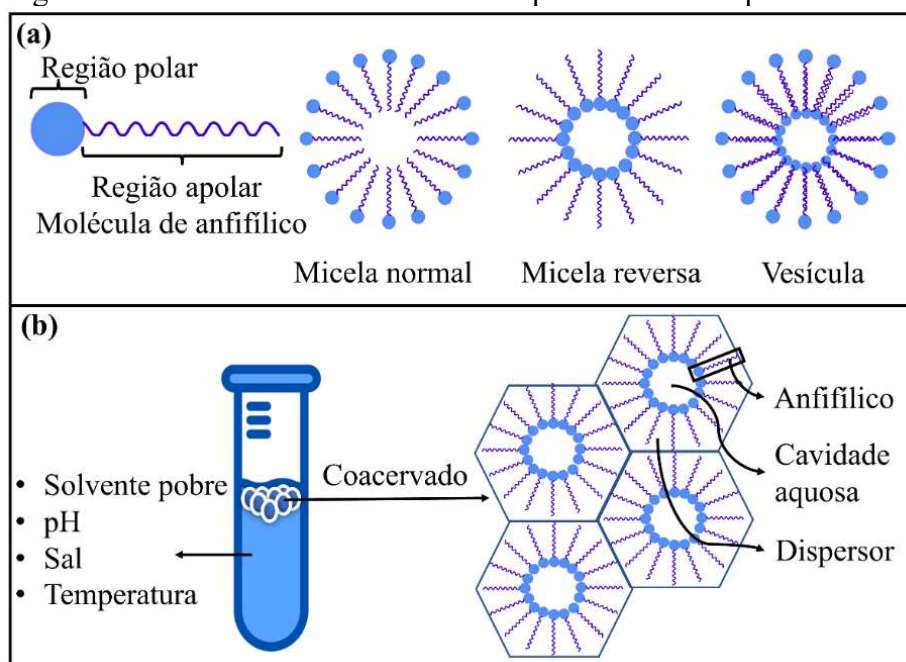
O método aprimora a abordagem proposta por Watanabe e colaboradores, chamada de extração de ponto de nuvem (CPE - *Cloud point extraction*), que tinha como base coacervatos micelares produzidos pelo aumento da temperatura de soluções aquosas de micelas não iônicas acima de um certo valor (ponto de nuvem). A CPE foi amplamente explorada para a determinação de compostos orgânicos em uma variedade de matrizes, com fácil implementação e tempos de extração curtos. No entanto, a baixa eficiência de extração para substâncias polares, coeluição dos analitos em análise de cromatografia líquida e, em muitos casos, perdas de analitos termicamente lábeis durante a extração prejudicam sua aplicação para extração de alguns compostos (Rubio; Pérez-Bendito, 2003).

Para superar essas limitações, novos solventes supramoleculares foram relatados e aplicados a extrações analíticas. A grande vantagem da extração supramolecular, quando comparado à extração do ponto de nuvem, é a água atuando como estímulo para a formação do coacervato, devido à automontagem espontânea dos compostos anfífilos na mistura THF/água, enquanto no método de origem, é necessário o uso de temperatura ou a presença de sal para formar as gotículas de coacervato (Lemes; Tarley, 2021).

Inicialmente, os anfífilos são auto-organizados em solução em estruturas moleculares tridimensionais acima da concentração micelar crítica (CMC), do tipo micelas ou vesículas aquosas/reversas, vistas na Figura 2a. Um segundo estágio é chamado de

coacervação, definido pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry – União Internacional de Química Pura e Aplicada*) como “separação de sistemas coloidais em duas fases líquidas” e envolve o crescimento dos agregados de estrutura tridimensional até a obtenção de uma fase líquida rica em anfífilos, que é obtida por separação de fases (Carasek et al., 2021 e Shah et al., 2022).

Figura 2 - Estruturas do tipo micelas ou vesículas aquosas/reversas (a) e esquema do arranjo hexagonal das moléculas anfífilicas em um procedimento supramolecular (b)



Fonte: autoria própria.

A agregação dos grupos polares dos anfífilos como micelas reversas em solventes é predominantemente consequência da formação de fortes interações de hidrogênio entre os anfífilos. O mecanismo mais provável de coacervação consiste em duas etapas: inicialmente as micelas reversas são formadas em moléculas de solvente aprótico ou prótico (o número exato de agregação depende da concentração do anfílico), onde as macromoléculas do surfactante são envoltas em uma bainha de solventes de baixa polaridade. A adição de água numa segunda etapa causa competição por solventes próticos ou apróticos, o que resulta na dessolvatação parcial das micelas reversas. Essa dessolvatação facilita a interação micela-micela e resulta na formação de agregados maiores que se separam na forma de coacervados. A eficácia da dessolvatação aumenta quando o comprimento da cadeia alquílica aumenta, ou seja, será necessária menos água para a coacervação, assim, os anfífilos mais curtos são preferidos para aplicações analíticas (Jafarvand; Shemirani, 2011).

A coacervação só é obtida em solventes que tem a capacidade de dissolver as moléculas anfifílicas para permitir a automontagem em micelas e que sejam miscíveis em água. A automontagem de moléculas de anfifílicos ocorre em uma variedade de solventes próticos (etilenoglicol, metanol, etanol e 1-propanol) e apróticos (tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, acetonitrila, acetona e dioxano) antes de obter-se os coacervados. Pode-se induzir a coacervação por mudanças no sistema, como adição de solvente pobre ao sistema (geralmente água), modificação do pH do meio, adição de sal e mudança de temperatura (Figura 2b) (Jafarvand; Shemirani, 2011).

A maioria dos anfifílicos consiste em uma cadeia de hidrocarbonetos e um grupo polar, os mais comuns são alcanóis e ácidos carboxílicos de cadeia longa, geralmente de 7 a 12 carbonos (heptanol, octanol, decanol e ácido decanóico) ou surfactantes catiônicos e aniônicos (Ballesteros-Gómez et al., 2019).

A interação dos anfifílicos com analitos pode acontecer por meio de interações de hidrogênio, interações iônicas e hidrofóbicas. Outra característica importante é o seu alto teor de anfifílicos, que permite ter um grande número de sítios de ligação disponíveis para extração dos pesticidas usando baixos volumes de extratores (Musarurwa; Tavengwa, 2021a).

Devido a presença do anfifílico como extrator, possuem a propriedade única de diferentes regiões de polaridade presentes, oferecendo diferentes microambientes de polaridade (por exemplo, características polares nos grupos principais e apolares nas frações hidrofóbicas), vários locais de ligação (decorrentes da concentração de anfifílicos), mecanismos de interação de modo misto e grande área de superfície (devido ao caráter descontínuo das SUPRAS) e altas eficiências de extração usando baixos volumes de extratores devido à alta concentração de anfifílicos e, portanto, alta concentração de sítios de ligação. Assim, SUPRAS têm sido usados com sucesso em extrações analíticas de metais e compostos orgânicos a partir de amostras ambientais, biológicas e de alimentos (Musarurwa; Tavengwa, 2021a e (Oliveira, F. M. De et al., 2020).

A extração a base de SUPRAS têm características diferentes da efetuada com LI e DES. Essas extrações são realizadas com solventes puros constituídos por cátion-ânion e doador-aceitador de ligação de hidrogênio, respectivamente, misturados em uma estequiometria bem definida, e eles têm uma composição de massa homogênea. Quando analisados macroscopicamente, constituem uma fase líquida contínua (Delińska et al., 2021 e Vilková et al., 2020).

Para a produção dos SUPRAS, é requerido a presença de um solvente (geralmente água) que, juntamente com os agentes indutores de coacervação (como o THF), fazem parte da composição do SUPRAS e, macroscopicamente, são constituídos por gotículas de coacervato, apresentando o aspecto de fase líquida descontínua. Ainda, o ingrediente principal das SUPRAS é um anfifílico, obrigatório para sua produção por automontagem e coacervação, e para a existência de agregados em sua estrutura com diferentes domínios de polaridade (Romera-García et al., 2021).

Esses solventes tem propriedades físico-químicas que os tornam muito atraentes para substituir os solventes orgânicos em extrações analíticas, como a facilidade de obtenção por vias naturais ou sintéticas dos anfifílicos, capacidade de ajuste das propriedades do solvente, variando o grupo hidrofóbico ou polar do anfifílico e capacidade multiligante através dos múltiplos grupos polares presentes em um agregado supramolecular facilitando as interações com os solutos (Ballesteros-Gómez et al., 2009).

Os anfifílicos usados como extrator costumam ser de três tipos: alcanóis, ácidos carboxílicos ou ferrofluidos.

Os SUPRAS à base de alcanol (não iônicos) são geralmente preparados usando álcoois de cadeia longa (de sete a doze carbonos) como anfifílicos em fases aquosas contendo solventes miscíveis em água, como THF. Nessas misturas, os alcanóis formam espontaneamente agregados micelares reversos por meio de processos de automontagem que consistem em cavidades aquosas rodeadas por grupos polares de alcanóis com as cadeias de hidrocarbonetos dissolvidas em THF. O tamanho das cavidades aquosas pode ser ajustado controlando a razão THF/ água na solução a granel, onde os alcanóis se auto-montam. (Ballesteros-Gómez et al., 2010 e Ballesteros-Gómez; Rubio, 2012).

Os SUPRAS à base de ácidos graxos (iônicos) são preparados usando ácidos carboxílicos de cadeia média como anfifílicos em fases aquosas contendo solventes miscíveis em água, como o THF. Quando os ácidos graxos são colocados em uma mistura de água e tetrahidrofurano, eles formam espontaneamente agregados micelares reversos por meio de processos de automontagem, resultando na formação de SUPRASs. Uma desvantagem do uso de ácidos graxos é o fato de que as micelas reversas são produzidas a partir da forma de ácido protonado (pK_a em torno de 4,8 a 4,9), valores de pH abaixo de 4 são necessários para a formação do solvente supramolecular (Ballesteros-Gómez et al., 2010 e Ballesteros-Gómez; Rubio, 2012).

O uso de surfactantes, convencionalmente compostos principalmente por um grupo de cabeça polar e um longo grupo de cauda hidrofóbica também tem aplicação como solvente supramolecular. Esses compostos podem exibir uma variedade complexa de comportamentos de fase em uma solução aquosa, dependendo de sua concentração e temperatura. Acima da concentração micelar crítica específica para cada surfactante, o sistema forma agregados (micelas ou vesículas) enquanto em concentrações maiores pode apresentar outras fases em equilíbrio. Dependendo da natureza do surfactante, esse pode, por meio da coacervação, produzir uma solução bifásica acima ou abaixo da temperatura crítica (inferior ou superior) da solução (Nakamura et al., 2023).

Recentemente, novos compostos foram empregados na formação de SUPRAS, com o uso de uma fase aquosa contendo aminas primárias com longa cadeia de hidrocarbonetos e compostos monoterpênicos. Na fase aquosa, a amina primária forma uma solução micelar e, quando o monoterpênico é dissolvido e observa-se a formação espontânea de minúsculas gotículas de SUPRAS, resultando em rápida separação de fases e formação de fase rica em anfífilos (Bogdanova et al., 2022).

O THF, ou qualquer outro solvente usado como dispersante, desempenha um papel duplo, causa dispersão das moléculas anfífilas de ácidos graxos na solução da amostra, além de promover sua automontagem (Musarurwa; Tavengwa, 2021b).

Sistemas SUPRA com micelas invertidas são formados em misturas de água e uma grande variedade de solventes orgânicos próticos (água, metanol e etanol) e apróticos (acetona, a acetonitrila e THF). A mistura água e THF tem sido amplamente utilizada, devido ao fato que com a baixa constante dielétrica e à predominância de forças de ligação dispersivas, o THF potencializa a extração de compostos apolares. Quando misturado com água (de alta constante dielétrica e predominância de forças de ligação por pontes de hidrogênio) resulta em misturas de ampla polaridade e solubilidade que favorecem a formação de SUPRAS em uma faixa mais ampla de composição. O etanol, como solvente prótico e mais polar, proporciona uma contribuição mais equilibrada das forças de dispersão, polares e de ligações de hidrogênio para melhorar a extração de compostos polares e moderadamente polares (Dueñas-Mas et al., 2022).

A adição de sal em amostras aquosas proporciona efeito *salting out*, que facilita a difusão dos analitos. A presença de sal eletrolítico na amostra aquosa aumenta sua força iônica, reduzindo a solubilidade do analito na solução aquosa, o que por sua vez facilita a difusão dos compostos alvo na fase orgânica. Ao mesmo tempo, grandes quantidades de sais

podem dificultar o processo de extração, justamente pelo aumento da força iônica do sistema (Elencovan et al., 2022).

Apesar das diferentes interações que os anfífilicos podem ter com os analitos, os estudos usando solventes supramoleculares costumam ser aplicados em um conjunto de analitos com características parecidas, por exemplo, analitos da mesma classe química, análogos estruturais semelhantes em grupos químicos, Log de Kow, massa molar e solubilidade.

Dueñas-Mas e colaboradores (2022) analisaram bisfenol A e seis análogos estruturais, com Log de Kow que varia de 1,2 a 3,36 (Dueñas-Mas et al., 2022). Algar e colaboradores (2022) estudaram a extração supramolecular de sete hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, com características químicas semelhantes e com Log de Kow maior que 5,0 (Algar et al., 2022). Dalmaz e Ozal (2023), López-Jiménez e colaboradores (2010) e Soylak e colaboradores (2023) analisaram corantes do tipo Sudão em diversas espécies de especiarias (Dalmaz; Ozal, 2023) (López-Jiménez et al., 2010) (Soylak et al., 2023).

Entre os pesticidas estudados em processos de microextração supramolecular, observa-se a predominância de moléculas com polaridade de intermediária a alta. Zhao (2018) analisaram fungicidas quirais da classe dos triazoles, triadimefon e triadimenol com Log de Kow 2,77 e 2,9 respectivamente (Zhao et al., 2018). Gorji (2019) estudaram a microextração supramolecular de quatro inseticidas organofosforados e um acaricida com Log de Kow de 3,69 a 6,37 (Gorji et al., 2019).

2.5 OTIMIZAÇÃO UNI E MULTIVARIADA

Em um método analítico, diversas variáveis podem influenciar a qualidade do sistema estudado e, conseqüentemente, a magnitude das respostas obtidas. A crescente demanda por métodos analíticos com melhores desempenhos, rápidos e de baixo custo aumentou também a busca por “otimizar” o processo. Segundo a literatura, o termo “otimizar” refere-se a melhorar o desempenho do processo analítico, ou seja, descobrir as condições em que a melhor resposta é obtida (Bezerra et al., 2008 e Candiotti et al., 2014). Isso é feito por meio da investigação de suas variáveis, dos níveis que podem assumir e das respostas geradas pelas mudanças nas condições experimentais do sistema.

No campo do pré-tratamento de amostras, especialmente nas etapas de extração e pré-concentração, o aumento da percentagem de recuperação de uma substância é um dos

principais objetivos. Como a situação esperada é a migração completa do analito ou analitos presente na amostra para a solução final onde será realizada a análise, esta resposta deve ser maximizada, ou seja, deve ser encontrada a combinação dos fatores que produz uma recuperação máxima (Carabajal et al., 2020). As respostas geradas podem ser avaliadas de diversas maneiras, porcentagem de recuperação, sinal analítico (absorbância, intensidade de emissão e sinal elétrico), resolução entre picos cromatográficos, diferença entre condição inicial e final (Bezerra et al., 2008).

Duas estratégias de otimização podem ser aplicadas a fim de obter-se as melhores condições de resposta: univariada e multivariada. A abordagem univariada é a mais tradicional, monitorando a influência de um fator de cada vez em uma resposta experimental, enquanto os demais são mantidos constantes. A grande desvantagem dessa abordagem é não incluir os efeitos interativos entre as variáveis estudadas e, como consequência, não retrata os efeitos completos da variável na resposta. Também, esse tipo de abordagem aumenta o número de experimentos necessários, levando ao aumento de tempo e de custos (Bezerra et al., 2008).

Quando uma estratégia multivariada é utilizada, vários fatores são estudados simultaneamente em um número predefinido de experimentos, variando simultaneamente os níveis de todos os fatores envolvidos no processo. Dessa forma, é possível conhecer a fundo o sistema estudado, tendo um conhecimento geral sobre todo o domínio experimental e com os resultados obtidos, um modelo matemático pode ser construído para relacionar a resposta às condições experimentais. Ainda, é possível encontrar o ótimo absoluto no domínio estudado, enquanto a abordagem univariada pode encontrar o máximo local, dependente das condições iniciais da análise (Leardi, 2009).

Esse tipo de abordagem reduz a quantidade de experimentos necessários, reduzindo assim, custos, esforços laboratoriais e tempo e possibilita estudar as interações entre fatores e as relações não lineares com as respostas (Candioti et al., 2014).

Normalmente, a otimização multivariada dos processos de extração é feita em duas etapas, triagem seguida de otimização. Os projetos de triagem, como fatorial completo e fatorial fracionário são usados para identificar as variáveis potenciais de um pequeno número de experimentos. Posteriormente, os delineamentos compostos centrais, Box-Behnken e matriz de Doehlert são abordagens secundárias para identificar os níveis críticos do fator mais importante obtido a partir de um delineamento de triagem. O desenho a ser escolhido depende

do tipo e da quantidade de variáveis a serem estudadas, da finalidade de sua utilização e das preferências do analista no processo de extração (Narenderan et al., 2019).

Os experimentos de triagem são usados para selecionar os fatores que tem o efeito mais significativo para a otimização do método de extração e são comumente empregados no qual um grande número de variáveis é examinado com um número mínimo de experimentos (Narenderan et al., 2019).

O planejamento fatorial completo pode ser denotado por 2^k onde k é o número de fatores estudados. Os fatores são estudados em dois níveis, alto (+1) e baixo (-1), sendo considerado o melhor procedimento de otimização, pois cobre todo o espaço de projeto, fornecendo assim todas as informações sobre os fatores estudados e suas interações, porém, com o aumento do número de fatores, há um aumento no número de experimentos. A escolha do intervalo em que o fator pode ser variado no sistema em estudo geralmente é feita com base nas informações da literatura ou no conhecimento prévio do analista (Carabajal et al., 2020).

Quando um número relativamente grande de ensaios experimentais é necessário para um planejamento fatorial completo, uma fração pode ser usada, como metade, um quarto e assim por diante. Assim, o planejamento fatorial fracionário pode investigar fatores em dois níveis usando experimentos de 2^{k-p} , onde p indica o grau de fracionamento ($p = 1, 2, 3, n$) e possibilita encontrar um projeto que reduza significativamente a quantidade de experimentos sem comprometer a identificação adequada dos fatores críticos (Ahmed et al., 2022).

Os fatores significativos identificados nos projetos de triagem são posteriormente submetidos à otimização com base na sua eficiência de extração para estabelecer as condições ou configurações ideais de um experimento. Os planejamentos adotados nessa etapa costumam cobrir o domínio experimental no ponto central para estimar erros experimentais (Narenderan et al., 2019).

Um dos planejamentos mais adotados na química analítica é Matriz de Doehlert, uma alternativa prática e econômica em relação aos outros planejamentos de segunda ordem. Desenvolvido por David H. Doehlert em 1970, descreve um domínio circular para duas variáveis, esférico para três e hiperesférico para mais de três variáveis. Tem como vantagens a necessidade de poucos pontos experimentais e alta eficiência, porém, suas matrizes não são rotacionáveis como em outros planejamentos, o que não significa perda da qualidade necessária para o seu uso efetivo nos procedimentos de otimização (Novaes et al., 2017).

O número de experimentos (N) necessários para aplicação do planejamento é dado por $N = k^2 + k + PC$, onde k é o número de variáveis e PC é o número de réplicas do ponto central. Cada variável pode ser estudada em diferentes números de níveis, o que é importante quando se tem interesse que alguns fatores sejam estudados em quantidades maiores ou menores de níveis (Cerqueira et al., 2021).

Quando um experimento gera apenas uma resposta, a avaliação do efeito dos fatores e a otimização é um processo fácil. Porém, quando o sistema gera mais de uma resposta (por exemplo, em uma determinação simultânea de duas ou mais substâncias) há a necessidade de avaliar o efeito dos fatores sobre todas as respostas em um conjunto (Zolgharnein et al., 2013).

Para múltiplas otimizações de resposta, a aplicação da função de desejabilidade de Deringer é um método convencional e direto. Este método baseia-se na definição de uma desejabilidade individual (d_i) para cada resposta obtida, em um intervalo compreendido entre zero e um. Para este intervalo, zero significa um valor indesejável enquanto um significa um valor desejável (Gorla et al., 2016). O cálculo da desejabilidade de cada resposta é dado pela Equação 1:

$$\begin{aligned} d_i &= 0, \text{ se } Y_i \leq L \\ d_y &= \left(\frac{Y_i - L}{H - L} \right)^r \\ d_i &= 1, \text{ se } Y_i \geq H \end{aligned} \quad \text{Equação 1}$$

Em que y é resposta obtida experimentalmente e L e H são o menor e o maior valor de sinal, respectivamente, obtidos em todo o experimento. Após o cálculo da desejabilidade para cada resposta obtida, deve-se combiná-las em uma desejabilidade global (D_g), a qual expressa a média geométrica das desejabilidades individuais, empregando a Equação 2.

$$D_g = \sqrt[n]{d_1^{p1} * d_2^{p2} * d_3^{p3} * \dots * d_m^p} \quad \text{Equação 2}$$

2.6 QUÍMICA ANALÍTICA VERDE

O conceito de química analítica verde (GAC – *Green Analytical Chemistry*) derivou dos ideais propostos pela química verde. Esta área de atividade relativamente nova, desde o

ano 2000, diz respeito ao papel dos químicos analíticos em tornar as práticas laboratoriais mais ecológicas, e ganhou muito interesse entre os pesquisadores, que passaram a empregar esforços no desenvolvimento de instrumentação e metodologias para reduzir o impacto negativo das análises químicas no meio ambiente e permitir a implementação de princípios de desenvolvimento sustentável nos laboratórios analíticos (Galuszka et al., 2013).

Na abordagem proposta por Galuszka e colaboradores (2013), os doze princípios que guiam a química verde são:

1. Técnicas analíticas diretas devem ser aplicadas para evitar o tratamento da amostra.
2. Tamanho mínimo de amostra e número mínimo de amostras são objetivos.
3. Medições *in situ* devem ser realizadas.
4. A integração de processos e operações analíticas economiza energia e reduz o uso de reagentes;
5. Métodos automatizados e miniaturizados devem ser selecionados;
6. A derivatização deve ser evitada;
7. A geração de um grande volume de resíduos analíticos deve ser evitada e deve ser fornecida uma gestão adequada dos resíduos analíticos;
8. Métodos multianalitos ou multiparâmetros são preferidos em vez de métodos que usam um analito de cada vez;
9. O uso de energia deve ser minimizado;
10. Os reagentes obtidos de fontes renováveis devem ser preferidos;
11. Os reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos;
12. A segurança do operador deve ser aumentada.

Considerando um procedimento de medição química de uma substância, várias etapas são necessárias, como amostragem, preparação da amostra, medição analítica e avaliação de dados. Porém, o 1º princípio do GAC afirma que devem ser aplicadas técnicas analíticas diretas para evitar o pré-tratamento da amostra, o que significa que a etapa de “preparação da amostra” é considerada negativa e indesejável no GAC. No entanto, em muitos casos, a realidade é que a preparação da amostra ainda é inevitável e nem todos os procedimentos de preparação da amostra são prejudiciais ao meio ambiente (González-Martín et al., 2023).

Durante a etapa de preparação da amostra, pode ser necessário a mudança da amostra para um formato compatível com o instrumento utilizado para análise ou limpeza de componentes interferentes da matriz. Em outros casos, a preparação da amostra envolve o

enriquecimento do analito para atender às necessidades de sensibilidade do método analítico (López-Lorente et al., 2022).

As primeiras metodologias de preparação de amostras eram tediosas, demoradas e, consumiam grandes quantidades de recursos que resultavam na geração de resíduos laboratoriais perigosos, sendo fonte do impacto negativo total das metodologias analíticas no meio ambiente (López-Lorente et al., 2022).

Com o avanço das metodologias, os processos de preparação de amostras passaram a se preocupar com o contexto da GAC. Com a intensão de abordar questões de sustentabilidade e promover a prática de preparo de amostras verdes (*Green Sample Preparation* – GSP), em 2022, López-Lorente e colaboradores divulgaram o que chamaram de dez princípios do preparo de amostra verde, com orientações para a melhoria abrangente e sistemática dos métodos de preparação de amostras e, em última análise, das metodologias analíticas.

Os dez princípios da preparação de amostras verdes, segundo López-Lorente e colaboradores são:

1. Favorecer a preparação de amostras *in situ*;
2. Usar solventes e reagentes mais seguros;
3. Visar materiais sustentáveis, reutilizáveis e renováveis;
4. Minimizar o desperdício;
5. Minimizar as quantidades de amostras, produtos químicos e materiais;
6. Maximizar o rendimento da amostra;
7. Integrar etapas e promover automação;
8. Minimizar o consumo de energia;
9. Escolher a configuração de preparação pós-amostra mais ecológica possível para análise;
10. Garantir procedimentos seguros para o operador.

Estes princípios incorporam o design necessário para alcançar o “verde” na preparação de amostras e minimizam o impacto no meio ambiente e na saúde humana, estabelecendo diretrizes sobre aspectos relacionados a solventes e reagentes, materiais, resíduos, demanda de energia, velocidade, miniaturização, automação de procedimentos e segurança do operador. Ao mesmo tempo, a abordagem GSP considera a preparação da amostra como uma

etapa do procedimento químico analítico global, conectada às etapas de amostragem e medição (López-Lorente et al., 2022).

O GSP estabelece metas comuns ao GAC, mas também possui características distintas. Comparado à abordagem GAC, o GSP introduz o princípio do rendimento da amostra, que está relacionado ao número de amostras preparadas por unidade de tempo (princípio 6). Considera que a preparação de amostras muitas vezes envolve o uso de materiais sólidos (por exemplo, sorventes em processos de microextração) e estabelece um princípio (princípio 3) que relaciona o verde do método com o fato de esses materiais serem sustentáveis, provenientes de fontes renováveis, mas também terem a capacidade de serem usados mais de uma vez. Pelo contrário, a abordagem GAC considera apenas o verde dos reagentes (como solventes, agentes de derivatização, indicadores de pH e redox), que no GSP é descrito no princípio 2 (López-Lorente et al., 2022).

CAPÍTULO I: DESENVOLVIMENTO DE MICROSSISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADO EM SOLVENTE SUPRAMOLECULAR PARA DETERMINAÇÃO DE SETE PESTICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E FARINHAS DE CEREAIS POR HPLC-DAD

3 INTRODUÇÃO

Analisando o relatório PARA apresentado pela Anvisa em 2019, observa-se que os pesticidas com maior número de detecções em amostras de alimentos de origem vegetal foram imidacloprido, tebuconazol e carbendazim. Ainda, destacam-se azoxistrobina, clorpirifós, acetamiprido e bifentrina (Anvisa, 2019). Nos resultados divulgados posteriormente, esses pesticidas continuaram aparecendo com percentual de quantificação elevado.

Os valores definidos pelas diversas agências em âmbito mundial como LMR em alimentos ou águas são variados, conforme observa-se na Quadro 2. Para a União Europeia, um LMR geral de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ se aplica quando um pesticida não é especificamente mencionado, enquanto no Brasil, não existe uma legislação geral, os limites são definidos individualmente para cada pesticida e alimento. Em águas, na União Europeia o total de pesticidas (soma de todos os pesticidas detectados e quantificados no âmbito do procedimento de monitorização) é $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e individualmente, $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. A WHO (Organização Mundial de Saúde, do inglês, *World Health Organization*) limita apenas o clorpirifós em $30 \mu\text{g L}^{-1}$. No Brasil, os limites definidos pela Anvisa são somente para o acetamiprido, clorpirifós e tebuconazol (Quadro 2).

Quadro 2 - Valores de limite máximo permitidos em águas e alimentos segundo o Conama, a Anvisa, a União Europeia (EU) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA)

Pesticida	Águas ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Aveia ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)			Arroz ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)			Trigo ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)		
	BR	UE	US	BR	UE	US	BR	UE	US	BR	UE	US
Acetamiprido	120	0,1	-	1000	50	-	300	10	-	1000	100	-
Azoxistrobina	-	0,1	-	1000	1500	1500	700	5000	5000	100	500	200
Bifentrina	-	0,1	-	700	10	-	700	10	-	700	500	-
Carbendazim	-	0,1	-	200	2000	-	50	10	-	200	100	-
Clorpirifós	30	0,1	-	200	10	-	NP	10	-	200	10	500
Imidacloprido	-	0,1	-	500	10	50	200	10	-	500	10	50
Tebuconazol	180	0,1	-	100	10	150	1000	10	-	100	10	150

NP: Não Permitido

BR: Conama - RESOLUÇÃO CONAMA Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfcdaltrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf

Anvisa - Monografias de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>.

UE: União Europeia - *European Commission*. Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg Kg⁻¹). Disponível em: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/maximum-residue-levels/eu-legislation-mrls_en

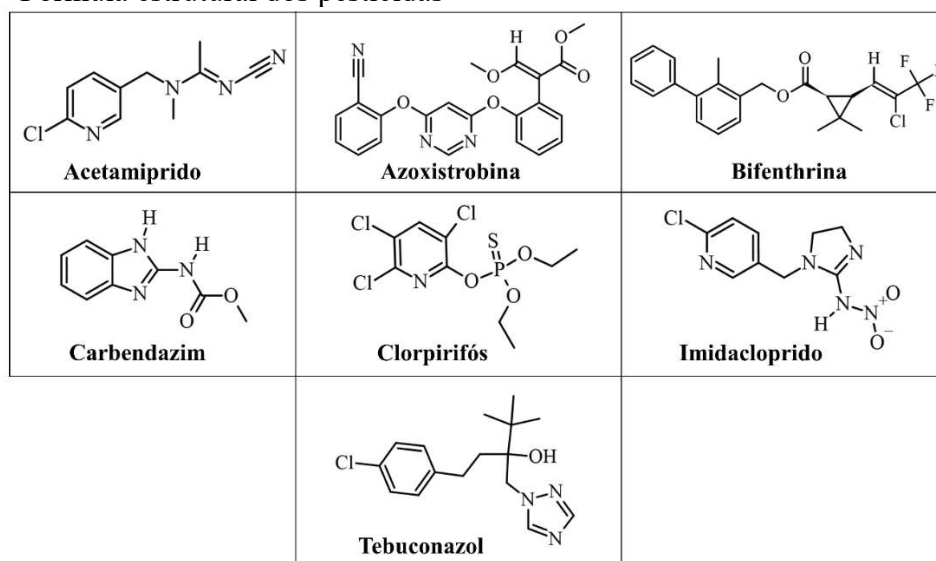
US: USEPA, Estados Unidos - *United States Environmental Protection Agency*. Pesticidas. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticides>.

Outra diferença entre as legislações é que após o banimento de um pesticida, no Brasil, o seu LMR é excluído e passa a constar como não permitido, enquanto na União Europeia, o limite ainda vigora. No Brasil, o carbendazim está em processo de banimento e no momento, está suspenso até conclusão do processo de reavaliação definitiva do produto pela Anvisa, porém, ainda é possível consultar a sua monografia no site da agência (Anvisa, 2023b).

Considerando os dados apresentados pela Anvisa, os pesticidas acetamiprido (ACE), azoxistrobina (AZO), bifentrina (BIF), carbendazim (CAR), clorpirifós (CLO), imidacloprido (IMI) e tebuconazol (TEB) foram escolhidos para a realização do estudo apresentado. Esses pesticidas são frequentemente utilizados em diversos cultivos no país, são compatíveis com a análise de multiresíduos e apresentam significativo potencial de periculosidade, porém não existem estudos na literatura que quantificam esses sete pesticidas simultaneamente. Para isso, o método de microextração supramolecular foi empregado, a fim de avaliar o seu desempenho na extração e pré-concentração de analitos com características distintas entre si.

Na Figura 3 é apresentado a estrutura química dos pesticidas mencionados.

Figura 3 - Fórmula estrutural dos pesticidas



Fonte: ANVISA, 2022.

No Quadro 3 é possível verificar que esses pesticidas foram previamente analisados e detectados de maneira simultânea em amostras de águas e alimentos de diversos países, com especial atenção para as amostras de origem brasileira, porém, não foram relatados estudos baseados na microextração simultânea dos sete agrotóxicos aqui investigados, mas foi relatada a determinação de um ou mais pesticidas na presença de outros pesticidas pelas mais diversos métodos de extração, em especial o QuEChERS.

Quadro 3 - Pesticidas analisados simultaneamente, método de extração e quantificação, tipo e origem das amostras e pesticidas detectados

Pesticidas	Pest. analisados	Método de extração	Método de quantificação	Amostras	Origem	Pesticidas detectados	Referência
CAR, IMI	10	QuEChERS	HPLC-MS/MS	Polpa e água de coco	Brasil	CAR	(Ferreira et al., 2016)
AZO, CAR, IMI	79	SPE (StrataX)	UPLC-MS	Águas de rios	Brasil	AZO, CAR, IMI, TEB	(Lima et al., 2020)
AZO, CAR, CLO, IMI, TEB	80	QuEChERS	LC-MS/MS e GC-MS/MS	Polpa congelada e farinha de maracujá	Brasil	CAR e IMI	(Mozzaquatro et al., 2022)
ACE e AZO	11	SPME	HPLC-DAD	Alface	Brasil	-	(Melo et al., 2012)
AZO e CLO	11	SLE/LTP	GC	Morango	Brasil	AZO	(Guedes et al., 2014)
AZO e TEB	11	QuEChERS	GC-MS	Pêssego em lata drenado, pêssego com calda e pêssego fresco	Brasil	TEB	(Costa et al., 2014)
AZO, CAR, CLO, IMI e TEB	30	QuEChERS	UHPLC-MS/MS	Golden berry	Brasil e Colômbia	CAR, CLO e TEB	(Muñoz et al., 2017)
ACE, AZO, CAR, CLO e TEB	81	QuEChERS	UHPLC-MS/MS	Pimentão verde	Brasil	AZO, CAR, CLO e TEB	(Kemmerich et al., 2015)
AZO, BIF, CAR, CLO, e TEB	36	SPE	GC-MS e LC-MS/MS	Couve, tomate, morango, alface e pimentão	Brasil	CLO e TEB	(Santos, E. O. Dos et al., 2019)
AZO, CAR, IMI e TEB	16	QuEChERS	LC-MS/MS	Alface	Brasil	AZO, CAR, IMI e TEB	(Konatu et al., 2017)
ACE, AZO, CLO,	57	QuEChERS	LC-ESI-MS/MS	Tomate	Brasil	ACE, AZO e IMI	(Andrade et al., 2015)

IMI e TEB							
ACE, AZO, CAR, CLO, IMI e TEB	129	QuEChERS	UHPLC-MS/MS	Tomate	Brasil	AZO, BIF, CLO, IMI e TEB	(Stringhini et al., 2021)
ACE, AZO, CAR e IMI	14	SPE	HPLC-DAD	Águas subterrâneas	Brasil	ACE, CAR, e IMI	(Carbo et al., 2008)
ACE, AZO, IMI e TEB	14	QuEChERS	UPLC-MS/MS	Maçã	China	ACE, IMI e TEB	(Chen et al., 2021)
ACE e IMI	7	DLLME e QuEChERS	HPLC-DAD	Mel	Sérvia	IMI	(Jovanov et al., 2015)
AZO, BIF, CAR, IMI e TEB	128	QuEChERS	GC	Banana	Espanha	AZO, CAR, IMI e TEB	(Carneiro et al., 2013)
BIF e TEB	41	QuEChERS	GC-MS/MS	Tomate, pepino, morango, manga e maçã	Brasil	TEB	(Lachter et al., 2020)
ACE, AZO, CAR, IMI e TEB	152	QuEChERS	LC-MS	Maçã, pêra ou uva	Brasil	CAR e IMI	(Munaretto et al., 2016)
ACE, AZO, BIF, CAR, CLO e IMI	33	QuEChERS	GC-ECD e GC-MS	Kiwi	Coreia do Sul	ACE, AZO, e CAR	(Kim et al., 2018)
ACE, AZO, BIF, CAR, CLO, IMI e TEB	170	QuEChERS	UHPLC-MS/MS	Pêra	Brasil, Argentina e Chile	ACE, CAR e CLO	(Kemmerich et al., 2018)

QuEChERS - Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro); SPE – extração em fase sólida; SPME - microextração em fase sólida; SLE/LTP - extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura; DLLME - Microextração Líquido-Líquido Dispersiva; HPLC: Cromatografia Líquida de alta eficiência; GC: cromatografia gasosa; UPHLC: cromatografia líquida de ultra eficiência; MS: Espectrometria de Massas; DAD: Detector de Matriz de Diodos; ECD: Detectores de captura de elétrons

Segundo os dados disponibilizados pela Anvisa, no Quadro 4 estão reunidas as informações a respeito da classe, grupo químico, classificação toxicológica e as culturas em que os pesticidas têm aplicação permitida no Brasil.

Quadro 4 - Classe, grupo químico, classificação toxicológica, fórmula e peso molecular, Log Kow e pKa dos pesticidas

Pesticida	Classe[†]	Grupo químico[†]	Classificação toxicológica[†]	Fórmula molecular[†]	Peso molecular (g mol⁻¹)[†]	Log K_{ow}[*]	pK_a[*]
ACE	Inseticida	Neonicotinóide	Categoria II	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222,67	0,8	Não ionizado
AZO	Fungicida	Estrobilurina	Categoria III	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	403,39	2,5	Não ionizado
BIF	Inseticida, formicida e acaricida	Piretróide	Categoria II	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₃ O ₂	422,9	6,6	Não ionizado
CAR	Fungicida	Benzimidazol	Categoria III	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	191,18	1,48	4,2 9,6
CLO	Inseticida, formicida e acaricida	Organofosforado	Categoria II	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	350,59	4,7	Não ionizado
IMI	Inseticida	Neonicotinóide	Categoria III	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255,66	0,57	Não ionizado
TEB	Fungicida	Triazol	Categoria II	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	307,82	3,7	Não ionizado

* T. Roberts, D. Huston, Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part II: Insecticides and Fungicides. 1. ed. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1999.

† ANVISA: Monografias de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>

4 OBJETIVOS

Desenvolver um método analítico baseado em solvente supramolecular para a pré-concentração simultânea de sete pesticidas e determinação por HPLC-DAD.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho do 1-decanol como solvente extrator dos pesticidas ACE, AZO, BIF, CAR, CLO, IMI e TEB;
- Otimizar as variáveis pH, 1-decanol, THF, sal e tempo de vórtice do método de microextração supramolecular usando planejamento fatorial 2^5 e matriz de Doehlert;
- Avaliar a interferência do tipo de tampão e a concentração;
- Determinar os parâmetros analíticos do método de microextração supramolecular;
- Avaliar a adequação do método aos princípios da química verde com auxílio da ferramenta AGREE;
- Aplicar o método de microextração supramolecular em amostras ambientais de águas e alimentícias de farinhas.

5 METODOLOGIA

5.1 REAGENTES E PREPARO DAS SOLUÇÕES

A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema de purificação Elga Purelab Máxima (High Wycombe, Bucks, UK), resistividade 18,2 M Ω cm. Todos os reagentes utilizados foram de qualidade analítica ou grau HPLC. Metanol (MeOH, $\geq 99,9\%$), tetraidrofurano (THF) ($\geq 99,9\%$), 1-decanol (DEC) ($\geq 98,0\%$) e cloreto de sódio (NaCl) ($\geq 99,9\%$), nitrato de sódio (NaNO₃) ($\geq 99,9\%$) e sulfato de sódio (Na₂SO₄) ($\geq 99,9\%$), ácido acético (AcOH, 99,8%), ácido fosfórico (H₃PO₄, 85,0%), ácido bórico (H₂BO₃, 99,5%), dihidrogenofosfato (NH₄H₂PO₄) e hidrogenofosfato de sódio (Na₂HPO₄) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA) todos de grau HPLC. Os padrões de pesticidas foram todos adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA).

O tampão Britton-Robinson (BR) foi preparado pela mistura de ácido bórico, ácido acético e ácido fosfórico, todos na concentração de 0,5 mol L⁻¹. O tampão fosfato (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻) foi preparado a partir do sal fosfato de sódio monobásico.

Soluções individuais foram preparadas para cada pesticida, armazenadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração. Os pesticidas ACE, AZO, BIF, CAR e CLO foram preparados em metanol, enquanto o IMI e TEB foram preparados em isopropanol, todas as soluções dos pesticidas tinham concentração de 1000 mg L⁻¹. A partir das soluções individuais, uma solução com mix de todos os pesticidas na concentração de 50 mg L⁻¹ para o ACE, BIF, CAR, CLO, IMI e TEB e 20 mg L⁻¹ para a AZO em metanol. As soluções de trabalho eram preparadas diariamente, a partir da solução estoque, por dissolução do volume adequado em água ultrapura.

5.2 INSTRUMENTAÇÃO

As determinações de pH foram realizadas em pHmetro digital de laboratório Metrohm® pH 827 (Herisau, Suíça) equipado com um eletrodo de vidro Metrohm® Primatrode com sensor de temperatura integrado (Herisau, Suíça). A agitação em vortex foi realizada com o oscilador de vórtice SCIOLOGEX® MX-S (Rocky Hill, CT, EUA) e a centrifugação em uma centrífuga QUIMIS® 0222T2 (Diadema, SP, Brasil). As medidas dos tamanhos das gotículas foram determinadas por espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic Light Scattering* - DLS), instrumento NANOTRAC Wave II da Microtrac MRB (Microtrac Retsch GmbH, Haan/Duesseldorf, Alemanha), equipado com uma fonte de laser de 780 nm e 3 mW. Para avaliar a influência do pH no tamanho das gotas de coacervado, foi realizado o procedimento de microextração supramolecular em condições otimizadas, utilizando pH 6,3 e pH 9,0 e 10 e após extração assistida por vórtice de 30 s, um volume de 1,0 mL de coacervato foi adicionado à cubeta. Os tamanhos relatados são todos médias de 3 execuções sequenciais de 30 segundos cada.

5.3 DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA

As determinações cromatográficas foram realizadas utilizando cromatógrafo a líquido com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD) modelo LC-20AT, Shimadzu (Tóquio, Japão). A fase estacionária consistiu em uma coluna C₁₈, (Phenomenex-250 mm × 4.5 mm, tamanho de partícula de 5 µm) e pré-coluna (Phenomenex®, 4.0 mm × 30 mm i.d., 5 µm). A temperatura do forno foi ajustada em 30 °C e o vazão de fase móvel em 0,7 mL min⁻¹, com volume de injeção de 20 µL utilizando um injetor manual Rheodyne®. A fase móvel era

constituída de um gradiente entre MeOH e H₂O, sendo: H₂O (30: 70, v/v), 0.00 – 2.00 min; MeOH: H₂O (50: 50, v/v), 2.00 – 3.00 min; MeOH: H₂O (50: 50, v/v), 3.00 – 8.00 min; MeOH: H₂O (95: 5, v/v), 8.00 – 25.00 min; MeOH: H₂O (50: 50, v/v), 25.00 – 38.00 min; MeOH: H₂O (30: 70, v/v), 38.00 – 40.00 min. Na Tabela 1 são apresentados o tempo de retenção em ordem crescente e o comprimento de onda de cada pesticida.

Tabela 1 - Pesticidas, sigla, tempo de retenção em ordem crescente e comprimento de onda

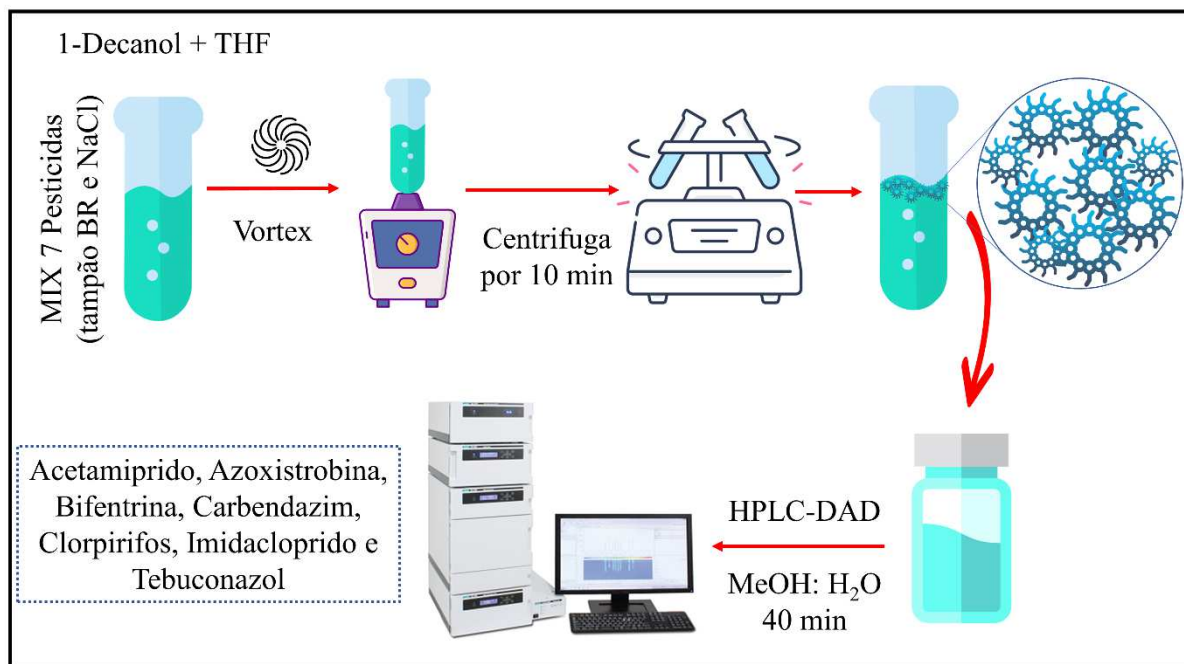
Pesticida	Sigla	Tempo de retenção (min)	Comprimento de onda (nm)
Imidacloprido	IMI	12,5	270
Acetamiprido	ACE	13,7	245
Carbendazim	CAR	15,7	200
Azoxistrobina	AZO	25,5	200
Tebuconazol	TEB	29,3	200
Clorpirifós	CLO	33,3	200
Bifentrina	BIF	36,4	200

5.4 PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR

Em um tubo de ensaio, foram adicionados 10,0 mL de solução aquosa dos pesticidas, com concentração de 1000 µg L⁻¹ e pH ajustado em 4,0 com uso de tampão Britton-Robinson (BR) 0,01 mol L⁻¹. Em seguida, 100,0 µL de 1-decanol e 400,0 µL de THF (sem adição de NaCl nesse primeiro experimento) e a mistura foi agitada por um oscilador de vórtice durante 1 min e submetida a centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos. Com uma micropipeta, a fase rica contendo 1-decanol e os analitos era retirada, transferida para frascos *vial* e analisada por HPLC-DAD.

As etapas da microextração supramolecular estão ilustradas na Figura 4.

Figura 4 - Processo esquemático de automontagem e coacervação durante as etapas de microextração supramolecular dos pesticidas



Fonte: Autoria própria.

5.5 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR

A microextração e pré-concentração dos pesticidas utilizando o método supramolecular foi otimizada por meio de um planejamento fatorial 2^5 considerando as variáveis: pH da solução, o volume adicionado de 1-decanol, o volume adicionado de THF, a concentração de NaCl na solução e o tempo de agitação em vórtice. Os níveis inferiores e superiores estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores das variáveis e níveis codificados do planejamento fatorial 2^5

Variáveis	Níveis	
	(- 1)	(+ 1)
pH	2,0	6,0
1-decanol (μL)	100,0	200,0
THF (μL)	300,0	600,0
NaCl (% m/v)	0,0	5,0
Vórtice (min)	0,50	2,00

A sequência de experimentos foi realizada aleatoriamente e em duplicata. A concentração dos pesticidas em solução aquosa foi mantida em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a AZO e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os demais pesticidas, na presença de tampão BR 0,01 mol L^{-1} .

Com todos os experimentos do planejamento fatorial 2^5 realizados, a função desejabilidade de Derringer-Suich foi utilizada para obter a melhor condição de microextração para todos os pesticidas, em que os valores dos pesos foram iguais a 1 para todos os pesticidas. Essa função transforma as propriedades medidas de cada critério em uma escala adimensional denominada desejabilidade (d). A escala da função de desejabilidade individual varia entre $d=0$ para uma resposta completamente indesejável e, $d=1$ para uma resposta completamente desejável. Para transformar os critérios individuais em valores de desejabilidade, dois tipos de transformação são possíveis: uma transformação unilateral e uma bilateral. Buscando maximizar a resposta (valor alvo como a resposta mais desejável), a transformação unilateral foi aplicada conforme a Equação 1, em que Y_i é a resposta do ensaio, r é o peso, L e H são as respostas mais indesejável e desejável de todos os ensaios, respectivamente. Os valores dos pesos foram iguais para todos os pesticidas.

$$\begin{aligned}
 d_i &= 0, \text{ se } Y_i \leq L \\
 d_y &= \left(\frac{Y_i - L}{H - L} \right)^r \\
 d_i &= 1, \text{ se } Y_i \geq H
 \end{aligned}
 \tag{Equação 1}$$

Após o cálculo da desejabilidade para cada resposta obtida, deve-se combiná-las em uma desejabilidade global (D_g), a qual expressa a média geométrica das desejabilidades individuais, através da Equação 2.

$$D_g = \sqrt[n]{d_1^{p_1} d_2^{p_2} d_3^{p_3} \dots d_m^{p_m}}
 \tag{Equação 2}$$

Sendo, m é o número de respostas consideradas para cada experimento durante a otimização e p o peso atribuído a cada resposta. Após estabelecer a significância de cada fator e suas interações, foi empregado uma matriz de Doehlert a fim de se obter as condições ótimas para o sistema de extração.

Os dados obtidos nos experimentos do planejamento fatorial da matriz de Doehlert foram processados usando o pacote de software StatSoft STATISTICA 7.0 (Tulsa, USA, 1984-2004).

5.6 AVALIAÇÃO DO TAMPÃO

A influência do tipo de tampão e sua concentração foi avaliada de forma univariada, após a obtenção das condições ótimas. O tampão BR (tampão Britton-Robinson) e fosfato, foram testados na concentração 0,01 mol L⁻¹. Após, variou-se a concentração do tampão em 0,1; 0,05, 0,01 e 0,005 mol L⁻¹.

5.7 AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE EXTRATOR E DISPERSOR

A adição do solvente extrator e do dispersor separadamente ou a síntese externa do solvente supramolecular foi avaliada. O volume de solvente supramolecular foi sintetizado mantendo a proporção definida na otimização das variáveis anteriormente descritas.

5.8 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS

Sob condições otimizadas de microextração supramolecular, três curvas analíticas para cada analito foram obtidas, todas em meio aquoso: a primeira com volume de solução de 10 mL passando pelo processo de microextração supramolecular, a segunda com 40 mL de volume de solução passando pelo processo de microextração supramolecular e a terceira injetando a solução padrão diretamente no sistema cromatográfico, sem a etapa de microextração supramolecular.

Com a obtenção da equação da reta das curvas analíticas, calculou-se o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), de acordo com a IUPAC (Equações 3 e 4 respectivamente) (Long, Gary L.; Winefordner, 1983). Em que *std* é o desvio padrão da leitura de dez brancos e *m* o coeficiente angular da curva analítica.

$$LD = \frac{3 \text{ std}}{m} \quad \text{Equação 3}$$

$$LQ = \frac{10 \text{ std}}{m} \quad \text{Equação 4}$$

As precisões inter e intradia foram calculadas para duas concentrações após o processo de microextração supramolecular, sendo a primeira de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de AZO e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ do ACE, BIF, CAR, CLO, IMI e TEB. A segunda concentração de 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ de AZO e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ do ACE, BIF, CAR, CLO, IMI e TEB. Os desvios padrão relativos (DPR, %) foram calculados para determinar a precisão.

5.9 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Amostras ambientais de águas superficiais foram coletadas em dois lagos e um riacho. O Lago Schmidt é localizado na cidade Apucarana, na região norte do Paraná - BR (coordenadas: 23°32'12.2"S 51°25'39.9"W), a coleta foi realizada dia 27/11/2021. O Lago Igapó localizado na cidade de Londrina, também na região norte do Paraná - BR (coordenadas: 23°19'15.2"S 51°10'54.9"W) no qual a coleta foi realizada em 19/01/2022. O riacho Sol e Ouro localizado na cidade de Medianeira, região oeste do Paraná - BR (coordenadas: 25°20'37.7"S 54°05'47.1"W) em que a coleta foi realizada em 27/12/2021. Todas as amostras foram recolhidas em frascos âmbar e ajustadas a pH 2,0 pela adição de ácido sulfúrico concentrado e mantidas sob refrigeração durante o deslocamento. Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de Nylon® de 0,45 μm (GVS Filter Technology, Morecambe, Reino Unido) para remover partículas em suspensão e armazenadas no refrigerador sob proteção de luz até a análise.

Em um tubo de ensaio, adicionou-se 40 mL da amostra, com o pH ajustado com a adição do tampão e do sal nas condições ótimas e, em seguida, foi adicionado 1-decanol e o THF. O tubo foi agitado em vortex e centrifugado. A fase rica foi separada da fase aquosa e levada para análise no HPLC-DAD. Os experimentos de adição e recuperação foram realizados em três níveis, a fim de verificar a exatidão e possíveis efeitos de matriz do método.

5.10 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS

A aplicação do método de microextração supramolecular em amostras alimentícias foi baseada no procedimento descrito por (ALóthman et al., 2020 e (Caballero-Casero et al., 2018 e (Lara et al., 2020 e (López-Jiménez et al., 2010) com pequenas alterações. Diferentes tipos de farinhas de cereais, trigo, aveia e arroz, foram adquiridos em mercados locais de

Londrina - PR e armazenados conforme recomendação da embalagem até a análise. Para cada amostra, 6,0 g de farinha foram adicionados a 300 mL de água tamponada com tampão BR e NaCl e deixados em *overnight*. Após o período de descanso, a amostra foi filtrada e o sobrenadante foi evaporado lentamente a 60 °C em chapa de aquecimento até obter-se 40 mL de volume e o procedimento de microextração foi realizado, com a adição de 1-decanol e THF. Em seguida o tubo foi agitado e centrifugado. Com a separação de fases, a fase rica foi coletada e injetada em HPLC-DAD. Experimentos de adição e recuperação foram realizados em triplicata, seguindo o mesmo procedimento acima descrito, com a adição do LMR permitido para cada pesticida segundo a Anvisa (Quadro 2) e com a adição de 200,0 µg L⁻¹, a fim de verificar a exatidão e possíveis efeitos de matriz do método.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR

Para verificar qual seria o comportamento dos analitos após o procedimento de extração por solvente supramolecular e avaliar o ganho de sinal obtido com essa etapa de pré-concentração, realizou-se a injeção da fase rica obtida (1-decanol e os pesticidas extraídos) com um experimento usando 10,0 mL de uma solução com sete pesticidas $1000,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4,0 tamponado com BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 100,0 μL de 1-decanol, 400,0 μL de THF e 60 s de vórtice. A área de cada analito é comparada visualmente com a área obtida com a injeção da solução com os sete pesticidas na concentração de $1000,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4,0 tamponado com BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ usada no procedimento. Observa-se para todos os pesticidas, o aumento na intensidade de sinal.

Na Figura 5 são apresentados os cromatogramas obtidos nos testes iniciais de microextração supramolecular com os pesticidas.

Figura 5 - Cromatogramas da injeção da fase rica do experimento com 10,0 mL da solução de sete pesticidas na concentração de $1000,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4,0, tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 100,0 μL de 1-decanol, 400,0 μL de THF e 60 s de vórtice e injeção direta da solução com sete pesticidas na concentração de $1000,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em pH 4, tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Comprimento de onda dos cromatogramas: $\lambda = 220 \text{ nm}$

Verificou-se a necessidade de um ajuste nas concentrações para melhorar a eficiência de pré-concentração de alguns analitos, como IMI, ACE, CAR e TEB que poderiam estar com a pré-concentração suprimida em razão da alta pré-concentração dos analitos com maior afinidade pelo extrator 1-decanol, como é o caso da AZO (sinal analítico cortado para facilitar a visualização dos outros analitos), CLO e BIF.

Desse modo, realizou-se a injeção da fase rica obtida em um experimento com 10,0 mL da solução de pesticidas, sendo AZO na concentração $200 \mu\text{g L}^{-1}$ e os outros seis pesticidas na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, pH 4,0, tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $100,0 \mu\text{L}$ de 1-decanol, $400,0 \mu\text{L}$ de THF e 60 s de vórtice (Figura 6). Nota-se uma visível melhora na pré-concentração dos pesticidas com o aumento do sinal analítico obtido para o IMI, ACE, CAR e TEB.

Figura 6 – Cromatograma da injeção da fase rica do experimento com 10,0 mL da solução de pesticida com a AZO $200 \mu\text{g L}^{-1}$ e os outros seis pesticidas $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e pH 4,0, tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $100,0 \mu\text{L}$ de 1-decanol, $400,0 \mu\text{L}$ de THF e 60 s de vórtice. Comprimento de onda do cromatograma: $\lambda = 220 \text{ nm}$

Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, optou-se em realizar os experimentos com a concentração da AZO em $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$, e os demais analitos em $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

6.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR

6.2.1 Planejamento fatorial para triagem das variáveis

O método de extração foi otimizado empregando um planejamento fatorial 2^5 . Para a otimização das respostas obtidas, as áreas cromatográficas (Tabela 3) foram convertidas em desejabilidade individual (d_i), empregando-se a Equação 1. Com a desejabilidade individual de cada pesticida em cada experimento, a desejabilidade global (D_g) do experimento foi calculada, empregando-se a Equação 2. Os valores de d_i e consequentemente, D_g , variam de 0 a 1, sendo 0 é uma resposta indesejada e, 1 uma resposta desejada, assim, apenas um valor de desejabilidade pode fornecer uma visão geral de todos os analitos e variáveis consideradas. Esses valores são apresentados na Tabela 4.

Com os resultados obtidos e com a intenção de avaliar a influência dos fatores estudados sobre o sistema, construiu-se um diagrama de Pareto, a partir da desejabilidade global de cada experimento, apresentado na Figura 7.

Tabela 3 - Planejamento fatorial 2⁵, com as variáveis decodificadas, codificadas (entre parênteses) e respostas obtidas (área para cada pesticida) em duplicata

Experimento	pH	DEC (µL)	THF (µL)	NaCl (%m/v)	VOR (s)	ACE	AZO	BIF	CAR	CLO	IMI	TEB
1	2,0	100,0	300,0	0,0	30	343334	5209078	3105253	37264	1798160	73922	2620027
	(-1)	(-1)	(-1)	(-1)	(-1)	339372	5008380	3138932	39240	1698896	74309	2413343
2	6,0	100,0	300,0	0,0	30	366439	5396423	1967548	1771418	1687564	81027	2590870
	(1)	(-1)	(-1)	(-1)	(-1)	363457	5498180	2066770	1713378	1533530	76754	2630847
3	2,0	200,0	300,0	0,0	30	297394	3157512	1413235	39564	918268	70818	1376696
	(-1)	(1)	(-1)	(-1)	(-1)	312028	3170397	1526595	39476	919002	73317	1442229
4	6,0	200,0	300,0	0,0	30	273368	3437732	677602	1464902	1058032	73960	1420138
	(1)	(1)	(-1)	(-1)	(-1)	270636	3451987	691713	1589567	1088259	75752	1651949
5	2,0	100,0	600,0	0,0	30	297810	4949394	3286799	83600	1894416	84460	2319784
	(-1)	(-1)	(1)	(-1)	(-1)	308924	4945788	3218945	99907	1964170	92537	2477876
6	6,0	100,0	600,0	0,0	30	361523	6007350	1159337	1985489	1770247	103865	3084488
	(1)	(-1)	(1)	(-1)	(-1)	379310	6046632	1121608	2048631	1836330	95943	2854820
7	2,0	200,0	600,0	0,0	30	358095	2755859	1258269	64946	638596	70663	1218546
	(-1)	(1)	(1)	(-1)	(-1)	346686	2708763	1163151	68975	631014	71955	1184156
8	6,0	200,0	600,0	0,0	30	270895	3267507	1246973	1484920	1213321	73977	1636663
	(1)	(1)	(1)	(-1)	(-1)	242083	3167129	1226906	1488022	1176699	79802	1373788
9	2,0	100,0	300,0	5,0	30	408125	5985770	3557465	54620	1756618	111604	2563295
	(-1)	(-1)	(-1)	(1)	(-1)	440597	6112933	3162574	52647	1843410	92735	2616250
10	6,0	100,0	300,0	5,0	30	195811	1967945	1098632	790984	582228	53089	750653
	(1)	(-1)	(-1)	(1)	(-1)	201041	2086877	990594	778744	609757	53224	786502
11	2,0	200,0	300,0	5,0	30	402625	3739396	1783178	57076	1015730	87389	1586532
	(-1)	(1)	(-1)	(1)	(-1)	415831	3676864	1636797	65514	1018863	99635	1608585
12	6,0	200,0	300,0	5,0	30	632515	3383967	2488817	1866155	923241	122824	1394339
	(1)	(1)	(-1)	(1)	(-1)	602069	3636442	2846020	2001343	926515	110012	1494743
13	2,0	100,0	600,0	5,0	30	414572	6631561	3889252	47475	1889020	134375	2658749
	(-1)	(-1)	(1)	(1)	(-1)	399961	6357191	3835323	54323	2049335	127777	2656510

14	6,0	100,0	600,0	5,0	30	371217	6088809	5721885	2349962	1763607	111894	2594291
	(1)	(-1)	(1)	(1)	(-1)	347357	5996460	5721613	2472424	1529662	109876	2620432
15	2,0	200,0	600,0	5,0	30	325029	3363557	2032279	46635	998875	100158	1443903
	(-1)	(1)	(1)	(1)	(-1)	365500	3572029	2088004	52543	1036124	112038	1461730
16	6,0	200,0	600,0	5,0	30	403925	3494306	2375724	1907541	872232	99244	1522610
	(1)	(1)	(1)	(1)	(-1)	401602	3424624	2577111	1962763	969088	105819	1516980
17	2,0	100,0	300,0	0,0	120	161635	1644187	1047172	64461	450296	44544	801486
	(-1)	(-1)	(-1)	(-1)	(1)	163522	1424303	1117705	67087	459272	43994	792458
18	6,0	100,0	300,0	0,0	120	346110	5468883	1992816	1873807	2003453	79700	2733087
	(1)	(-1)	(-1)	(-1)	(1)	347717	5938068	1919902	1769134	1963849	78403	2947735
19	2,0	200,0	300,0	0,0	120	310359	3013673	3776330	54303	872762	64339	1340252
	(-1)	(1)	(-1)	(-1)	(1)	303093	3090280	3087724	56237	875521	60810	1249539
20	6,0	200,0	300,0	0,0	120	328534	2672224	1242287	1403046	893203	73697	1626223
	(1)	(1)	(-1)	(-1)	(1)	332292	2753508	1129746	1552176	965141	83411	1667120
21	2,0	100,0	600,0	0,0	120	406084	5093355	4623685	74796	1771153	76615	2081732
	(-1)	(-1)	(1)	(-1)	(1)	403888	5136822	4848379	76906	1769771	74213	2070371
22	6,0	100,0	600,0	0,0	120	388135	5457554	4195716	1842657	1819440	78463	2700486
	(1)	(-1)	(1)	(-1)	(1)	399518	5540829	4532007	1877553	1937128	74267	2549605
23	2,0	200,0	600,0	0,0	120	169061	1754888	1224837	87996	674708	48095	866408
	(-1)	(1)	(1)	(-1)	(1)	185024	1934333	1225214	89202	718992	46390	923823
24	6,0	200,0	600,0	0,0	120	227218	2984705	1576350	1467019	874702	77827	1432428
	(1)	(1)	(1)	(-1)	(1)	227109	3203082	1529236	1372486	877440	81861	1549815
25	2,0	100,0	300,0	5,0	120	375257	3994691	4200388	63271	1311496	56457	1505721
	(-1)	(-1)	(-1)	(1)	(1)	314938	3423645	4010721	68860	1270673	65025	1555946
26	6,0	100,0	300,0	5,0	120	396607	6492489	6351438	2138764	1938585	88087	2393875
	(1)	(-1)	(-1)	(1)	(1)	403684	6720852	6389909	2483224	2204026	95208	2104304
27	2,0	200,0	300,0	5,0	120	409874	3731996	3861265	58039	910780	98455	1436516
	(-1)	(1)	(-1)	(1)	(1)	423547	3825025	3620738	54035	893077	88121	1558602

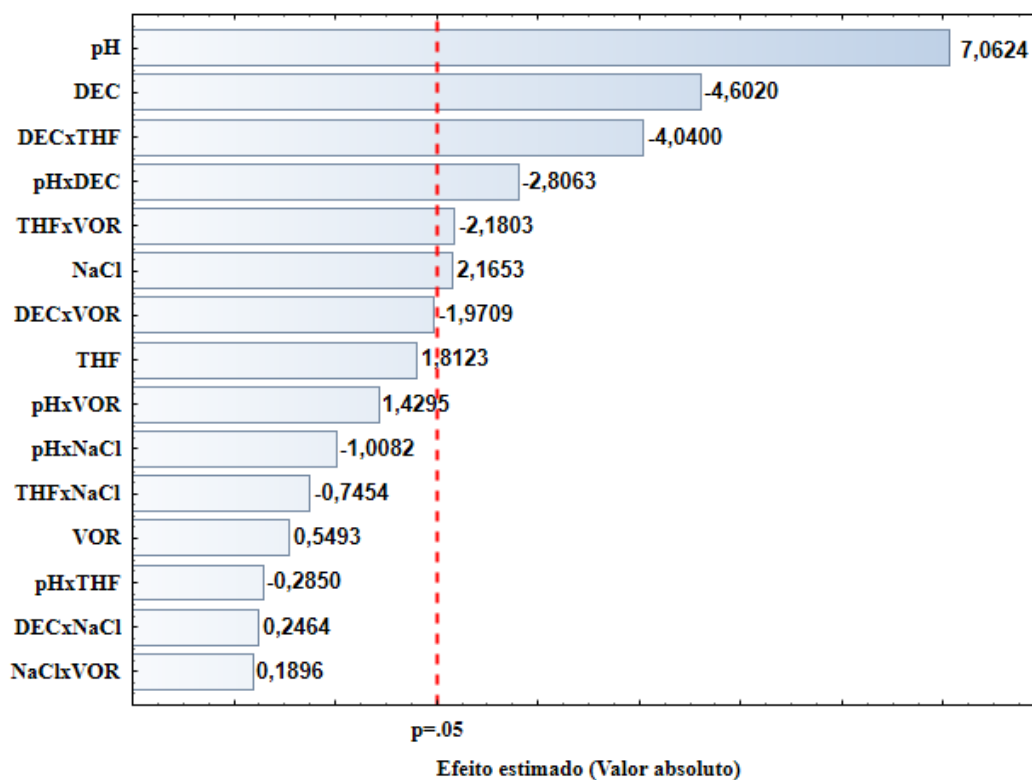
28	6,0	200,0	300,0	5,0	120	434685	3752365	4186315	1987935	1017776	90891	1535820
	(1)	(1)	(-1)	(1)	(1)	421517	3717329	4150168	1854122	909108	94392	1520304
29	2,0	100,0	600,0	5,0	120	470385	2773625	3249755	77144	811375	110734	1088604
	(-1)	(-1)	(1)	(1)	(1)	497695	2716356	3470771	83759	753504	93376	1097019
30	6,0	100,0	600,0	5,0	120	561475	6001630	5745198	2732439	1627647	140073	2628584
	(1)	(-1)	(1)	(1)	(1)	565229	6368657	5299465	2575128	1659497	120387	2668941
31	2,0	200,0	600,0	5,0	120	329597	3196620	4049720	64821	956963	101031	1291976
	(-1)	(1)	(1)	(1)	(1)	321247	3204319	4493543	65298	921794	105679	1344017
32	6,0	200,0	600,0	5,0	120	540890	3243759	423376	1818282	871624	132435	1331395
	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	549465	3445494	445728	1852859	937171	133596	1309791

Tabela 4 - Desejabilidade individuais (d_i) e desejabilidade global (D_g) dos experimentos em duplicata

Experimento	d_i ACE	d_i AZO	d_i BIF	d_i CAR	d_i CLO	d_i IMI	d_i TEB	D_g
1	0,3859	0,7148	0,4524	0,0000	0,8678	0,3075	0,8010	0,0000
	0,4010	0,6767	0,4531	0,0000	0,7105	0,3383	0,7527	0,0000
2	0,4349	0,7523	0,2605	0,6434	0,7966	0,3819	0,7885	0,5386
	0,4559	0,7692	0,2727	0,6602	0,6157	0,3656	0,8534	0,5324
3	0,2883	0,3034	0,1670	0,0009	0,3013	0,2750	0,2682	0,1157
	0,3386	0,3297	0,1818	0,0001	0,2635	0,3273	0,3034	0,0904
4	0,2373	0,3596	0,0429	0,5297	0,3913	0,3079	0,2869	0,2534
	0,2442	0,3828	0,0414	0,6114	0,3605	0,3544	0,4004	0,2757
5	0,2892	0,6627	0,4830	0,0172	0,9298	0,4178	0,6723	0,3288
	0,3316	0,6649	0,4665	0,0239	0,8625	0,5418	0,7826	0,3672
6	0,4245	0,8748	0,1241	0,7229	0,8499	0,6210	1,0000	0,5615
	0,4921	0,8727	0,1137	0,7924	0,7893	0,5798	0,9570	0,5585
7	0,4172	0,2229	0,1408	0,0103	0,1212	0,2734	0,2005	0,1367
	0,4177	0,2425	0,1207	0,0117	0,0984	0,3121	0,1840	0,1348
8	0,2320	0,3255	0,1389	0,5371	0,4913	0,3081	0,3796	0,3173
	0,1791	0,3290	0,1314	0,5713	0,4112	0,3996	0,2717	0,2957
9	0,5235	0,8705	0,5287	0,0064	0,8411	0,7020	0,7767	0,3551
	0,6318	0,8852	0,4571	0,0053	0,7933	0,5440	0,8466	0,3370
10	0,0726	0,0649	0,1139	0,2797	0,0849	0,0894	0,0000	0,0000
	0,0856	0,1251	0,0917	0,2916	0,0862	0,1030	0,0000	0,0000
11	0,5118	0,4201	0,2294	0,0074	0,3641	0,4485	0,3582	0,2149
	0,5753	0,4253	0,2004	0,0104	0,3207	0,6210	0,3804	0,2341
12	1,0000	0,3488	0,3484	0,6786	0,3045	0,8194	0,2758	0,4777
	1,0000	0,4177	0,4038	0,7737	0,2678	0,7368	0,3277	0,5055
13	0,5372	1,0000	0,5847	0,0038	0,9263	0,9404	0,8176	0,3640
	0,5391	0,9313	0,5702	0,0059	0,9113	0,9351	0,8653	0,3851
14	0,4451	0,8912	0,8938	0,8581	0,8456	0,7050	0,7900	0,7576
	0,4192	0,8632	0,8876	0,9595	0,6135	0,7353	0,8486	0,7369
15	0,3470	0,3447	0,2714	0,0035	0,3532	0,5822	0,2970	0,1831
	0,4606	0,4055	0,2763	0,0052	0,3306	0,7594	0,3124	0,2150
16	0,5145	0,3710	0,3293	0,6939	0,2717	0,5726	0,3308	0,4184
	0,5429	0,3777	0,3586	0,7585	0,2922	0,6900	0,3380	0,4511
17	0,0000	0,0000	0,1052	0,0101	0,0000	0,0000	0,0218	0,0000
	0,0000	0,0000	0,1130	0,0110	0,0000	0,0000	0,0028	0,0000
18	0,3918	0,7669	0,2647	0,6814	1,0000	0,3680	0,8494	0,5585
	0,4200	0,8522	0,2480	0,6822	0,8623	0,3840	1,0000	0,5721
19	0,3158	0,2746	0,5656	0,0063	0,2720	0,2072	0,2526	0,1718
	0,3183	0,3145	0,4445	0,0067	0,2386	0,1877	0,2142	0,1615
20	0,3544	0,2061	0,1381	0,5068	0,2852	0,3052	0,3752	0,2887
	0,3848	0,2510	0,1151	0,5966	0,2899	0,4399	0,4075	0,3201
21	0,5191	0,6916	0,7085	0,0139	0,8504	0,3357	0,5703	0,3446
	0,5481	0,7009	0,7407	0,0149	0,7511	0,3373	0,5940	0,3494
22	0,4810	0,7646	0,6364	0,6699	0,8815	0,3551	0,8355	0,6336

	0,5381	0,7772	0,6874	0,7249	0,8470	0,3379	0,8158	0,6493
23	0,0158	0,0222	0,1352	0,0188	0,1445	0,0372	0,0496	0,0422
	0,0490	0,0963	0,1311	0,0197	0,1489	0,0267	0,0635	0,0608
24	0,1393	0,2688	0,1945	0,5305	0,2733	0,3484	0,2921	0,2710
	0,1450	0,3358	0,1823	0,5258	0,2397	0,4226	0,3532	0,2886
25	0,4537	0,4713	0,6371	0,0096	0,5545	0,1247	0,3235	0,2252
	0,3453	0,3775	0,5997	0,0117	0,4651	0,2347	0,3560	0,2314
26	0,4990	0,9721	1,0000	0,7797	0,9582	0,4558	0,7041	0,7354
	0,5476	1,0000	1,0000	0,9638	1,0000	0,5716	0,6097	0,7852
27	0,5272	0,4186	0,5799	0,0077	0,2965	0,5643	0,2939	0,2419
	0,5929	0,4533	0,5341	0,0058	0,2486	0,4925	0,3572	0,2324
28	0,5799	0,4227	0,6348	0,7238	0,3654	0,4852	0,3364	0,4893
	0,5883	0,4329	0,6232	0,7157	0,2578	0,5625	0,3395	0,4767
29	0,6557	0,2265	0,4768	0,0148	0,2325	0,6929	0,1448	0,2194
	0,7620	0,2439	0,5089	0,0176	0,1686	0,5511	0,1437	0,2163
30	0,8491	0,8737	0,8977	1,0000	0,7580	1,0000	0,8047	0,8792
	0,9160	0,9335	0,8166	1,0000	0,6879	0,8526	0,8710	0,8631
31	0,3567	0,3113	0,6117	0,0102	0,3262	0,5913	0,2319	0,2270
	0,3597	0,3361	0,6810	0,0103	0,2651	0,6884	0,2580	0,2352
32	0,8054	0,3207	0,0000	0,6608	0,2713	0,9200	0,2488	0,0000
	0,8800	0,3816	0,0000	0,7152	0,2739	1,0000	0,2421	0,0000

Figura 7 - Diagrama de Pareto obtido a partir das desejabilidades globais dos experimentos para os sete analitos simultaneamente



Fonte: Autoria própria.

Com o diagrama de Pareto apresentado na Figura 7, é possível avaliar todas as variáveis e suas interações. O comprimento da barra é proporcional ao valor absoluto do efeito principal estimado, enquanto a linha de referência vertical (tracejado vermelho) correspondente ao intervalo de confiança (95%). Todos os efeitos que ultrapassam essa linha de referência são considerados significativos (Stalikas et al., 2009). Observa-se que as variáveis pH, DEC (1-decanol) e as interações DECxTHF, pHxDEC, THFxVOR e NaCl foram significativas no processo de extração.

No diagrama de Pareto, um valor positivo para o efeito estimado indica um aumento na resposta se a variável aumentar para seu nível superior e um valor negativo indica que uma melhor resposta é obtida em níveis inferiores da variável. Para as interações, um valor positivo indica que a resposta aumentará se ambas as variáveis mudarem para o mesmo nível, inferior ou superior. Um valor negativo indica um aumento na resposta se as variáveis mudam em direções opostas (uma variável aumenta para um nível alto e a outra diminui para um nível baixo) (Martendal et al., 2007).

De acordo com o diagrama, a eficiência de pré-concentração é maior quando o valor de pH está em seu nível superior (pH 6,0), significância com efeito positivo (7,06), mostrando que o pH influencia na formação do solvente supramolecular.

O pH é uma das variáveis apontadas como mudança que pode favorecer a pré-concentração dos analitos, devido ao fato que a maior interação dos pesticidas acontece na forma molecular neutra por ligações de hidrogênio com os agregados micelares, resultando numa maior quantidade extraída. Segundo as propriedades dos pesticidas mostradas no Quadro 4, seis dos sete pesticidas não apresentam dissociação com a mudança de pH, dessa forma, era esperado que a mudança no pH não exercesse influência na extração desses pesticidas.

Somente o carbendazim sofre reações de protonação-desprotonação em solução aquosa, formando espécies catiônicas ou aniônicas, dependentes fortemente do pH do meio (as diferentes espécies de carbendazim em função do pH podem ser vistas no Apêndice A). Quando o pH está abaixo da primeira constante de equilíbrio ($pK_{a1} = 4,20$) as moléculas de CAR apresentam-se em sua maioria como cátions, em um valor de pH acima da segunda constante de equilíbrio ($pK_{a2} = 9,60$) a forma dominante é aniônica e entre as duas constantes a forma molecularmente neutra é dominante.

A variação de pH pode ser um fator importante para esse pesticida, conforme demonstrado em estudo anterior do grupo (Scheel; Tarley, 2020), que mostrou que o pH 7,0, em sua forma neutra, era a melhor condição para a extração desse pesticida.

Dessa forma, o efeito positivo do pH sobre o sistema de microextração é impulsionado pelo CAR, que em pH 6,0 encontra-se em sua forma neutra e interage mais com os agregados micelares por ligações de hidrogênio, resultando em uma maior quantidade extraída, fato que é possível ser verificado na Tabela 3, comparando os valores de área obtidos nos experimentos em que apenas o valor de pH é alterado e as demais condições são iguais (Exp 1 e 2, Exp 3 e 4, por exemplo).

Para os demais pesticidas, uma análise crítica aos resultados mostra que os maiores valores de área são obtidos na maioria com o pH ajustado em 2,0, enquanto os menores valores, na sua maioria são obtidos com o pH ajustado em 6,0, dependendo da combinação com outras variáveis. Esse dado evidencia a importância da otimização multirespostas para pré-concentrar simultaneamente pesticidas com características químicas muito diferentes entre si.

Os efeitos DEC, DECxTHF, pHxDEC, THFxVOR tiveram significância negativas, apontando que o processo de pré-concentração é favorecido quando essas variáveis estão em seus níveis inferiores.

Avaliando-se somente o volume de 1-decanol, o segundo efeito mais importante, observa-se no gráfico de Pareto e na Tabela 3 que maiores valores de área cromatográfica são obtidos quando o 1-decanol é adicionado no seu nível inferior (100,0 μ L), significância com efeito negativo (-4,60), esse comportamento pode ser atribuído ao fato que maiores volumes provocam diluições na concentração dos analitos, diminuindo as intensidades das áreas de pico.

O solvente extrator desempenha papel fundamental na eficiência do procedimento. Volumes pequenos de 1-decanol podem não ser eficientes no processo de agregação das moléculas, ao passo que volumes maiores de extrator provocam a diluição da concentração do analito, diminuindo a intensidade da área do pico. A afinidade do analito com alcanol é medida pelo coeficiente de partição, Log Kow (octanol/water coefficient) que é determinado pela relação entre a quantidade relativa de pesticida que se dissolve em octanol e aquela que se dissolve em água (Quadro 4). Pesticidas com baixo Kow são solúveis em água enquanto aqueles com alto Kow são solúveis em solventes orgânicos e tendem a mover-se para a fase orgânica (González-Rubio et al., 2022).

Ainda, o 1-decanol não sofre dissociação na faixa de pH ($pK_a \sim 15$), mantendo sua estrutura mesmo com mudanças de pH e, dessa forma, não causa limitação na formação supramolecular à base de alcanóis, diferentemente de outros métodos de microextração supramolecular à base de ácidos carboxílicos e vesiculares. Outra vantagem dos solventes supramoleculares induzidos por água e compostos por n-alcanóis em meio THF/ água adotam um formato de micela reversa. Em contraste com as micelas normais, nas quais as interações polares ocorrem principalmente com moléculas de água da solução, micelas reversas podem solubilizar analitos com base em interações hidrofóbicas nas caudas de hidrocarbonetos, bem como em seus grupos polares de álcool (preservando de interações com água após automontagem) por ligações de hidrogênio (Oliveira, F. M. De et al., 2020).

Quando o 1-decanol é avaliado em sua interação com o THF, novamente tem-se uma significância com efeito negativo (-4,04), reforçando que volumes nos níveis superiores de 1-decanol (200,0 μ L) e THF (600,0 μ L) podem diluir os analitos.

O THF é o agente dispersor responsável por dispersar as moléculas de 1-decanol na solução de pesticidas e promover a automontagem micelar, assim, a quantidade usada pode interferir na eficiência da microextração supramolecular. É necessário determinar a proporção adequada de THF/ água em microextrações supramoleculares à base de alcanol. Em uma baixa relação THF/ água, o processo de coacervação não é completo devido à falta de solvente dispersante. Em alta razão THF/ água, a solubilidade da fase coacervado em água aumentará, causando uma diminuição da eficiência de extração. Além do THF, etanol e acetona são frequentemente utilizados como agentes dispersantes em sistemas de microextração supramoleculares (Ballesteros-Gómez et al., 2009).

O efeito *salting-out* é promovido pela presença de sais, mais comumente o NaCl, ou outros sais eletrolíticos fortes. A concentração de NaCl apresentou significância com efeito positivo (2,16), provocando o efeito “*salting out*”, diminuindo a solubilidade do analito em uma fase aquosa e aumentando a transferência de massa em direção à fase orgânica (Elencovan et al., 2022). A ausência de NaCl resulta em agregados ineficientes e conseqüentemente, diminui a eficiência de extração, do mesmo modo que quantidades elevadas de NaCl podem restringir o movimento dos analitos da solução para a fase supramolecular devido ao aumento das interações entre os analitos e o sal na solução, como relatado por Deng e colaboradores (Deng et al., 2019). Observa-se na Tabela 3 que os experimentos em que a maior área de cada pesticida foi obtida em sua maioria na presença NaCl (5,0% m/v).

O tempo de agitação em vórtex acelera a formação espontânea do solvente supramolecular na solução e promove a formação de gotículas finas do solvente de extração, o que leva a um aumento no limite da interface entre o extrator e os pesticidas. Por esse motivo, é necessário um tempo de extração suficiente para garantir a interação ideal entre o analito e o solvente para intensificar a eficiência da extração (Zhao et al., 2019). O tempo de agitação em vórtex não apresentou efeito significativo isoladamente e apenas uma interação apresentou significância com efeito negativo, com o THF (-2,18), inferindo-se que 30 s de agitação vigorosa são suficientes para promover a formação espontânea do solvente supramolecular na solução e a formação de gotículas finas do solvente de extração.

6.2.2 Otimização final usando design de Doehlert

Para obter as melhores condições da microextração supramolecular dos sete pesticidas, considerando os resultados obtidos no diagrama de Pareto, as variáveis pH, DEC e THF foram otimizadas com o emprego de uma matriz de Doehlert, fixando em 5,0% NaCl (m/v) e 30 s de vortex e pH ajustado com tampão BR 0,01 mol L⁻¹, utilizando como resposta, a área do pico de cada pesticida, convertida em desejabilidade individual e, posteriormente, desejabilidade global (Equações 1 e 2). As variáveis, respostas obtidas (área dos pesticidas), desejabilidades individuais e global são apresentados na Tabela 5. Novamente, foi escolhida a superfície de desejabilidade global em vez das superfícies de resposta independentes para cada analito, uma vez que pode fornecer uma visão geral de todos os analitos e variáveis considerados.

Tabela 5 – Matriz de Doehlert para otimização das variáveis pH, 1-decanol e THF (variáveis decodificadas e codificadas) e respostas obtidas (área para cada pesticida) e a desejabilidade calculada com triplicata no ponto central

Experimento	DEC (µL)	pH	THF (µL)	ACE	AZO	BIF	CAR	CLO	IMI	TEB	Dg
1	125,0	6,0	500,0	352777	4933276	2284947	2035992	1200529	103804	1891170	0,4754
	(0)	(0)	(0)	0,4695	0,6497	0,3332	0,8731	0,6385	0,2739	0,3537	
1	125,0	6,0	500,0	355037	4945657	2457083	2051378	1238893	105086	1883701	0,4961
	(0)	(0)	(0)	0,4940	0,6549	0,3883	0,8803	0,6605	0,2928	0,3456	
1	125,0	6,0	500,0	357742	4317462	2299302	2152717	1288877	105802	1823492	0,4504
	(0)	(0)	(0)	0,5233	0,3907	0,3378	0,9281	0,6893	0,3033	0,2807	
2	175,0	6,0	500,0	313655	3760380	2500424	2097186	1127027	100936	1577247	0,1773
	(1,0)	(0)	(0)	0,0457	0,1565	0,4022	0,9019	0,5963	0,2317	0,0153	
3	150,0	9,0	500,0	315833	3963230	1661249	200467	926695	99614	1715950	0,1182
	(0,5)	(0,866)	(0)	0,0693	0,2418	0,1337	0,0086	0,4812	0,2122	0,1648	
4	150,0	7,0	800,0	401753	3427608	2810846	1901837	1018877	112158	1617921	0,2619
	(0,5)	(0,289)	(0,817)	1,0000	0,0166	0,5015	0,8099	0,5342	0,3969	0,0592	
5	75,0	6,0	500,0	343702	4265912	1335291	2063626	1829804	101932	1740016	0,2888
	(-1,0)	(0)	(0)	0,3712	0,3691	0,0294	0,8861	1,0000	0,2464	0,1908	
6	100,0	3,0	500,0	334555	5181599	3590850	182281	1138899	85199	2172220	0,0000
	(-0,5)	(-0,866)	(0)	0,2721	0,7541	0,7511	0,0000	0,6031	0,0000	0,6566	
7	100,0	5,0	200,0	356055	5766457	4006903	2006009	1477707	88522	1676432	0,4064
	(-0,5)	(-0,289)	(-0,817)	0,5050	1,0000	0,8842	0,8590	0,7977	0,0489	0,1222	

8	150,0	3,0	500,0	309432	3388132	1243438	219249	89045	99749	1563010	0,0000
	(0,5)	(-0,866)	(0)	0,0000	0,0000	0,0000	0,0174	0,0000	0,2142	0,0000	
9	150,0	5,0	200,0	381064	4052832	1790354	1759645	999724	88904	1731524	0,2832
	(0,5)	(-0,289)	(-0,817)	0,7759	0,2795	0,1750	0,7429	0,5232	0,0546	0,1816	
10	100,0	9,0	500,0	329334	3391479	4368841	1412590	1446082	85230	2490897	0,0935
	(-0,5)	(0,866)	(0)	0,2156	0,0014	1,0000	0,5795	0,7796	0,0005	1,0000	
11	125,0	8,0	200,0	356831	5000577	2220745	1265139	1425649	88262	2139496	0,3823
	(0)	(0,577)	(-0,817)	0,5134	0,6780	0,3127	0,5100	0,7678	0,0451	0,6213	
12	100,0	7,0	800,0	312063	4079899	2345836	2001445	1083515	153118	2056527	0,3585
	(-0,5)	(0,289)	(0,817)	0,0285	0,2909	0,3527	0,8568	0,5713	1,0000	0,5319	
13	125,0	4,0	800,0	321224	4044942	2079921	1168160	1009670	120239	1839746	0,3217
	(0)	(-0,577)	(0,817)	0,1277	0,2762	0,2676	0,4643	0,5289	0,5159	0,2982	

A relação entre as variáveis independentes e a resposta foi calculada por uma equação polinomial de segunda ordem, que descreve o modelo, apresentada abaixo (os valores marcados com * são considerados significativos).

$$D_g = 0,4739_{\pm 0,0131} - 0,1045_{\pm 0,0228}DEC^* - 0,4818_{\pm 0,0417}DEC^{2*} + 0,0859_{\pm 0,0197}pH^* \\ - 0,7216_{\pm 0,0132}pH^{2*} - 0,0432_{\pm 0,0186}THF - 0,0359_{\pm 0,0263}THF^2 \\ + 0,0247_{\pm 0,0456}DECxpH + 0,0183_{\pm 0,0481}DECxTHF \\ - 0,1691_{\pm 0,0417}pHxTHF$$

Para encontrar os efeitos e interações mais importantes, a análise de variância (ANOVA) foi realizada. A ANOVA, apresentada na Tabela 6, apresentou bons coeficientes de determinação ($R^2 = 0,9732$ e $R^2_{ajustado} = 0,9244$) para o modelo, revelando que os dados experimentais tinham um bom ajuste para as equações polinomiais de segunda ordem e que existe uma boa correlação entre os resultados experimentais observados e os valores previstos, demonstrando que o modelo está bem ajustado.

Tabela 6 – Tabela de ANOVA para o modelo gerado pela Matriz de Doehlert

ANOVA	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média dos Quadrados	Teste F	p – Nível de probabilidade
DEC (L)*	0,010925	1	0,010925	20,9370	0,044592
DEC (Q)*	0,069651	1	0,069651	133,4812	0,007409
pH (L)*	0,009844	1	0,009844	18,8646	0,049135
pH (Q)*	0,277724	1	0,277724	532,2375	0,001874
THF (L)	0,002806	1	0,002806	5,3769	0,146253
THF (Q)	0,000969	1	0,000969	1,8563	0,306196
DECxpH	0,000153	1	0,000153	0,2929	0,642587
DECxTHF	0,000076	1	0,000076	0,1451	0,739910
pHxTHF	0,008581	1	0,008581	16,4455	0,055769
Falta de Ajuste	0,009113	3	0,003038	5,8213	0,150101
Erro puro	0,001044	2	0,000522		
Total	0,376483	14			

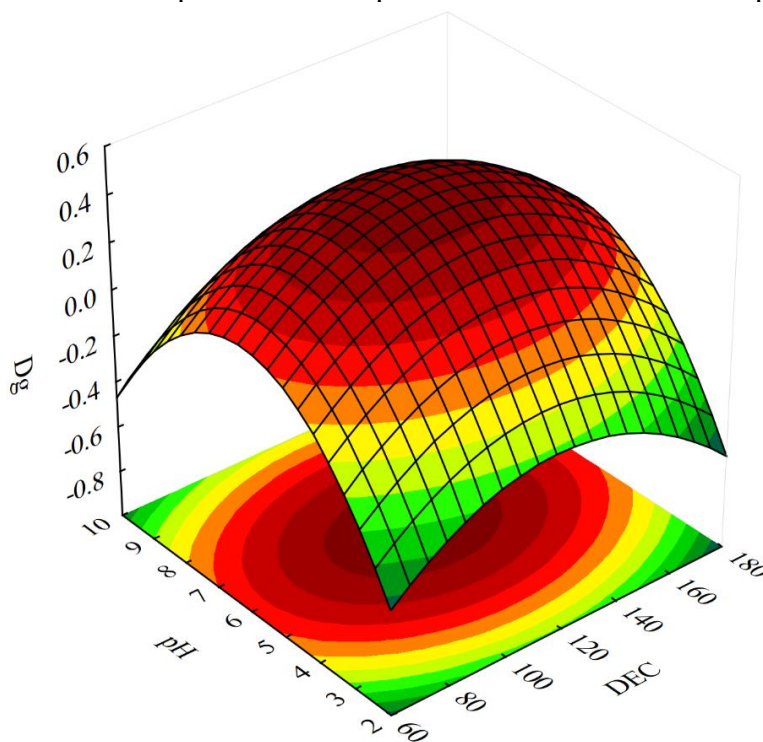
L: linear; Q: Quadrático.

A significância estatística dos termos lineares e quadráticos do modelo quadrático foi verificada avaliando os valores do nível de probabilidade, para isso, eles devem ser menores que o nível crítico de probabilidade ($p < 0,05$) usando intervalo de confiança de 95% (Tarley;

Kubota, 2005). Valores $p < 0,05$ foram obtidos para as variáveis volume de 1-decanol e pH (assinaladas com * na Tabela 6), o que implica que essas variáveis foram significativas, o que é confirmado com as superfícies de resposta (Figuras 8 a 10).

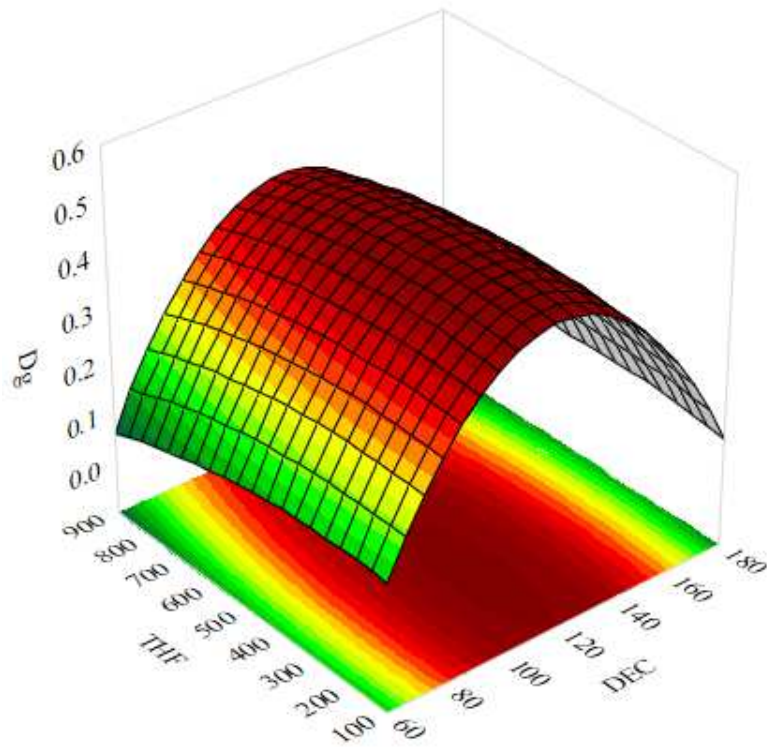
Ainda, o ajuste do modelo a esses valores experimentais foi verificado de acordo com o teste F. Este teste estabelece que quando a razão entre a média dos quadrados para falta de ajuste e erro puro é menor que os valores tabelados da distribuição F, a falta de ajuste não é significativa, sendo a razão $MQ_{\text{falta de ajuste}}/MQ_{\text{erro puro}}$ (igual a 5,82) inferior ao $F_{3,2}$ crítico a 95% de confiança ($F_{3,2} = 19,16$) e o modelo não apresentou falta de ajuste (Tarley; Kubota, 2005).

Figura 8 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para pH x DEC



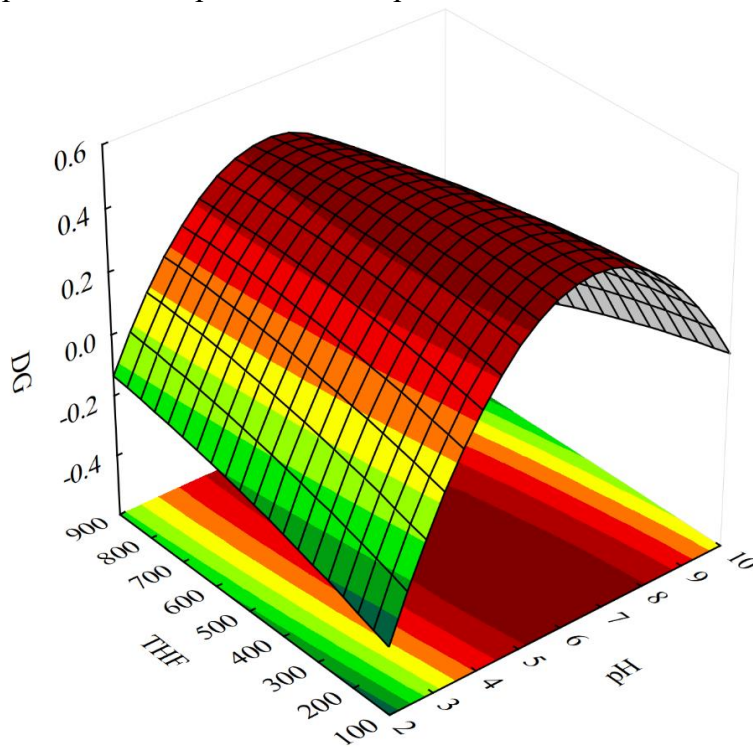
Fonte: Autoria própria.

Figura 9 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para THF x DEC



Fonte: Autoria própria.

Figura 10 – Superfícies de resposta obtidas a partir do modelo de Doehlert para THF x pH

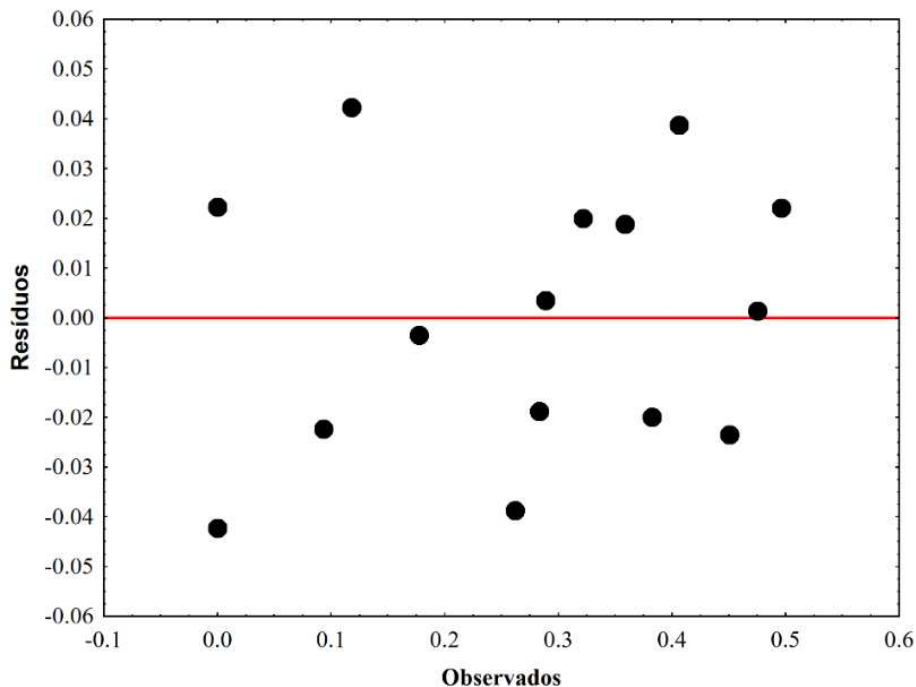


Fonte: Autoria própria.

As superfícies de resposta mostram que o ponto máximo de extração está localizado dentro da região experimental. Para as Figuras 9 e 10, existe um platô em relação à variável THF, indicando que a variação de seus níveis não afeta o sistema estudado (Bezerra et al., 2008).

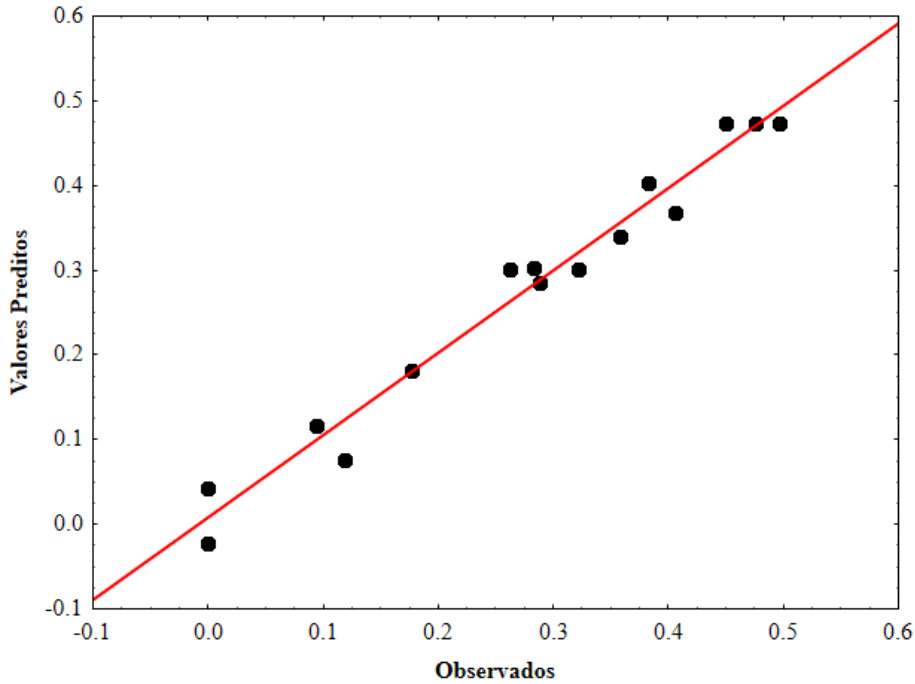
O gráfico dos resíduos versus as respostas experimentais (Figura 11) mostra que a distribuição dos resíduos em ambos os lados da linha zero indica que não existe erro sistemático no desenvolvimento do modelo. O gráfico de respostas previstas versus sua resposta de extração experimental (Figura 12) aponta uma boa concordância entre a resposta prevista e a resposta experimental, indicando que o modelo foi bem-sucedido (Peyrovi; Hadjmohammadi, 2015).

Figura 11 – Gráfico dos valores observados versus resíduos



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 – Gráfico dos valores observados versus valores preditos



Fonte: Autoria própria.

Para o modelo quadrático obtido, calculou-se as coordenadas do ponto crítico através da primeira derivada da função matemática com os coeficientes de regressão do modelo que descreve a superfície de resposta. Para isso, o THF foi fixado no valor do ponto central (500,0 μ L) devido ao fato observado nas superfícies de resposta e a função foi igualada a zero, as duas equações obtidas (em função de pH e em função de DEC) foram resolvidas por sistema de equações.

$$\begin{aligned}
 & -2,62600_{\pm 0,215738} + 0,02225_{0,002327}DEC - 0,00010_{\pm 0,000008}DEC^2 \\
 & + 0,53208_{\pm 0,032232}pH - 0,04009_{\pm 0,001738}pH^2 - 0,00061_{\pm 0,000286}THF \\
 & - 0,00000_{\pm 0,000000}THF^2 + 0,00008_{\pm 0,000152}DECxpH \\
 & + 0,00000_{\pm 0,000002}DECxTHF - 0,00009_{\pm 0,000023}pHxTHF
 \end{aligned}$$

Obteve-se os valores de ponto crítico de DEC de 113,0 μ L e pH de 6,3. Como resultado final do processo de otimização multivariado, obteve-se além dos valores destacados anteriormente, 500 μ L de THF, 5% NaCl (m/v) e 30 s de tempo de vórtice.

A fim de investigar uma possível influência de pH alcalinos, a análise de DLS foi realizada com a fase de coacervados, observando-se na Figura 13 que o processo de coalescência é dificultado em pHs alcalinos em comparação com o pH ótimo. Esse resultado

corroborar com os dados obtidos no processo de otimização, em que pHs ácidos não apresentaram os melhores valores de área cromatográfica.

Figura 13 – Distribuições de tamanho de gotículas de coacervado em diferentes valores de pH

Fonte: Autoria própria.

6.2.3 Influência do Tampão

Os resultados obtidos no planejamento fatorial e na matriz de Doehlert, mostraram que o sinal analítico dos analitos é afetado pela variação do pH, assim, o procedimento de extração deve ser realizado em pH controlado de 6,3. Para facilitar o ajuste do pH, a solução foi tamponada em todos os experimentos com tampão BR $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

A influência do tipo de tampão no desempenho do procedimento de microextração supramolecular foi estudada pelo uso de dois tipos de tampão. Para tanto, foi utilizada a mesma concentração ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) dos tampões Britton-Robinson (tampão BR) e fosfato no procedimento de extração. De acordo com os resultados obtidos, apresentados na Figura 14, o tampão BR foi selecionado como o melhor para alcançar a maior eficácia.

Figura 14 – Efeito do tipo de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 μL de 1-decanol, 500,0 μL de THF, 30 s de agitação em vortex e 10 min de centrifugação

Fonte: Autoria própria.

Ainda, verificou-se qual a concentração do tampão adequada, com experimentos realizados na faixa de 0,1 – 0,005 mol L^{-1} . Observa-se na Figura 15 que a concentração 0,01 mol L^{-1} de tampão BR com pH = 6,3 foi eficiente para atingir o sinal analítico máximo.

Figura 15 – Efeito da concentração de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 30 s de agitação em vórtex e 10 min de centrifugação

Fonte: Autoria própria.

6.2.4 Avaliação da Adição de Extrator e Dispersor

O mecanismo de formação supramolecular consiste em duas etapas. Primeiro, micelas reversas de 1-decanol são formadas em THF, em um processo que as moléculas de 1-decanol são envolvidas por moléculas de THF formando uma bainha de solvatação. Na segunda etapa, a adição de água causa competição pelo THF que resulta na dessolvatação de micelas reversas. Essa dessolvatação facilita a interação micela-micela e resulta na formação de agregados maiores que se separam na forma de coacervados (Ruiz et al., 2007).

A água é considerada um “solvente pobre” na formação das micelas reversas, seu papel é desencadear a montagem dos agregados supramoleculares como uma mudança externa, formando uma nova fase altamente compactada com um arranjo de micela reversa. Assim, a ordem de adição do extrator 1-decanol e do dispersor THF na água pode ser um fator que influencie na extração dos pesticidas.

A formação *in situ* do solvente supramolecular em uma amostra aquosa (10–100 mL) contendo tanto o anfifílico (0,1–2%) quanto os componentes/condições necessários para a coacervação ainda é o formato mais popular para extrações baseadas em solvente

supramolecular. A título de comparação, verificou-se a possibilidade da síntese *in situ* ou anterior ao procedimento de extração do solvente supramolecular influenciar na capacidade de extração do método. Os dados obtidos são apresentados na Figura 16 e nota-se que não existe uma diferença significativa nos valores de área obtidos, mostrando que não existe influência na ordem de adição dos componentes do sistema de microextração.

Figura 16 – Efeito do tipo de síntese do solvente supramolecular (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3 tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 30 s de agitação em vortex e 10 min de centrifugação

Fonte: Autoria própria.

6.3 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO

A eficiência do método de microextração supramolecular foi avaliada com o cálculo dos parâmetros de validação de métodos analíticos para os sete pesticidas: faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdia (Tabela 7).

Inicialmente, a curva analítica do método proposto foi obtida com um volume de pré-concentração de 10,0 mL, na faixa linear apresentada na Tabela 7. Os valores de fator pré-concentração (FP) calculados a partir da divisão do coeficiente linear da curva analítica com pré-concentração pela curva analítica sem pré-concentração para alguns pesticidas foram

baixos e, estudou-se a possibilidade de usar as condições otimizadas para um volume de pré-concentração maior, 40,0 mL de solução dos pesticidas.

Comparando os fatores de pré-concentração obtidos com 40,0 mL de solução, observa-se um aumento expressivo para alguns dos pesticidas, o que pode ser uma grande vantagem no processo de extração e pré-concentração em amostras reais com baixas concentrações. Esse comportamento pode ser associado com a hidrofiliabilidade e ao Log K_{ow} dos pesticidas, características apresentadas no Quadro 4. Para os pesticidas com maior afinidade pelo extrator 1-decanol, é possível verificar que o aumento foi expressivo, como é o caso da bifentrina e do tebuconazol, com aumentos do fator de pré-concentração de 9 e 4 vezes respectivamente. Destaca-se também o aumento do fator de pré-concentração do clorpirifós e da azoxistrobina, com ganhos de sinal 3 vezes.

Considerando que a legislação brasileira estabelece limites máximos de alguns desses analitos e as concentrações encontradas em amostras segundo outros estudos são em níveis de microgramas por quilo ou litro, essa mudança no volume de pré-concentração para a melhoria no fator de pré-concentração é uma vantagem do ponto de vista da futura aplicação do método analítico. As três curvas analíticas são apresentadas em Apêndice B.

Os limites de detecção e quantificação foram calculados para a curva utilizando 40,0 mL de volume de pré-concentração, conforme a orientação da IUPAC (Equações 3 e 4) (Long, G. L.; Winefordner, 1983). Os valores obtidos como limite de quantificação são menores que os valores estabelecidos como limites máximos pelas agências reguladoras (ANVISA, União Europeia e USEPA – Quadro 2), o que permite inferir que o método proposto é aplicável em amostras de água e alimentos.

Com intuito de verificar o efeito do LQ teórico na linearidade da curva analítica, os valores foram submetidos ao processo de microextração supramolecular e os valores de área obtidos foram adicionados com o primeiro ponto das curvas analíticas e usados como ponto inicial da faixa dinâmica de trabalho. Após esse procedimento, as regressões lineares obtidas foram estatisticamente validadas por ANOVA unidimensional.

Para todas as curvas, no nível de confiança de 95%, os valores da razão entre as médias quadráticas do modelo pelo resíduo (f-valores*) (Tabela 7) foram muito maiores que os valores tabelados (Apêndice C), indicando bom ajuste do modelo linear aos dados experimentais, o que aponta para a correlação linear entre intensidade e concentrações nas faixas lineares. Não foi observado evidência de falta de ajuste para os valores observados em relação aos valores previstos pelo modelo nas condições e faixas de concentração escolhidas, uma vez que a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e média quadrática do erro

puro (f-valores**) foi menor que o valor de f tabelado (Lemes; Tarley, 2021 e Neto et al., 2001).

Tabela 7 – Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdial, faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas e f-valores obtidas da ANOVA

	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Fator de Pré-concentração	
	40,0 mL	SPC	40,0 mL	SPC	40,0 mL	10,0 mL
ACE	6,8	268,6	22,7	895,53	5,8	4,0
AZO	2,7	55,4	8,9	184,77	183,2	55,6
BIF	5,9	207,3	19,7	690,99	123,9	16,9
CAR	8,9	130,5	29,9	435,12	37,2	22,7
CLO	8,3	298,8	27,9	995,97	180,9	43,7
IMI	5,9	204,4	19,4	681,33	3,6	3,2
TEB	8,6	284,0	28,7	946,76	266,1	53,3
	Precisão intradia (% - 40,0 mL)			Precisão interdial (% - 40,0 mL)		
	50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	200,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	200,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	200,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
ACE	3,9	3,1	4,0	3,0	3,0	3,0
AZO	2,1*	1,7*	2,2*	1,7*	2,2*	1,7*
BIF	4,2	3,0	4,1	3,1	4,1	3,1
CAR	4,5	2,9	3,9	3,0	3,9	3,0
CLO	3,6	3,3	3,8	3,0	3,8	3,0
IMI	3,8	2,2	3,6	2,3	3,6	2,3
TEB	3,5	2,9	3,5	2,6	3,5	2,6
	Faixa dinâmica de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Equação da reta		
	40,0 mL	10,0 mL	SPC	40,0 mL	10,0 mL	SPC
ACE	22,7 – 300,0	100,0 – 600,0	1000,0 – 6000,0	$1.1\text{E}^9\text{x} - 2.1\text{E}^4$	$6,1\text{E}^8\text{x} - 1,9\text{E}^4$	$1,8\text{E}^8\text{x} - 4.1\text{E}^4$
AZO	9,0 – 120,0	20,0 – 220,0	400,0 – 2400,0	$8.6\text{E}^{10}\text{x} - 8.2\text{E}^5$	$2,7\text{E}^8\text{x} - 1,8\text{E}^5$	$4,6\text{E}^8\text{x} - 1,3\text{E}^4$
BIF	19,7 – 400,0	100,0 – 600	1000,0 – 6000,0	$2.2\text{E}^{10}\text{x} - 2.2\text{E}^5$	$2,4\text{E}^9\text{x} + 2,8\text{E}^5$	$1,8\text{E}^8\text{x} - 5,7\text{E}^4$
CAR	29,9 – 300,0	50,0 – 600,0	1000,0 – 5000,0	$1.0\text{E}^{10}\text{x} - 1.5\text{E}^5$	$6,8\text{E}^9\text{x} - 9,9\text{E}^4$	$2,8\text{E}^8\text{x} - 3,1\text{E}^4$
CLO	27,9 – 400	50,0 – 600,0	1000,0 – 6000,0	$1.3\text{E}^{10}\text{x} - 2.5\text{E}^5$	$3,5\text{E}^9\text{x} - 8,1\text{E}^4$	$7,2\text{E}^7\text{x} + 2,0\text{E}^3$
IMI	19,5 – 300,0	50,0 – 600,0	1000,0 – 6000,0	$3.9\text{E}^8\text{x} - 2.4\text{E}^3$	$3,9\text{E}^8\text{x} + 7,5\text{E}^3$	$1,1\text{E}^8\text{x} + 4,2\text{E}^3$
TEB	28,7 – 300,0	50,0 – 500,0	1000,0 – 6000,0	$2.1\text{E}^{10}\text{x} - 3.5\text{E}^5$	$4,7\text{E}^9\text{x} + 7,1\text{E}^9$	$7,9\text{E}^8\text{x} + 2,0\text{E}^3$

	R²			f-valor**			f-valor***		
	40,0 mL	10,0 mL	SPC	40,0 mL	10,0 mL	SPC	40,0 mL	10,0 mL	SPC
ACE	0,9971	0,9913	0,9961	4725,41	2284,08	41987,84	1,76	3,98	2,08
AZO	0,9957	0,9971	0,9971	25519,47	7053,68	4083,33	3,78	3,84	4,01
BIF	0,9933	0,9956	0,9978	2455,82	632,21	6438,43	2,12	1,34	3,25
CAR	0,9982	0,9908	0,9968	21477,28	6902,30	7144,50	1,21	2,59	3,49
CLO	0,9994	0,9975	0,9916	1493,72	4236,76	785,28	0,36	1,87	1,52
IMI	0,9972	0,9917	0,9636	11485,25	3595,63	62136,49	3,81	4,08	1,8
TEB	0,9962	0,9931	0,9772	4648,08	2705,46	6934,97	3,14	3,38	3,78

* concentração da AZO: 20 e 50 µg L⁻¹ respectivamente.

SPC: sem pré-concentrar.

** $MQ_{\text{modelo}}/MQ_{90\text{ipronil}}$ (Média quadrática do modelo/ Média quadrática dos resíduos).

*** $MQ_{\text{faltadeajuste}}/MQ_{\text{erropuro}}$ (Média quadrática falta de ajuste/ Média quadrática do erro puro)

Os parâmetros analíticos obtidas no presente método foram comparadas com outros métodos relatados na literatura para a quantificação dos sete pesticidas e determinação por HPLC-DAD (Tabela 8). Não foram relatados estudos baseados na microextração simultânea dos sete agrotóxicos aqui investigados, mas foi relatada a determinação de um ou mais pesticidas na presença de outros pesticidas por HPLC-DAD. A maioria dos métodos comparados emprega QuEChERS ou utiliza solventes orgânicos para extrair os pesticidas, alguns com volumes maiores do que o utilizado no método supramolecular proposto. Ainda, o tempo de extração de vários deles é maior do que o método desenvolvido. Ressalta-se ainda, os bons valores de linearidade, LD e LQ e fatores de pré-concentração aqui obtidos, que auxiliam na quantificação desses pesticidas em baixas concentrações.

Tabela 8 – Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação dos pesticidas com detecção por HPLC-DAD

Método de extração	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	de	Volume e tipo de solvente	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FPC	Aplicação	Referência
SPME	Imersão direta da fibra em 4,0 mL ACN:H ₂ O (10:90)	30 min	de	MeOH/ H ₂ O (9: 1)	-			Alface	(Melo et al., 2012)
SE-VA-DLLME	5,0 mL	10 min	de	280,0 μL CH ₂ Cl ₂	0,83	2,8		Suco de groselha	(Tursen et al., 2021)
DLLME	5,0 mL	1 min	de	ACN e CH ₂ Cl ₂ (0,5: 2,0 mL)	2,0	5,0		Mel	(Jovanov et al., 2015)
		5 min	de						
		1 min	de						
		1 min	de						
QuEChERS	15,0 mL	1 min	de	50,0 mL de solução de sais tamponantes e 10,0 mL acetonitrila. 0,9 g de sulfato de magnésio e 0,15 g de PSA	2,5	7,5		Mel	(Jovanov et al., 2015)
SPE – SDVB	500,0 mL	100 min		3 x 5,0 mL MeOH: ACN 7:3 (v/v)	0,06	0,40		Água	(Carbo et al., 2008)
SUPRAs	40,0 mL	30 s		113 μL 1-decanol	6,8	22,7	5,8	Água e amostras alimentícias	Este estudo
Método de extração	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	de	Volume e tipo de solvente	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FPC	Aplicação	Referência
AZO									
SPE – Strata RP-18	1000,0 mL			1,0 mL água (1,5% Hac/ACN	9,7	32,5		Águas superficiais	(Polati et al., 2006)
U.A–D.L.L.M. E–H.D.E.S	5,0 mL	5 min		50,0 μL 1:3 de Cloreto de metiltrioctilamônio: n- butanol	1,5	4,0		Maçã	(Ahmadi-Jouibari et al., 2021)
SPE	12,5 mL	36 min		0,9 mL ACN	0,05	0,17		Águas superficiais	(Catalá-Icardo et al., 2017)
VAM-IL-DLLME	8,0 mL	1 min		30,0 μL de [HMIM] NTF em 300,0 μL de ACN e 30,0 mg de sorvente magnético	0,04		143	Amostras de águas	(Yang et al., 2015)
SPME	4,0 mL ACN: água (10:90)	10 min	de	MeOH/ H ₂ O (9: 1)	480	1590		Alface	(Melo et al., 2012)
SPE – SDVB	500,0 mL	100 min		3 x 5,0mL MeOH: ACN 7:3	0,08	0,42		Água	(Carbo et al.,

SUPRAs	40,0 mL	30 s	(v/v) 113,0 µL 1-decanol	2,7	8,9	183,2	Água e amostras alimentícias	2008) Este estudo
Método de extração BIF	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	Volume e tipo de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
DLLME	5,0 mL		60,0 µL de solvente 92ipronil profundo	2,7	8,9		Cereais	(Wu et al., 2021)
MAE-UADLLME	5,0 mL	3 min	300,0 µL clorobenzeno	1,15	4,46	68,3	Lichia	(Wang et al., 2018)
DLLME	5,0 mL	3 min	70,0 µL tetracloroetileno	2,3	6,5		Tomate, maçã, melão e pêra	(Negussie et al., 2021)
MSPD				60	100		Graviola	(Santos, L. F. S. et al., 2019)
SUPRAs	40,0 mL	30 s	113,0 µL 1-decanol	5,9	19,7	123,9		Este estudo
Método de extração CAR	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	Volume e tipo de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
SUPRAs	10,0 mL	30 s	50,0 µL 1-decanol	0,45	1,5		Água	(Scheel; Tarley, 2020)
SPE – SDVB	500,0 mL	100 min	3 x 5,0mL MeOH: ACN 7:3 (v/v)	0,11	0,41		Água	(Carbo et al., 2008)
MIP	7,0 mL (ACN)	15 min	MeOH: OH (85:15, v / v), MeOH, ACN	80	240		Laranja	(Díaz-Álvarez et al., 2019)
MOF magnético	60,0 mL	12 min	2 x 3,0 mL de Acetato de etila	0,10	0,32		Água	(Ma et al., 2018)
LLE – SPE	100,0 mL	20 min	20,0 mL acetona–diclorometano (25:75, v/v) e Sílica	70	150		Uva	(Otero et al., 2003)
SUPRAs	40,0 mL	30 s	113,0 µL 1-decanol	8,9	29,9	37,2	Água e amostras alimentícias	Este estudo
Método de extração CLO	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	Volume e tipo de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
DSPE – carvão ativado	50,0 mL Acetato de etila	50 min		8			Solos	(Xiong et al., 2013)
MSPE – sílica	10,0 mL	10 min	2,0 mL ACN: H ₂ O	50	580		Fígado bovino	(Valencia; Llasera, 2011)
SUPRAs	40,0 mL	10 min e 30 s	113,0 µL 1-decanol	8,3	27,9	180,9		Este trabalho
Método de extração IMI	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	Volume e tipo de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
SE-VA-DLLME	5,0 mL	10 min de vórtice	280,0 µL CH ₂ Cl ₂	0,72	2,4		Água	(Tursen et al., 2021)

DLLME	5,0 mL	1 min de vórtice, 5 min de ultrassom e 1 min de vórtice	de ACN e CH ₂ Cl ₂ (0,5: 2,0 mL)	1,5			Mel	(Jovanov et al., 2015)
QuEChERS	15,0 mL	1 min de vórtice	de 50,0 mL de solução de sais tamponantes e 10 mL acetonitrila. 0,9 g de sulfato de magnésio e 0,15 g de PSA	2,0	5,0		Mel	(Jovanov et al., 2015)
SPE – SDVB	500,0 mL	100 min	3 x 5,0 mL MeOH: ACN 7:3 (v/v)	0,57	1,98		Água	(Carbo et al., 2008)
SUPRAs	40,0 mL	30 s	113,0 µL 1-decanol	5,9	19,4	3,6	Água e amostras alimentícias	Este estudo

Método de extração	Volume de pré-concentração	Tempo de extração	Volume e tipo de solvente	LD (µg L ⁻¹)	LQ (µg L ⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
SPME – PDMS/DVB	20,0 mL	90 min		5,9			Maçã e uva	(Bordagaray et al., 2013)
MSPD – sílica			5,0 mL acetato de etila e 5 mL de MeOH	46	160		Soja	(Maldaner et al., 2008)
SUPRAs	40,0 mL	30 s	113,0 µL 1-decanol	8,6	28,7	266,1	Água e amostras alimentícias	Este estudo

FPC: Fator de pré-concentração; LD: Limite de detecção; LQ: Limite de Quantificação; SPE: Extração em fase sólida; SPME: Micro Extração em fase sólida; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe; SE-VA-DLLME: Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por vórtice e por surfactante-emulsionado; PSA: amina primária-secundária. SDVB: poliestireno divinilbenzeno; U.A–D.L.L.M. E–H.D.E.S: Ultrassom assistindo a microextração líquido-líquido dispersiva-solvente estético profundo; VAM-IL-DLLME: β-ciclodextrina magnética associada a microextração líquido-líquido dispersiva assistido por vórtice; MAE-UADLLME: extração assistida por micro-ondas – microextração líquido líquido dispersiva assistida por ultrassom; MSPD: dispersão em fase sólida em matriz; MIP: polímero molecularmente impresso; MOF: metal organic framework; DSPE: extração em fase sólida dispersiva.

Comprovou-se também a capacidade do método de microextração supramolecular de extrair e pré-concentrar pesticidas em uma ampla faixa de polaridade (Log Kow 0,57 – 6,6), faixa essa maior do que a relatada até então na literatura para pesticidas. Por exemplo, Gorji e colaboradores quantificaram cinco pesticidas com Log de Kow de 3,69 – 6,37 (Gorji et al., 2019). Peyrovi e colaboradores quantificaram três pesticidas, entre eles o clorpirifós, com Log de Kow entre 3,8 e 4,7 (Peyrovi; Hadjmohammadi, 2017). Deng e colaboradores quantificaram cinco pesticidas na faixa de 3,75 até 5,11, além de outros quatro compostos perfluorados (Deng et al., 2019). Zhao e colaboradores quantificaram dois fungicidas, triadimefon (Log de Kow 2,77) e triadimenol (Log de Kow 2,9) (Zhao et al., 2018). Moral e colaboradores quantificaram três fungicidas, entre eles o carbendazim, com Log de Kow na faixa de 1,5 e 2,7 (Moral et al., 2009). Caballo e colaboradores quantificaram os enantiômeros R e S do mecoprop (MCP) e do diclorprop (DCPP), com Log de Kow semelhantes entre si, 3,1 e 3,4, respectivamente (Caballo et al., 2013).

Por fim, em nosso grupo de pesquisa, Scheel e Tarley, quantificaram em um primeiro estudo, quatro pesticidas: diuron, hexazinona, ametrin e tebutiuron, com Log de Kow na faixa de 1,05 – 2,98 e em um outro estudo, quantificaram carbendazim, fipronil e picoxistrobina, que possuem Log de Kow 1,48, 4,0 e 3,6, respectivamente (Scheel; Tarley, 2017, 2020). Oliveira e colaboradores quantificaram metil paration, que possui Log de Kow igual a 3,0 (Oliveira, L. L. G. et al., 2020).

Algumas abordagens são relatadas para determinar a natureza mais ecológica dos procedimentos analíticos e entre elas, apenas a “metodologia AGREE” (Pena-Pereira et al., 2020) emprega todos os 12 princípios da “química analítica verde” (*GAC – Green Analytical Chemistry*).

A métrica AGREE foi desenvolvida em 2020 com o objetivo de facilitar e flexibilizar a entrada dos dados aliado a simplicidade e clareza na saída dos resultados. Cada princípio de entrada, 12 no total, se transformam em uma faixa de pontuação de 0 – 1. A pontuação final é obtida a partir da avaliação de todos os princípios. A saída é um pictograma semelhante a um relógio, sendo a pontuação final e a cor são mostradas no meio. Os 12 princípios são mostrados como segmentos ao redor da parte central e o peso de cada princípio é representado pela largura do segmento. Cada segmento é colorido de acordo com seu caráter verde em uma escala de cores de 0 a 1, sendo 1 altamente verde, e 0 sendo o menos verde (a cor muda de 1 para 0 de verde escuro para vermelho). Dessa forma, pode-se julgar facilmente o caráter

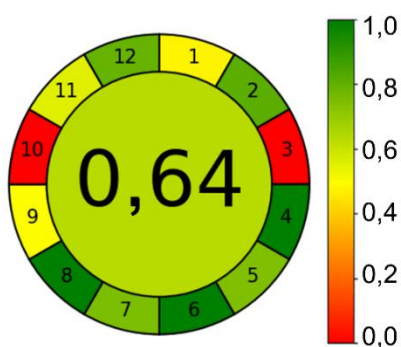
ecológico de um método em termos dos 12 princípios do GAC, bem como do procedimento geral.

Considerando essa abordagem, o desempenho do método analítico proposto foi avaliado utilizando a “Calculadora AGREE”, muito empregada para avaliar métodos de extração e pré-concentração líquido-líquido.

O método de microextração avaliado apresentou uma pontuação geral de 0,64, com predominância da cor verde, indicando que tem baixo impacto ambiental e pode ser considerado um método verde. Ainda assim, alguns aspectos poderiam ser melhorados. A cor vermelha para reagentes (Princípio 10) foi baseada na consideração de que o solvente não era de fontes de base biológica, que oferecem melhor sustentabilidade. As cores laranja e vermelha (Princípios 1 e 3) foram registradas para o procedimento de amostragem que apesar de contar com poucas etapas, é realizado offline e o posicionamento do dispositivo analítico à medida que a amostra era pré-tratada antes da injeção no HPLC-DAD. A escolha do instrumento (Princípio 9) registrou amarelo para o uso do HPLC-DAD.

Como características positivas no método, o procedimento de amostragem requer poucas etapas e nenhuma etapa de derivatização (Princípios 4 e 6). Além disso, o método de microextração supramolecular utiliza uma pequena quantidade de amostra e solventes, produzindo uma pequena quantidade de resíduos (Princípios 2, 5 e 7), com baixa toxicidade e pequenos riscos para o operador (Princípios 11 e 12). Outra vantagem é a análise multiresíduos, em que sete pesticidas são determinados em 1 hora, em preferência aos métodos que determinam um analito por vez (Princípio 8). Na Figura 16 é apresentado o gráfico resultante da análise.

Figura 17 – Resultado da análise AGREE para o método de microextração supramolecular desenvolvido



Fonte: Autoria própria.

6.4 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E ALIMENTÍCIAS

A viabilidade do método proposto foi avaliada na quantificação de pesticidas em água natural, de amostras de dois lagos (localizados nas cidades de Londrina e Apucarana) e um riacho (localizado na cidade de Medianeira). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Ambas as cidades possuem a atividade agrícola como uma das principais fontes de emprego e renda. Segundo os dados do Levantamento da Produção Agropecuária do estado do Paraná, Apucarana tem área agrícola de 41,594.0 hectares e produção total de 138,460.3 toneladas. Londrina tem área agrícola de 125,605.1 hectares e produção total de 386,365.7 toneladas. Medianeira tem área agrícola de 25,023.5 hectares e produção total de 89,134.5 toneladas (ABASTECIMENTO, 2022).

Analisadas individualmente, as amostras de águas naturais não apresentaram resíduos dos pesticidas avaliados. Assim, prosseguiu-se com os testes de adição e recuperação, realizados em três níveis em triplicata. Os níveis avaliados para cada pesticidas foram escolhidos baseados no limite de quantificação obtidos na etapa anterior. Obteve-se recuperação na faixa de 80 - 112%, indicando a ausência de efeito matriz, de interferência e a viabilidade do método.

Além das amostras de águas naturais, o método foi aplicado em diferentes tipos de farinhas, obtidas de cereais em que aplicação dos pesticidas estudados é permitida, e não foi encontrado resíduo dos pesticidas nas amostras de farinhas. Então, as amostras passaram pelo procedimento de adição e recuperação, de acordo com o LMR permitido pela Anvisa. A recuperação obtida na faixa de 83 a 107%, corrobora o fato que a presença de farinha não causa efeito de matriz e mostra que o método independente da matriz.

Tabela 9 - Aplicação do método em amostras ambientais de águas e de farinhas e testes de adição e recuperação (n=3)

Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Concentração encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Recuperação (%)		
ACE	46,0	69,0	91,0	$39,7 \pm 0,8$	$63,2 \pm 1,5$	$84,3 \pm 2,0$	86	92	93
AZO	18,0	27,0	36,0	$15,8 \pm 0,1$	$23,6 \pm 0,1$	$31,4 \pm 0,6$	88	87	87
BIF	40,0	60,0	79,0	$38,8 \pm 0,1$	$56,9 \pm 0,2$	$76,2 \pm 3,3$	97	95	96
CAR	60,0	70,0	120,0	$54,8 \pm 0,3$	$69,8 \pm 0,0$	$114,3 \pm 0,1$	91	99	95

CLO	56,0	84,0	112,0	55,2 ± 0,6	76,0 ± 0,2	101,1 ± 4,3	99	90	90
IMI	39,0	59,0	78,0	32,1 ± 3,6	47,1 ± 2,8	64,7 ± 2,2	82	80	83
TEB	58,0	87,0	115,0	53,7 ± 0,4	86,0 ± 0,3	111,2 ± 0,1	93	99	97

Local: Riacho Sol e Ouro (Medianeira – PR)

Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Concentração encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Recuperação (%)		
	ACE	46,0	69,0	91,0	49,1 ± 0,2	65,3 ± 2,1	85,7 ± 1,0	107	95
AZO	18,0	27,0	36,0	18,4 ± 0,3	27,5 ± 0,7	37,0 ± 0,2	102	102	103
BIF	40,0	60,0	79,0	40,5 ± 1,5	56,1 ± 0,4	71,0 ± 3,9	101	94	90
CAR	60,0	70,0	120,0	56,8 ± 1,3	63,5 ± 0,3	114,0 ± 1,5	95	91	95
CLO	56,0	84,0	112,0	56,4 ± 1,0	76,4 ± 1,7	103,5 ± 6,0	101	91	92
IMI	39,0	59,0	78,0	39,6 ± 0,4	54,9 ± 1,0	83,0 ± 0,9	101	93	106
TEB	58,0	87,0	115,0	54,9 ± 2,3	91,5 ± 2,2	120,4 ± 10,2	95	105	105

Local: Lago Igapó (Londrina – PR)

Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Concentração encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)			Recuperação (%)		
	ACE	46,0	69,0	91,0	51,7 ± 6,0	67,9 ± 2,7	84,1 ± 1,8	112	98
AZO	18,0	27,0	36,0	15,9 ± 0,1	24,2 ± 1,6	35,0 ± 2,0	88	90	97
BIF	40,0	60,0	79,0	38,4 ± 0,6	56,2 ± 1,3	83,5 ± 3,9	96	94	106
CAR	60,0	70,0	120,0	59,1 ± 1,3	66,7 ± 3,4	106,3 ± 2,8	99	95	88
CLO	56,0	84,0	112,0	58,6 ± 1,3	81,1 ± 3,4	101,3 ± 8,7	105	97	90
IMI	39,0	59,0	78,0	37,7 ± 3,5	49,4 ± 6,0	79,3 ± 4,6	97	84	102
TEB	58,0	87,0	115,0	56,3 ± 1,2	91,7 ± 1,8	115,5 ± 1,9	97	105	100

Farinha de Aveia

Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)			Concentração encontrada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)			Recuperação (%)		
	ACE	1000,0			858,3 ± 9,9			86	
AZO	100,0			96,3 ± 3,2			96		
BIF	700,0			632 ± 21,9			90		
CAR	200,0			201,9 ± 7,0			101		
CLO	200,0			211,9 ± 3,3			106		
IMI	500,0			510,2 ± 23,0			102		

Farinha de Trigo			
Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	Concentração encontrada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	Recuperação (%)
ACE	1000,0	827,8 \pm 21,8	83
AZO	100,0	94,3 \pm 0,6	94
BIF	700,0	656,4 \pm 20,0	94
CAR	200,0	193,1 \pm 3,6	97
CLO	200,0	213,5 \pm 3,1	107
IMI	500,0	431,0 \pm 6,5	86
Farinha de Arroz			
Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	Concentração encontrada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	Recuperação (%)
ACE	300,0	270,9 \pm 7,3	90
AZO	700,0	679,1 \pm 20,1	97
BIF	700,0	639,7 \pm 23,3	91
CLO	200,0	192,6 \pm 3,7	96
IMI	200,0	188,6 \pm 4,4	94
TEB	1000,0	890,0 \pm 26,7	89

O cromatograma da aplicação do método de microextração supramolecular em amostra de farinha de trigo enriquecida conforme o LMR definido pela Anvisa de cada pesticida é apresentado na Figura 18.

Figura 18 - Cromatograma obtido na aplicação do método de microextração supramolecular em amostra de farinha de trigo enriquecida conforme o LMR definido pela ANVISA de cada pesticida

Fonte: Autoria própria.

Apesar de que neste estudo nenhum resíduo dos pesticidas estudados foram quantificados nas amostras de águas e farinhas, os estudos citados na Tabela 8 encontraram nas mais diversas amostras. Carbo e colaboradores (2008) encontraram acetamiprido, carbendazim e imidacloprido em amostras de águas subterrâneas rasas de Primavera do Leste, no Mato Grosso (Carbo et al., 2008). Jovanov e colaboradores (2015) mostraram que o imidacloprido foi encontrado em 4 amostras de mel de girassol provenientes da Servia com concentrações abaixo dos LMRs (Jovanov et al., 2015).

Nos estudos citados no Quadro 3, Mozzaquatro e colaboradores (2022) mostraram que o imidacloprido foi o analito com maior frequência de detecção em amostras de cascas de maracujá (40,6%), com concentração máxima de $71,0 \mu\text{g kg}^{-1}$. A segunda maior frequência de detecção foi encontrada para o carbendazim (37,5% das amostras; máximo $148,0 \mu\text{g kg}^{-1}$). As amostras eram provenientes dos estados Rio de Janeiro, Goiás e Bahia, e Distrito Federal (Mozzaquatro et al., 2022).

Santos e colaboradores (2019) encontraram clorpirifós em morango e tebuconazol em uma amostra de tomate, com concentração de $300,0 \mu\text{g kg}^{-1}$, que está acima do LMR previsto na legislação brasileira, sendo as amostras eram provenientes do Rio Grande do Sul (Santos, E. O. Dos et al., 2019).

Stringhini e colaboradores (2021) encontraram clorpirifós (17,0 e 22,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), imidacloprido (98,0, 16,0, 12,0, e 74,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), tebuconazol (45,0 e 11,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$), e a azoxistrobina com concentração abaixo do LQ (10,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$) em amostras de tomates adquiridas no Rio Grande do Sul (Stringhini et al., 2021).

Malonn e colaboradores (2023) mostraram que em amostras de mamão do estado do Rio Grande do Sul, o carbendazim foi encontrado em 9 amostras com valores abaixo do LQ, mesmo seu uso sendo proibido na cultura mamoeira (Malonn et al., 2023).

7 CONCLUSÃO

A microextração supramolecular mostrou-se como uma alternativa viável do ponto de vista analítico, capaz de extrair e pré-concentrar sete pesticidas de diferentes classes químicas e uma ampla faixa de polaridades, sendo esses pesticidas, destaque no último relatório de detecções publicado pela Anvisa.

O método de microextração supramolecular baseado em micelas reversas de 1-decanol dispersas em fase contínua de THF/água foi otimizado usando um planejamento fatorial 2^5 multiresposta para as variáveis pH, 1-decanol, THF, sal e tempo de vórtex. Com a função de desejabilidade aplicada, verificou-se a necessidade de uma otimização final das variáveis pH, 1-decanol e THF, obtendo-se as condições ótimas do método de microextração, mostrando que esse tipo de otimização é uma excelente estratégia para a pré-concentração de múltiplas classes de pesticidas com ampla faixa de polaridade. Após verificar a influência do tipo e da concentração do tampão, obteve-se as condições ótimas como: solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,3 tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 5,0% de NaCl (m/v), 113,0 μL de 1-decanol, 500,0 μL de THF, 30 s de agitação em vórtex e 10 min de centrifugação.

Com um volume de 40,0 mL de pré-concentração, obteve-se parâmetros analíticos satisfatórios para o método, incluindo baixos limite de detecção e quantificação e elevados fatores de pré-concentração. O método foi validado estatisticamente por ANOVA unidimensional e teve seu desempenho avaliado quanto ao grau de adequação aos princípios da química verde. O método fornece limites de quantificação que permitem a triagem e estudos de ocorrência de pesticidas em amostras de água e alimentos (farinhas de cereais). Ainda, o método foi aplicado em amostras de água de dois lagos e um riacho, e amostras de farinhas de aveia, trigo e arroz sem efeito de matriz, mostrando-se uma alternativa eficiente e satisfatória para extração e detecção de pesticidas.

CAPÍTULO II: Desenvolvimento de microssistema de pré-concentração baseado em solvente supramolecular para determinação de cinco pesticidas em amostras de água e farinhas de cereais por HPLC-DAD

8 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos grandes produtores de grãos, segundo levantamento da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a safra 2022/23 do Brasil deve ser em torno de 300 milhões de toneladas destacando-se as culturas arroz, aveia, milho, soja, sorgo e trigo (CONAB, 2024). Essa grande produção de grãos acarreta no grande consumo de pesticidas, utilizados no controle de plantas daninhas, fungos e insetos que atacam a produção (Samsidar et al., 2018).

Estudos demonstram que a mistura de produtos como herbicidas, fungicidas e inseticidas é uma prática comum entre os produtores visando o controle de plantas daninhas, pragas e doenças que podem ocorrer de forma simultânea na mesma área de cultivo (Gandini et al., 2020). Os efeitos da interação desses pesticidas ainda são em sua maioria desconhecidos, e do ponto de vista analítico, representam um desafio para a quantificação simultânea de pesticidas de diferentes classes, visto que, em amostras reais, existe a possibilidade da presença de pesticidas de diferentes espectros de ação (Gazziero, 2015).

Neste estudo, herbicidas, fungicidas e inseticidas foram estudados e esses pesticidas, clorotraniliprole (CLO, inseticida), cresoxim-metílico (CRE, fungicida), procloraz (PRC, fungicida), propanil (PRP, herbicida), e trifluralina (TRI, herbicida) foram escolhidos por serem frequentemente utilizados na área de amostragem do estado do Paraná, tornando-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos capazes da quantificação simultânea de pesticidas de diferentes classes em amostras de água e farinha.

No Quadro 5 são apresentadas as características químicas, as culturas permitidas dos pesticidas, fórmula e peso molecular, Log Kow, pKa e solubilidade a 20 °C. Na Figura 19 é apresentado a fórmula estrutural.

Quadro 5 - Características químicas, culturas de grãos permitidas, fórmula e peso molecular, Log K_{ow}, pK_a e solubilidade a 20 °C

Pesticida	Clorantraniliprole	Cresoxim-metílico	Procloraz	Propanil	Trifluralina	
Classe*	Inseticida	Fungicida	Fungicida	Herbicida	Herbicida	
Grupo químico**	Antranilamida	Estrobilurina	Imidazolilcarboxamida	Anilida	Dinitroanilina	
Classificação toxicológica**	Categoria IV	Não Classificado	Categoria I	Categoria III	Categoria IV	
Culturas de grãos em que são usados***	Algodão, amendoim, arroz, aveia, centeio, cevada, feijão, girassol, milho, soja, sorgo, trigo e triticale	Algodão, arroz, cevada, feijão, soja e trigo	Trigo	Arroz	Algodão, amendoim, arroz, aveia, centeio, cevada, feijão, girassol, mamona, milho, soja, trigo e triticale	
Fórmula molecular**	C ₁₈ H ₁₄ BrCl ₂ N ₅ O ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	C ₉ H ₉ Cl ₂ NO	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	
Peso molecular (g mol ⁻¹)**	483,1	313,35	376,7	218,08	335,28	
Log K _{ow} ***	2,86	3,4	4,12	3,3	5,07	
pK _a ****	1,58 e 13,79	-0,96	2,55	13,90	Não dissocia	
Solubilidade 20 °C (mg L ⁻¹)	Água	0,88	2,0	26,5	95,0	0,221
	Metanol	1714	14900	600000	650000	142000
	Acetato de etila	1144	123000	600000	598000	-
	Acetona	3446	217000	600000	664000	250000
Hexano	-	-	7500	-	250000	

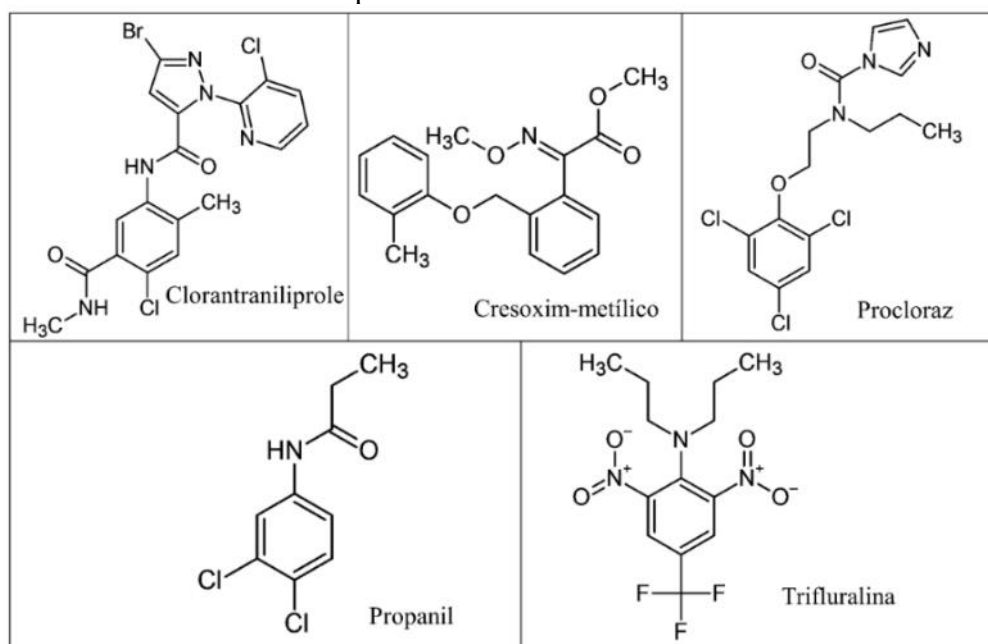
* T. Roberts, D. Huston, Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part II: Insecticides and Fungicides. 1. ed. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1999.

**Monografias de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>

*** PPDB - Pesticide Properties DataBase. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>

**** (Chemaxon, 2023)

Figura 19 - Fórmula estrutural dos pesticidas



Fonte: ANVISA, 2022.

A legislação referente ao uso desses pesticidas é diferente comparando o Brasil e outros países. O procloraz tem seu uso proibido no Brasil e na União Europeia (EU), mas é permitido no Reino Unido. Segundo a decisão da Anvisa, a reavaliação toxicológica do produto não atendeu as diretrizes e exigências de segurança adotadas pela Agência e sua monografia ficou vigente até 31 de dezembro de 2017, com um LMR $200 \mu\text{g Kg}^{-1}$ (Anvisa, 2019). O propanil e a trifluralina, permitidos no Brasil e Austrália, não são permitidos na União Europeia e no Reino Unido.

Somente a trifluralina tem um limite máximo permitido em águas no Brasil, enquanto na União Europeia, os valores individuais são de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ e o total é $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Para alimentos, observa-se a discrepância entre os valores que são permitidos, como é o caso do clorantraniliprole. No Quadro 6 é exibido os limites máximos de resíduos permitidos no Brasil, na União Europeia e nos Estados Unidos.

Quadro 6 - Valores de limite máximo permitidos em águas e alimentos segundo o CONAMA, a Anvisa, União Europeia e a USEPA

Matriz	Agência	CLO	CRE	PROC	PROP	TRI
Águas ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conama	-	-	-	-	20
	UE	-	-	-	-	-
	USEPA	-	-	-	-	-
Aveia	Anvisa	2000	NP	Proibido	NP	10

(µg Kg ⁻¹)	UE	12	48	120	6	30
	USEPA	6000	-	-	-	-
Arroz (µg Kg ⁻¹)	Anvisa	200	20	Proibido	2000	50
	UE	240	6	18	6	30
	USEPA	150	-	-	10000	-
Trigo (µg Kg ⁻¹)	Anvisa	2000	50	Proibido	NP	10
	UE	12	90	18	6	30
	USEPA	6000	-	-	-	50

NP: Não permitido

BR: Conama - RESOLUÇÃO CONAMA N° 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfeda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf

Anvisa - Monografias de agrotóxicos. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>.

UE: União Europeia - *European Commission*. Pesticide residue(s) and maximum residue levels (mg Kg⁻¹). Disponível em: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/maximum-residue-levels/eu-legislation-mrls_en

US: USEPA, Estados Unidos - *United States Environmental Protection Agency*. Pesticidas. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticides>.

9 OBJETIVOS

Desenvolver um método analítico baseado em solvente supramolecular para a pré-concentração simultânea de cinco pesticidas e determinação por HPLC-DAD.

9.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o desempenho do 1-decanol como solvente extrator dos pesticidas CLO, CRE, PROC, PROP e TRI;
- Otimizar as variáveis do método de microextração supramolecular univariadamente;
- Determinar os parâmetros analíticos de validação do método de microextração supramolecular;
- Avaliar a adequação do método aos princípios da química verde com auxílio da ferramenta AGREE;
- Aplicar o método de microextração supramolecular em amostras ambientais de águas e alimentícias de farinhas.

10 METODOLOGIA

10.1 REAGENTES E PREPARO DAS SOLUÇÕES

A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema de purificação Elga Purelab Máxima (High Wycombe, Bucks, UK), resistividade 18,2 M Ω cm. Todos os reagentes utilizados foram de qualidade analítica ou grau HPLC. Metanol (MeOH, \geq 99,9%), tetraidrofurano (THF) (\geq 99,9%), 1-decanol (DEC) (\geq 98,0%) e cloreto de sódio (NaCl) (\geq 99,9%), nitrato de sódio (NaNO₃) (\geq 99,9%) e sulfato de sódio (Na₂SO₄) (\geq 99,9%), ácido acético (AcOH, 99,8%), ácido fosfórico (H₃PO₄, 85,0%), ácido bórico (H₂BO₃, 99,5%), dihidrogenofosfato (NH₄H₂PO₄) e hidrogenofosfato de sódio (Na₂HPO₄) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA) todos de grau HPLC. Os padrões de pesticidas foram todos adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA).

O tampão Britton-Robinson (BR) foi preparado pela mistura de ácido bórico, ácido acético e ácido fosfórico, todos na concentração de 0,5 mol L⁻¹. O tampão fosfato (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻) foi preparado a partir do sal fosfato de sódio monobásico.

Soluções individuais foram preparadas para cada pesticida em MeOH, armazenadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração, todas as soluções dos pesticidas tinham concentração de 100 mg L⁻¹. As soluções de trabalho eram preparadas diariamente, a partir das soluções estoque, por dissolução do volume adequado em água ultrapura.

10.2 INSTRUMENTAÇÃO

As determinações de pH foram realizadas em um pHmetro digital de laboratório Metrohm® pH 827 (Herisau, Suíça) equipado com um eletrodo de vidro Metrohm® Primatrodé com sensor de temperatura integrado (Herisau, Suíça). A agitação em vortex foi realizada com o oscilador de vórtice SCIOLOGEX® MX-S (Rocky Hill, CT, EUA) e a centrifugação em uma centrífuga QUIMIS® 0222T2 (Diadema, SP, Brasil).

10.3 DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA

A determinação cromatográfica foi efetuada utilizando um cromatógrafo líquido (HPLC-DAD) modelo LC-20AT, Shimadzu (Tóquio, Japão). A fase estacionária consistiu em uma coluna C₁₈, (Phenomenex-250 mm x 4.5 mm, tamanho de partícula de 5 μ m) e pré-coluna (Phenomenex®, 4.0 mm x 30 mm i.d., 5 μ m). A temperatura do forno foi ajustada em 30 °C e a vazão de fase móvel 1,0 mL min⁻¹. A fase móvel era constituída de um gradiente

entre MeOH e H₂O. O gradiente consistiu em: MeOH:H₂O (70:30, v/v), 0,00 min; MeOH:H₂O (de 70:30 a 80:20, v/v), 0,01 – 9,00 min; MeOH: H₂O (80:20, v/v), 9,00 – 12,00 min; MeOH: H₂O (de 80:20 a 90:10, v/v), 12,00 – 15,00 min; MeOH: H₂O (90: 10, v/v), 15,00 – 21,00 min. Na Tabela 10 são apresentados os tempos de retenção em ordem crescente e o comprimento de onda de cada pesticida.

Tabela 10 – Pesticidas, sigla, tempo de retenção em ordem crescente e comprimento de onda

Pesticida	Sigla	Tempo de retenção (min)	Comprimento de onda (nm)
Clorantraniliprole	CLO	6,2	206,0
Propanil	PROP	7,9	210,0
Cresoxim-metílico	CRE	10,2	200,0
Procloraz	PROC	12,6	200,0
Trifluralina	TRI	19,1	200,0

10.4 PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR

Em um tubo de ensaio, foram adicionados 10,0 mL de solução aquosa dos pesticidas, pH ajustado em 4 com uso de tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 100,0 µL de 1-decanol e 400,0 µL de THF (sem adição de NaCl). Em seguida, a mistura foi agitada por um oscilador de vórtice durante 2 minutos e submetida a centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos. Com uma micropipeta, a fase rica contendo 1-decanol e os analitos foi retirada, transferida para frascos *vial* e analisada por HPLC-DAD.

10.5 ESTUDO DAS MELHORES CONDIÇÕES DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR

O efeito de variáveis experimentais do método supramolecular sobre a eficiência de extração dos analitos foi investigado de maneira univariada, ou seja, avaliando uma variável por vez e mantendo as demais fixadas. A concentração dos padrões submetidos às microextrações foi: CLO e PROP: 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹, e TRI 600 µg L⁻¹. O volume de extração foi fixado em 10,0 mL de solução. Na Tabela 11 são apresentadas as variáveis e os valores avaliados.

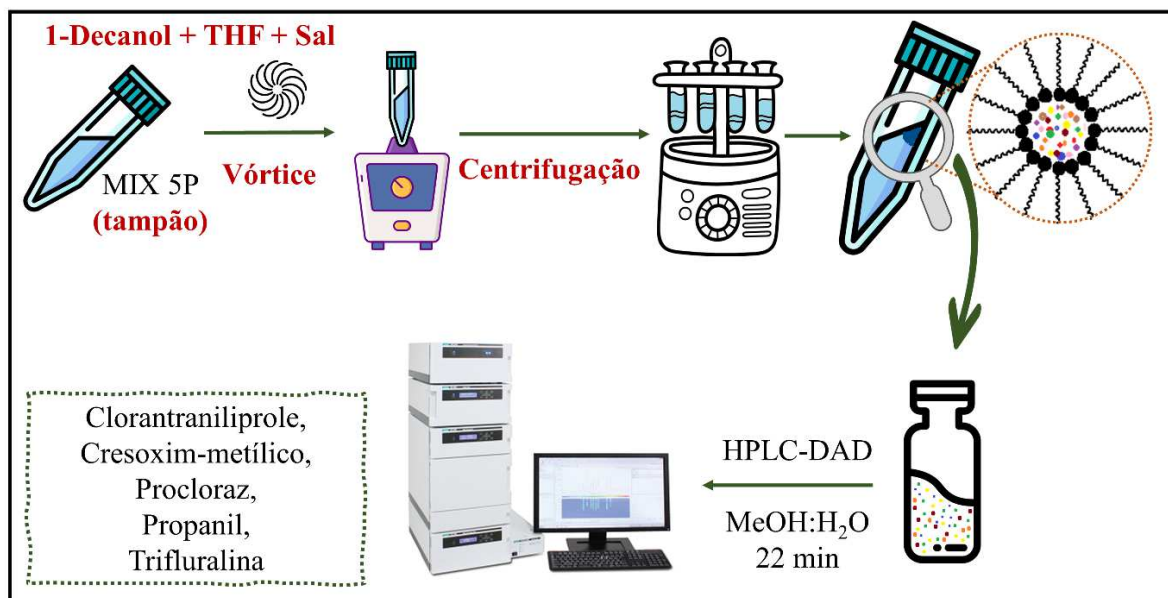
Tabela 11 - Variáveis experimentais avaliadas

Variável	Valores avaliados
-----------------	--------------------------

pH	4,0; 6,0; 8,0 e 10,0
Volume de 1-decanol (DEC) (μL)	50,0; 75,0; 100,0; 125,0 e 150,0
Volume de tetrahidrofurano (THF) (μL)	100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 600,0; 700,0; 1000,0; 1500,0 e 2000,0
Adição de sal (NaCl) (% m/v)	0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 5,0
Tipo de sal	NaCl, NaNO ₃ e Na ₂ SO ₄
Concentração do tampão (mol L ⁻¹)	0,1; 0,05; 0,01 e 0,005
Tipo de tampão	BR e Fosfato
Tempo de vórtice (segundos)	30; 60; 90; 120 e 150
Tempo de centrifuga (segundos)	120; 300; 600 e 900

O esquema do processo de microextração e as variáveis estudadas é apresentado na Figura 20.

Figura 20 - Esquema de extração e variáveis estudadas



Fonte: Autoria própria.

10.6 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS

Após a obtenção das condições otimizadas de microextração supramolecular, duas curvas analíticas para cada analito foram obtidas, ambas em meio aquoso: a primeira com volume de solução de 10,0 mL passando pelo processo de pré-concentração supramolecular, a

segunda injetando as soluções padrão diretamente no sistema cromatográfico. Com a obtenção da equação da reta de ambas as curvas analíticas, calculou-se o limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), de acordo com a IUPAC (Equações 5 e 6, respectivamente) (Long, Gary L.; Winefordner, 1983). Em que *std* é o desvio padrão da leitura de dez brancos e *m* o coeficiente angular da curva analítica.

$$LD = \frac{3 \text{ std}}{m} \quad \text{Equação 5}$$

$$LQ = \frac{10 \text{ std}}{m} \quad \text{Equação 6}$$

As precisões inter/intradia foram calculadas com a injeção da fase rica de duas soluções padrões após o processo de microextração supramolecular, com as concentrações CLO e PROC: 75 e 225 µg L⁻¹; CRE e PROP: 25 e 75 µg L⁻¹; TRI: 150 e 450 µg L⁻¹. Os desvios-padrão relativos (DPR, %) foram calculados para determinar a precisão.

10.7 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Amostras ambientais de águas superficiais foram coletadas em dois lagos e um riacho. O Lago Schmidt é localizado na cidade Apucarana, na região norte do Paraná – BR (coordenadas: 23°32'12.2"S 51°25'39.9"W), a coleta foi realizada dia 27/11/2021. O Lago Igapó é localizado na cidade de Londrina, também na região norte do Paraná – BR (coordenadas: 23°19'15.2"S 51°10'54.9"W) e a coleta foi realizada em 19/01/2022. O riacho Sol e Ouro é localizado na cidade de Medianeira, região oeste do Paraná – BR (coordenadas: 25°20'37.7"S 54°05'47.1"W) e a coleta foi realizada em 17/04/2022. Todas as amostras foram armazenadas em frascos âmbar e pH 2,0 ajustado pela adição de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de Nylon® de 0,45 µm (GVS Filter Technology, Morecambe, Reino Unido) para remover partículas em suspensão e armazenadas no refrigerador sob proteção de luz até a análise.

Anteriormente ao procedimento de microextração supramolecular, o pH das amostras foi ajustado no pH de trabalho, com a adição do tampão e do sal. Em um tubo de ensaio, adicionou-se 10,0 mL da amostra, 1-decanol e THF em seus volumes ótimos, em seguida, a amostra foi agitada em vortex e centrifugada. A fase rica foi separada da fase aquosa e analisada no HPLC-DAD. Os experimentos de adição e recuperação foram realizados em três níveis, considerando-se o valor de LQ obtido para cada pesticida.

10.8 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS ALIMENTÍCIAS

A aplicação do método de microextração supramolecular em amostras alimentícias foi baseada no procedimento descrito por (ALothman et al., 2020 e Caballero-Casero et al., 2018 e (Lara et al., 2020 e López-Jiménez et al., 2010) com pequenas alterações. Diferentes tipos de farinhas de cereais foram adquiridos em mercados locais de Londrina – PR e armazenados conforme recomendação da embalagem até a análise. Para cada amostra, 6,0 g de farinha foram adicionados a 300,0 mL de água tamponada com tampão BR e NaCl e deixados em *overnight*. Após o período de descanso, a amostra foi filtrada e o sobrenadante foi evaporado lentamente a 60 °C até obter-se 10,0 mL de volume e o procedimento de microextração foi realizado, com a adição de 1-decanol e THF. Em seguida o tubo foi agitado e centrifugado. Com a separação de fases, a fase rica foi coletada e injetada em HPLC-DAD. Experimentos de adição e recuperação foram realizados em triplicata, seguindo o mesmo procedimento acima descrito, com a adição do LMR permitido para cada pesticida segundo a União Europeia (Quadro 6), a fim de verificar a exatidão e possíveis efeitos de matriz do método.

11 RESULTADOS E DISCUSSÃO

11.1 MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS PESTICIDAS

Inicialmente, os testes de microextração supramolecular foram realizados com um volume de pré-concentração de 10,0 mL de solução com a concentração CLO e PROP de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e TRI de 600 $\mu\text{g L}^{-1}$. A solução tinha o pH ajustado em 4,0 com tampão BR 0,01 mol L^{-1} e adicionou-se 100,0 μL de 1-decanol e 500,0 μL de THF (não houve adição de sal). O tubo de ensaio foi agitado por 2 minutos em vortex e centrifugado por 10 minutos.

A fase rica composta de 1-decanol e os pesticidas extraídos foi injetada no HPLC-DAD, assim como a solução dos analitos sem passar pelo processo de pré-concentração, a fim de comparar o ganho de sinal dos analitos e avaliar a viabilidade do procedimento de microextração. Os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 21. Observa-se o ganho de sinal analítico dos pesticidas comparando a solução sem a etapa de pré-concentração e a fase rica obtida.

Figura 21 – Cromatogramas da injeção do mix dos pesticidas em água e da fase supramolecular rica. Condições SUPRA: 10,0 mL de solução aquosa pH ajustado em 4, tampão BR 0,01 mol L^{-1} sem adição de sal, 100,0 μL de 1-decanol, 500,0 μL de THF, 2 min de agitação e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e TRI 600 $\mu\text{g L}^{-1}$. Comprimento de onda dos cromatogramas: $\lambda = 206 \text{ nm}$

11.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO SUPRAMOLECULAR

Sabendo-se a importância de estudar as variáveis que compõe o sistema de microextração supramolecular em conjunto com a água, um estudo univariado foi conduzido: pH, volume de 1-decanol, volume de THF, adição de sal (concentração e tipo), tampão (concentração e tipo), tempo de vortex e tempo de centrifugação.

Em sistemas supramoleculares não iônicos, como no caso do uso do 1-decanol como extrator, uma forma muito eficaz de promover o crescimento dos agregados micelares é diminuir o número de moléculas de solvente disponíveis para solvatação, o que pode ser obtido com a modificação da temperatura ou adicionando um solvente pobre para o agregado a ser coacervado. A água desempenha esse papel, fazendo com que as interações anfífilicas-anfífilicas sejam mais fortes do que as interações anfífilicas-solventes, devido a competição pelo solvente de solvatação, que induz ao crescimento agregado e à separação da fase líquida (Rubio, 2020). Para isso, o volume de solução aquosa foi mantido fixo em 10,0 mL em todos os experimentos.

11.2.1 pH

O pH é uma variável importante quando algum dos analitos contém grupos ionizáveis, influenciando a forma de ionização dos analitos, afetando sua solubilidade em água e capacidade de extração, devido ao fato que a forma neutra da molécula é preferível, para diminuir a solubilidade aquosa e aumentar o particionamento para o meio extrator (Ballesteros-Gómez et al., 2019).

As características dos pesticidas estudados demonstram que quatro deles sofrem processo de protonação e desprotonação com a mudança do pH, somente a TRI mantém sua estrutura na forma molecular em toda a faixa de pH. As estruturas dos pesticidas e a dependência da mudança do pH são mostrados nas Figuras 22 até 25.

Figura 22 – Distribuição das espécies de CLO em relação ao pH. As demais espécies de CLO são apresentadas no Apêndice E

Fonte: Adaptado de Chemicalize (Chemaxon, 2023).

Figura 23 – Distribuição das espécies de CRE em relação ao pH

Fonte: Adaptado de Chemicalize (Chemaxon, 2023).

Figura 24 – Distribuição das espécies de PROC em relação ao pH

Fonte: Adaptado de Chemicalize (Chemaxon, 2023).

Figura 25 – Distribuição das espécies de PROP em relação ao pH

Fonte: Adaptado de Chemicalize (Chemaxon, 2023).

A faixa de trabalho de pH 4,0 a 10,0, com os resultados mostrados na Figura 26, não contemplou os valores em que as moléculas dos pesticidas mudam sua estrutura em função do

pH. Assim, os pesticidas encontravam-se no estado neutro e não é observado uma ampla variação entre os valores de sinais cromatográficos obtidos nos diferentes pH avaliados. Para a sequência dos experimentos, optou-se pelo pH 6,0, próximo ao valor neutro, com o intuito de facilitar a aplicação em amostras de água naturais em experimentos futuros.

Figura 26 – Efeito da variação do pH na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas, tampão BR 0,01 mol L⁻¹, ausência de sal, 100,0 µL de 1-decanol, 500,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

11.2.2 1-Decanol

A estrutura química do anfifílico usado como extrator tem forte influência no processo de solubilização dos analitos e consequentemente, pré-concentração, devido aos anfifílicos serem capazes de estabelecer diferentes tipos de ligações com compostos orgânicos. Devido a sua estrutura, cadeia hidrocarbonada e um grupo polar, eles podem solubilizar solutos através de dispersão, interações dipolo-dipolo e dipolo induzidas por dipolo. Grupos aceitadores ou doadores de prótons, como é o caso do grupo -OH, podem interagir com os analitos por ligações de hidrogênio. A eficiência de extração depende da quantidade de anfifílicos e energias de ligação (iônica > ligação de hidrogênio > dipolo-dipolo > dipolo induzido por dipolo > dispersão) no solvente supramolecular (Ballesteros-Gómez et al., 2010).

Em sistemas supramoleculares em que alcanóis são utilizados, agregados de micelas reversas são formados espontaneamente por meio de processos de automontagem, isto é, os

grupos polares (grupo hidroxila) das moléculas anfífilas se organizam na parte interna da micela com a cadeia hidrocarbonada apolar interagindo com o tetrahidrofurano (Musarurwa; Tavengwa, 2021b) (conforme a Figura 2).

A quantidade de anfílico é um fator primordial no processo e estudar a quantidade de 1-decanol adicionada ao sistema é de extrema importância. Uma quantidade pequena de 1-decanol pode não ser eficiente no processo de extração, devido ao fato que os agregados micelares não são formados em concentrações abaixo da concentração crítica de agregação e, conseqüentemente, ocorre uma extração inadequada e ineficiente. Ao passo que, grandes quantidades de 1-decanol podem diluir os analitos e gerar respostas inferiores do ponto de vista de sinal analítico (Ballesteros-Gómez et al., 2019).

Considerando-se o que foi discutido, estudou-se volumes entre 50,0 e 150,0 μL de 1-decanol (Figura 27).

Figura 27 - Efeito do volume de 1-decanol na microextração supramolecular dos pesticidas ($n= 3$). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, ausência de sal, 500,0 μL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e TRI 600 $\mu\text{g L}^{-1}$

Fonte: Autoria própria.

Observa-se na que a menor quantidade avaliada (50,0 μL) apresentou, em geral, o maior sinal analítico, porém, apresentou maiores valores de desvio padrão, comparado aos demais volumes, devido à dificuldade na separação de fases e coleta da fase rica, o que levava

a um erro experimental e conseqüentemente, maior desvio padrão em relação aos demais experimentos.

O aumento da quantidade 1-decanol faz a resposta analítica diminuir e 150,0 μL apresentou o menor valor de área cromatográfica para todos os pesticidas. O padrão de diminuição da resposta analítica com o aumento do volume de 1-decanol é visível exceto para a trifluralina. Para esse pesticida, não é possível estabelecer um padrão, o maior valor de área cromatográfica foi obtido com 75,0 μL e os volumes de 50,0 e 125,0 μL apresentaram área cromatográfica semelhantes.

Dessa forma, optou-se por trabalhar com o volume de 1-decanol de 75,0 μL , que ainda resultava em valores de sinais analíticos elevados.

11.2.3 THF

O tetrahidrofurano desempenha papel duplo durante a formação da fase supramolecular. Inicialmente, provoca dispersão dos anfifílicos na solução da amostra, e depois da etapa de centrifugação, promove a automontagem das micelas e solvata as cadeias de hidrocarbonetos. Assim, um pequeno volume de THF em relação ao volume de 1-decanol, não é suficiente para dispersar as moléculas de 1-decanol, levando a uma baixa extração dos pesticidas, enquanto um volume elevado pode causar uma dissolução dos pesticidas, diminuindo o sinal cromatográfico.

O volume de THF foi avaliado na faixa de 100,0 – 2000,0 μL . Analisando os resultados mostrados na Figura 28, observa-se que para os volumes entre 100,0 e 400,0 μL , o sinal cromatográfico aumenta, atingindo valor máximo em 400,0 μL e, diminui com 500,0 μL , um comportamento padrão, explicado pela diluição dos pesticidas no THF.

Figura 28 - Efeito do volume de THF na microextração supramolecular dos pesticidas. Condições: 10 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L^{-1} , ausência de sal, 75,0 μL de 1-decanol, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e TRI 600 $\mu\text{g L}^{-1}$

Fonte: Autoria própria.

Assim, esperava-se que volumes maiores de 500,0 μL , os valores de sinal cromatográfico continuassem a diminuir, o que não foi verificado para os volumes 600,0 μL , 1000,0 μL e 1500,0 μL . Duas hipóteses podem explicar esse comportamento. A primeira é que em sistemas supramoleculares compostos por ácidos carboxílicos ou alcanóis, o aumento do solvente orgânico leva ao aumento do tamanho interno dos agregados micelares, justificando o aumento da resposta para alguns pesticidas (Ruiz et al., 2007).

Uma segunda hipótese é a de interação dos pesticidas com o THF, um solvente polar aprótico, por interações fracas como a entre pares de elétrons do THF e dos pesticidas, que contribuíram para a extração e levaram ao aumento de sinal cromatográfico. A interação entre pesticidas e THF, caracterizado como um solvente polar aprótico com baixa constante dielétrica e prevalência de forças de ligação dispersivas, amplifica a extração de compostos de baixa polaridade. Quando o THF é combinado com água, um solvente que possui uma elevada constante dielétrica e uma prevalência de forças de ligação de hidrogênio, resulta em misturas de polaridade e solubilidade variadas. Isto, por sua vez, promove a formação de agregados supramoleculares em uma ampla gama de composições (Dueñas-Mas et al., 2022). Observa-se no Quadro 5 que todos os pesticidas têm solubilidade elevada em acetona, que também é um solvente polar aprótico, corroborando com a possibilidade de interação com o THF.

Apesar dessa possibilidade, não é possível estabelecer um padrão no aumento ou diminuição de sinal analítico dos pesticidas. Utilizando o maior volume, 2000,0 μL , para

quatro pesticidas, esse é o volume com a menor quantidade extraída. Enquanto para a trifluralina, os volumes de 700,0 e 1000,0 μL diminuem a extração. Destaca-se o volume de 600,0 μL , que apresentou valores de sinal cromatográfico maiores que os obtidos com 500,0 μL para todos os analitos, contrariando a tendência de diminuição. O mesmo comportamento é observado com 1500,0 μL , que para clorotraniliprole, cresoxim-metílico, propanil e trifluralina tem valores de sinal cromatográfico maiores que para os volumes de 700,0 e 1000,0 μL .

O volume de THF de 400,0 μL foi escolhido para a sequência experimental, devido ao fato de ter apresentado maiores valores de sinal cromatográfico.

11.2.4 Sal

A incorporação de sal ao meio extrator é efetuada para aumentar a recuperação da extração por efeito de *salting-out*. A presença de sal de eletrólito na amostra aquosa aumenta sua força iônica, reduzindo a solubilidade do analito na solução aquosa, o que, por sua vez, facilita o particionamento dos analitos alvo para a fase extratora (Elencovan et al., 2022).

A presença de uma espécie de sal inorgânico considerado um eletrólito forte (NaCl , NaNO_3 , Na_2SO_4 , AlCl_3 , MgSO_4 , MgCl_2 , AlCl_3 , entre outros exemplos) na amostra aquosa, aumenta a força iônica do meio, devido ao fato que eles são dissociados e hidrolisados, formando ânions e cátions. A água forma uma esfera de hidratação ao redor desses íons, reduzindo a disponibilidade para solvatar as moléculas dos pesticidas na fase aquosa, diminuindo a solubilidade e favorecendo sua partição na fase de extração. Esse efeito pode ser desfavorável a analitos polares, que podem participar de interações eletrostáticas com os íons do sal em solução e, como resultado, reduzem a capacidade de extração do solvente de extração ou quando a viscosidade e a densidade do sistema aumentam com excesso de sal dificultando a transferência dos pesticidas de matriz aquosa para o solvente de extração (Seebunrueng et al., 2015).

A fim de identificar qual a quantidade em proporção de massa/ volume acarreta melhores valores de sinais cromatográficos, o cloreto de sódio, que é comum e amplamente disponível em laboratórios, foi escolhido como agente de *salting-out* (Figura 29).

Observa-se na Figura 29 um incremento de ganho de sinal com o aumento da proporção de NaCl de 1% até 4% e a diminuição com 5% de m/v de NaCl . Para os pesticidas CLO, PROP e TRI, chama a atenção os valores de sinal cromatográficos obtidos na ausência

de NaCl maiores que a adição de 1% de NaCl m/v, indicando que o método de extração é viável na ausência do efeito *salting-out*.

Apesar desses resultados, durante o desenvolvimento dos experimentos, observou-se que a ausência do sal dificultava o processo de separação de fases, levando a erros na coleta da fase rica, justificado pelo fato que esse processo é facilitado por estímulos externos, como a adição do sal. Desse modo, optou-se por trabalhar com 4% de NaCl m/v.

Figura 29 - Efeito da presença de sal na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0 e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

Também se verificou a influência do tipo de sal na eficiência de extração pela adição de sais de sódio com diferentes ânions, NaCl, NaNO₃ e Na₂SO₄, todos eletrólitos fortes, ou seja, dissociam-se completamente em solução aquosa (Figura 30).

Figura 30 - Efeito do tipo de sal na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 4% de sal (m/v) e tampão BR 0,01 mol L⁻¹, 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

Nota-se na Figura 30 que não existe diferença entre os resultados obtidos para cada pesticida com os diferentes tipos de sais, apesar da diferença de carga entre os ânions monovalentes Cl⁻ e NO₃⁻ e o ânion divalente SO₄²⁻. Embora eletrólitos contendo ânions divalentes serem mais eficazes em promover a salga da solução aquosa do que aqueles contendo ânions monovalentes devido a maior a competição pela hidratação da água (Akbaş; Batigöç, 2009; Ballesteros-Gómez et al., 2010), que leva a diminuição da solubilidade dos pesticidas, esse não foi o resultado observado e, portanto, o NaCl seguiu sendo usado na sequência dos experimentos.

11.2.5 Efeito do Tampão

Na seção pH, verificou-se que o pH é uma variável muito importante no processo de microextração supramolecular, em que a sua variação pode resultar em melhores valores de sinal analítico. Considerando essa importância, durante a realização dos experimentos, o controle do pH é facilitado pela presença de um tampão, uma solução capaz de resistir a mudanças de pH quando ácidos ou bases são adicionados.

Até a realização desse experimento, o tampão Britton-Robinson (tampão BR) na concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ estava sendo utilizado para o ajuste do pH em 6,0, conforme resultado descrito anteriormente. Em primeiro lugar, avaliou-se a concentração desse tampão, de $0,005$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, e os resultados são mostrados na Figura 31.

Figura 31 - Efeito da concentração de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas ($n=3$). Condições: $10,0 \text{ mL}$ de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 4% de NaCl (m/v), $75,0 \mu\text{L}$ de 1-decanol, $400,0 \mu\text{L}$ de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP $300 \mu\text{g L}^{-1}$, CRE e PROC $100 \mu\text{g L}^{-1}$ e TRI $600 \mu\text{g L}^{-1}$

Fonte: Autoria própria.

Ressalta-se que a concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ apresenta os melhores valores de sinal cromatográfico, corroborando o seu uso como concentração de tampão.

Na sequência, avaliou-se também o tipo de tampão empregado, considerando o pH de trabalho em 6,0 e a concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Para isso, usou-se tampão BR (faixa tamponante 2,0 – 12,0) e tampão fosfato (tamponante próximo de pH 7,0). O tampão BR é obtido a partir de uma mistura dos ácidos bórico, acético e fosfórico, enquanto o tampão fosfato é obtido a partir dos sais dihidrogenofosfato e hidrogenofosfato de sódio. Os resultados obtidos foram semelhantes para todos os pesticidas, conforme Figura 32, permitindo a continuidade do tampão BR na concentração de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 32 - Efeito do tipo de tampão na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão, 4% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF, 2 min de agitação em vortex e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

11.2.6 Tempo de Vortex

A agitação mecânica por um agitador de vórtice favorece ainda mais a dispersão da fase extratora na fase aquosa com a formação de minúsculas gotículas do 1-decanol, aumentando o contato com os pesticidas, obtendo-se uma maior eficiência na extração. Posteriormente essa etapa, ocorre a centrifugação, para separar as fases rica e aquosa. O tempo necessário para atingir as condições de equilíbrio para a extração foi de 120 s (Figura 33).

Para o tempo de extração mais longo, 150 s, as áreas dos picos diminuíram (exceto para o procloraz), devido possível restrição da formação da fase supramolecular. O incremento no tempo de agitação do vórtice teoricamente aumenta o tempo de contato, que por sua vez acelera a transferência de massa dos analitos alvo para o extrator, no entanto, após 120 s a eficiência de extração diminuiu, podendo ocorrer a retrodifusão dos analitos na solução da amostra (Elencovan et al., 2022 e (Salamat et al., 2018).

Figura 33 – Efeito do tempo de agitação em vortex na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão BR, 4% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF e 10 min de centrifugação. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

11.2.7 Tempo de Centrifugação

Essa etapa crucial afeta consideravelmente a qualidade e a quantidade de recuperação da fase rica e acelera o processo de isolamento e coleta após a extração. Os efeitos do tempo de centrifugação foram investigados na força de centrifugação de 2000 rpm.

O tempo de centrifugação foi variado na faixa de 120 a 900 segundos (2 a 15 minutos), e observa-se na Figura 34 que não ocorre um aumento do sinal cromatográfico com o aumento do tempo de centrifugação. Além disso, para o clorantraniliprole e o procloraz, 120 segundos é o tempo em obtém-se o melhor sinal cromatográfico.

Figura 34 – Efeito do tempo de centrifugação na microextração supramolecular dos pesticidas (n= 3). Condições: 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 0,01 mol L⁻¹ de tampão BR, 4,0% de NaCl (m/v), 75,0 µL de 1-decanol, 400,0 µL de THF e 120 s de vortex. Concentração dos pesticidas: CLO e PROP 300 µg L⁻¹, CRE e PROC 100 µg L⁻¹ e TRI 600 µg L⁻¹

Fonte: Autoria própria.

11.3 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS

O método de microextração supramolecular desenvolvido foi avaliado a fim de verificar a sua eficiência, com o cálculo dos parâmetros de validação de métodos analíticos para os cinco pesticidas: faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdia (Tabela 11).

Duas curvas analíticas foram obtidas: a primeira com a etapa de microextração supramolecular e a segunda, sem a etapa de pré-concentração (injeção direta no sistema cromatográfico). A faixa dinâmica de trabalho, apresentada na Tabela 12, demonstra a importância da etapa de pré-concentração dos pesticidas, pois observa-se que o CLO, CRE e PROC tiveram valores de faixa de trabalho inferiores ao menor ponto da curva analítica com injeção direta. Ainda, o PROP e a TRI, quando passam pela etapa de microextração, tem valores de faixa de trabalho inferiores ao primeiro ponto da injeção direta. A análise de pesticidas em níveis baixos é necessária para o cumprimento das legislações que exigem métodos altamente sensíveis.

Devido a faixa de trabalho da etapa de microextração contemplar valores baixos, os valores obtidos de LD e LQ, calculados conforme a orientação da IUPAC (Long, G. L.; Winefordner, 1983), são menores que os valores estabelecidos como limites máximos pelas agências reguladoras mostrados no Quadro 6 (Anvisa - Brasil, USEPA - Estados Unidos e UE - União Europeia), o que permite inferir que o método proposto é aplicável em amostras de água e alimentos.

Os valores de LQ teóricos calculados foram submetidos ao processo de microextração supramolecular e os valores de área obtidos foram adicionados como o primeiro ponto das curvas analíticas e usados como ponto inicial da faixa dinâmica de trabalho. Após esse procedimento, as regressões lineares obtidas foram estatisticamente validadas por ANOVA unidimensional (Tabela 12).

Para todas as curvas, no nível de confiança de 95%, os valores da razão entre as médias quadráticas do modelo pelo resíduo (f-valores*) foram maiores que os valores tabelados (Apêndice F), indicando bom ajuste do modelo aos dados experimentais. Não é notado a evidência de falta de ajuste para os valores observados em relação aos valores previstos pelo modelo nas condições e faixas de concentração escolhidas, uma vez que a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e média quadrática do erro puro (f-valores**) foi menor que o valor de f tabelado (Lemes; Tarley, 2021).

Tabela 12- Faixa dinâmica de trabalho, equação da reta, coeficiente de correlação das curvas analíticas e f-valores obtidas da ANOVA, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e precisão intradia e interdia

Parâmetro	Etapa de extração	CLO	CRE	PROC	PROP	TRI
Faixa dinâmica ($\mu\text{g L}^{-1}$)	SUPRAs	1,9 – 300,0	4,3 – 175,0	5,7 – 175,0	1,3 – 525,0	27,3 – 1050,0
	SPC	500,0 – 6000,0	500,0 – 6000,0	500,0 – 6000,0	500,0 – 6000,0	500,0 – 6000,0
Equação da reta	SUPRAs	$y = 10209,0x - 52415,4$	$y = 21281,0x + 16985,2$	$y = 17717,7x + 5438,3$	$y = 115130,3x + 14117,0$	$y = 4498,2x - 110381,8$
	SPC	$y = 116,6x + 13568,40$	$y = 250,6x + 88394,0$	$y = 156,3x + 47557,0$	$y = 156,3x + 31122,9$	$y = 89,7x - 340,6$
R ²	SUPRAs	0,9907	0,9964	0,9944	0,9922	0,9974
	SPC	0,9901	0,9956	0,9940	0,9974	0,9901
f-valor*	SUPRAs	10346,24	2511,19	182,78	3917,31	2366,67
	SPC	9917,12	2859,29	1870,16	5844,36	1828,12
f-valor**	SUPRAs	1,68	0,91	0,20	2,74	0,59

	SPC	1,04	2,10	1,85	2,54	3,02
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	SUPRAs	0,6	1,3	1,7	0,4	8,2
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	SUPRAs	1,9	4,3	5,7	1,3	27,3
FP	SUPRAs	87,5	84,9	74,9	90,3	50,1
Precisão intradia*** (DPR, %)	SUPRAs	4,7	8,7	5,6	7,6	7,2
	SUPRAs	4,5	8,0	9,0	8,4	12,4
Precisão interdia*** (DPR, %)	SUPRAs	4,4	6,3	7,6	6,0	7,6
	SUPRAs	3,6	8,3	9,0	6,9	4,3

SPC: sem pré-concentrar.

* $MQ_{\text{modelo}}/MQ_{\text{resíduos}}$ (Média quadrática do modelo/ Média quadrática dos resíduos).

** $MQ_{\text{faltadeajuste}}/MQ_{\text{erropuro}}$ (Média quadrática falta de ajuste/ Média quadrática do erro puro)

*** Concentrações estudadas: CLO: 75,0 e 225,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; CRE: 25,0 e 75,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; PROC: 25,0 e 75,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; PROP: 75,0 e 225,0 $\mu\text{g L}^{-1}$; TRI: 150,0 e 450,0 $\mu\text{g L}^{-1}$

As curvas analíticas obtidas, com o LQ inserido como primeiro ponto, são mostradas nas Figuras 35 até 39.

Figura 35 - Curvas analíticas do CLO com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta

Fonte: Autoria própria.

Figura 36 - Curvas analíticas do CRE com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta

Fonte: Autoria própria.

Figura 37 - Curvas analíticas do PROC com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta

Fonte: Autoria própria.

Figura 38 - Curvas analíticas do PROP com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta

Fonte: Autoria própria.

Figura 39 - Curvas analíticas do TRI com a etapa de pré-concentração supramolecular e injeção direta

Fonte: Autoria própria.

Os parâmetros analíticos obtidos no método desenvolvido foram comparados com outros métodos relatados na literatura para a quantificação dos sete pesticidas e determinação por HPLC-DAD (Tabela 13). Para alguns dos pesticidas estudados são escassos os trabalhos publicados que fazem a quantificação por HPLC-DAD, sendo mais comum o uso de equipamentos de cromatografia líquida mais sofisticados, como o UHPLC, ou acoplados a outros sistemas de detecção, como massas, LC-MS/MS. Esses equipamentos podem favorecer a sensibilidade analítica, mas a aquisição e manutenção desses é mais cara quando comparada a um HPLC-DAD. Por esse motivo, o desenvolvimento de um método analítico usando equipamentos menos sofisticados é interessante do ponto de vista econômico.

Observa-se nesses trabalhos, que devido ao fato de utilizar solventes orgânicos que não são compatíveis com a fase móvel cromatográfica, existe a necessidade de uma etapa de secagem do solvente de extração e a ressuspensão em um solvente adequado. Volumes elevados de solvente orgânico induzem ao uso de rota vapor ou nitrogênio líquido e posteriormente, retomar em fase líquida compatível com a fase móvel do HPLC (geralmente a composição da própria fase móvel), somando uma etapa a mais de trabalho antes da injeção no HPLC, aumentando a possibilidade de erros de análise.

Comparando os valores de LD e LQ do método desenvolvido com os apresentados na Tabela 13, observa-se que os valores obtidos no presente método são semelhantes aos alcançados em métodos de extração amplamente utilizados, como DLLME, QuEChERS e assistidos por outras técnicas, como ultrassom. Em relação aos métodos tradicionais, como LLE e SPE, os limites obtidos são menores, o que mostra que a microextração supramolecular melhora a sensibilidade de métodos analíticos clássicos. O método supramolecular mostrou ser rápido e simples, empregando apenas um vortex e uma centrifuga em seu processo, o que aumenta a frequência analítica e facilita seu emprego.

Outro destaque positivo do método desenvolvido é a análise multirésíduos de diferentes classes de pesticidas, sendo um inseticida, dois fungicidas e dois herbicidas, de diferentes grupos químicos, que por vezes são aplicados ao mesmo tempo ou em aplicações com pouco intervalo de tempo.

Tabela 13 - Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação dos pesticidas com detecção por HPLC-DAD

Método de extração	CLO	VPC	Tempo	Volume de solvente	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FPC	Aplicação	Referência
QuEChERS		15,0	1 min		20,0	60,0		Uva	(Malhat,

			mL acetato de etila						2012)
Sílica Gel			140,0 mL acetato de etila- éter de petróleo (1:25)	10,0	-		Tabaco		(Ge et al., 2014)
SUPRAs	10,0 mL	2 min	75,0 µL de 1- decanol	0,6	1,9	87,5	Água e amostras de farinhas		Este estudo
Método de extração CRE	VPC	Tempo	Volume de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência	
LLE	10,0 mL	2 min	30,0 mL HCl 0,002 mol L ⁻¹ e 10 mL éter etílico	362	-		Uva e vinho		(Abreu et al., 2005)
QuEChERS		3 min	10,0 mL ACN e 1% acetato	5	10		Polpa e pele de laranja		(Zhu et al., 2013)
MSPD (Alumina)			20,0 mL de ciclohexano/ acetato de etila (1:1)	50	100		Açaí		(Fróes et al., 2013)
QuEChERS		1 min	10,0 mL ACN e 1% ácido acético	10	50		Maçã		(Malhat et al., 2013)
QuEChERS		1 min	15,0 mL ACN e 1% ácido acético	1	3		Água e peixe		(Ammar et al., 2017)
SUPRAs	10,0 mL	2 min	75,0 µL de 1- decanol	1,3	4,3	84,9	Água e amostras de farinhas		Este estudo
Método de extração PROC	VPC	Tempo	Volume de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência	
UA-SDES- DLPME	5,0 mL	9 min	67,0 µL de DES	8,40	25,0		Sucos de frutas processados e chás		(Lin et al., 2021)
SUPRAs	10,0 mL	2 min	75,0 µL de 1- decanol	1,7	5,7	74,9	Água e amostras de farinhas		Este estudo
Método de extração PROP	VPC	Tempo	Volume de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência	
MSPD (Alumina)			12,0 mL de ACN	5,0	16,0		Arroz		(Tsochatzis et al., 2010)
Cartucho de C18	200,0 mL	40 min	2,0 mL, acetato de etila: diclometano (9:1 v/v)	1,0	3,0		Casca de arroz		(Tsochatzis et al., 2012)
DLLME	5,0 mL		103,0 µL Dissulfeto de carbono	0,03	-	91	Água de rio		(Saraji; Tansazan, 2009)

SUPRAs	10,0 mL	2 min	75,0 µL de 1-decanol	0,4	1,3	90,3	Água e amostras de farinhas	Este estudo
Método de extração TRI	VPC	Tempo	Volume de solvente	LD (µg L⁻¹)	LQ (µg L⁻¹)	FPC	Aplicação	Referência
LLE e SPE	15,0 mL de MeOH		3,0 mL de CH ₂ Cl ₂	1	-		Sucos de frutas	(Topuz et al., 2005)
SPE/QuEChERS	100,0 mL	10	35,0 mL de ACN	60	170		Óleo de oliva e de semente de uva	(Tuzimski; Rejczak, 2016)
SUPRAs	10,0 mL	2 min	75,0 µL de 1-decanol	8,2	27,3	50,1	Água e amostras de farinhas	Este estudo

FPC: Fator de pré-concentração; LD: Limite de detecção; LQ: Limite de Quantificação; SPE; VPC: Volume de pré-concentração; SPE: Extração em fase sólida; QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe; MSPD: dispersão da matriz em fase sólida; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; LLE: extração líquido-líquido; UA-SDES-DLPME: solvente eutético profundo assistido por ultrassom - microextração em fase líquida dispersiva por solidificação da fase rica.

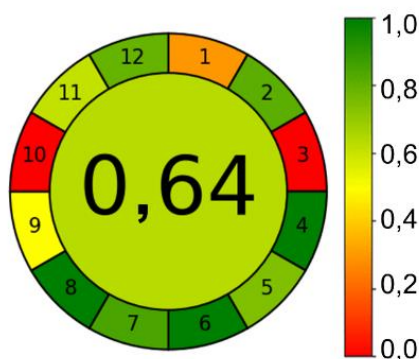
Ainda, verificou-se a adequação aos princípios da química verde do método de pré-concentração desenvolvido, visando avaliar a segurança dos operadores e os aspectos ambientais com a análise *AGREE - Analytical GREENness Metric* desenvolvida em 2020.

Avaliou-se 12 critérios com características distintas de procedimentos analíticos usando os 12 princípios da Química Analítica Verde em que cada aspecto recebe uma pontuação entre 0 e 1, que corresponde a um esquema de cores que varia do verde (1), amarelo, ao vermelho (0) e, uma nota geral dentro dessa escala. Após a análise, obtém-se um gráfico em estilo de relógio, com a pontuação geral centralizada e a nota de cada critério segmentada ao redor do círculo central, com as cores relativas à nota obtida.

Na Figura 40 é apresentado o resultado da análise. A avaliação geral, no centro do círculo, apresentou uma pontuação geral de 0,64, com cor verde clara, indicando um baixo impacto ambiental e que pode ser considerado um método verde. Destaca-se os princípios 4, 6 e 8, devido ao fato de o procedimento de amostragem requerer poucas etapas e nenhuma de derivatização e a análise multiresíduos, em que cinco pesticidas são determinados em cada procedimento. Os princípios 2, 5, 7, 11 e 12 tiveram boas avaliações, isto porque o método de microextração supramolecular utiliza pequena quantidade de amostra e solventes, e conseqüentemente, produz uma pequena quantidade de resíduos, com baixa toxicidade e poucos riscos para o operador. O princípio 9, em relação a escolha do instrumento registrou amarelo para o uso do HPLC-DAD. Como pontos negativos do método, os princípios 1, 3 e 10 foram registrados, devido ao procedimento de amostragem ser realizado offline e o

posicionamento do dispositivo analítico à medida que a amostra era pré-tratada antes da injeção no HPLC-DAD e o fato de que o solvente não era de fonte de base biológica, que oferece melhor sustentabilidade.

Figura 40 - Resultado da análise AGREE para o método de microextração supramolecular desenvolvido



Fonte: Autoria própria.

11.4 APLICABILIDADE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E ALIMENTÍCIAS

A viabilidade do método proposto foi avaliada na detecção e quantificação dos pesticidas em água natural, amostras de dois lagos (localizados nas cidades de Londrina e Apucarana) e um riacho (localizado na cidade de Medianeira). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 14.

As amostras foram escolhidas pelos motivos citados na seção de aplicação em amostra no Capítulo I, quanto a localização dos pontos de coleta. Não foi observado resíduos dos pesticidas avaliados e, prosseguiu-se com os testes de adição e recuperação, realizados em três níveis em triplicata. Os níveis avaliados para cada pesticidas foram escolhidos baseados no limite de quantificação obtidos na etapa anterior. Obteve-se recuperações na faixa de 81% - 111%, indicando a ausência de efeito matriz, de interferência e a viabilidade do método.

O método de microextração supramolecular desenvolvido foi aplicado também em amostras de farinha obtidas de grãos onde os pesticidas analisados são utilizados, arroz, aveia e trigo. Então, as amostras passaram pelo procedimento de adição e recuperação, de acordo com o LMR permitido pela União Europeia. A recuperação obtida na faixa de 81 a 95%, é adequada para as análises de pesticidas, corroborando ao fato que a presença de farinha não causa efeito de matriz e que o método independente da matriz.

Apesar do fato de nenhum dos pesticidas ser determinado nas amostras analisadas, o método analítico proposto neste estudo possui limite de quantificação satisfatoriamente baixo para realizar o monitoramento de resíduos desses pesticidas em amostras de águas e em produtos alimentícios derivados de grãos, segundo a legislação brasileira, conforme o Quadro 5.

Tabela 14 – Aplicação do método em amostras ambientais de águas e testes de adição e recuperação (n=3)

Local: Lago Schimidt (Apucarana – PR)									
Pesticida	Concentração adicionada			Concentração encontrada			Recuperação (%)		
	$(\mu\text{g L}^{-1})$			$(\mu\text{g L}^{-1})$					
CLO	4,0	6,0	8,0	$3,7 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,3$	93	96	101
CRE	9,0	13,0	17,0	$8,4 \pm 0,2$	$11,7 \pm 0,8$	$16,6 \pm 1,2$	93	90	98
PROC	11,0	17,0	23,0	$11,9 \pm 0,7$	$16,8 \pm 0,6$	$24,3 \pm 1,8$	108	99	106
PROP	3,0	4,0	5,0	$2,7 \pm 0,4$	$3,9 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,6$	89	98	109
TRI	55,0	82,0	109,0	$55,7 \pm 3,1$	$85,5 \pm 3,0$	$113,1 \pm 7,4$	101	104	104
Local: Riacho Sol e Ouro (Medianeira – PR)									
Pesticida	Concentração adicionada			Concentração encontrada			Recuperação (%)		
	$(\mu\text{g L}^{-1})$			$(\mu\text{g L}^{-1})$					
CLO	4,0	6,0	8,0	$3,9 \pm 0,3$	$5,4 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,4$	98	90	84
CRE	9,0	13,0	17,0	$9,3 \pm 1,2$	$12,2 \pm 0,7$	$14,9 \pm 0,6$	103	94	88
PROC	11,0	17,0	23,0	$10,4 \pm 1,8$	$17,1 \pm 0,7$	$23,5 \pm 0,9$	94	101	102
PROP	3,0	4,0	5,0	$2,4 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,6$	$5,2 \pm 0,5$	82	82	104
TRI	55,0	82,0	109,0	$52,8 \pm 4,3$	$83,5 \pm 2,7$	$93,7 \pm 2,3$	96	102	86
Local: Lago Igapó (Londrina – PR)									
Pesticida	Concentração adicionada			Concentração encontrada			Recuperação (%)		
	$(\mu\text{g L}^{-1})$			$(\mu\text{g L}^{-1})$					
CLO	4,0	6,0	8,0	$4,1 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,3$	103	97	91
CRE	9,0	13,0	17,0	$8,3 \pm 1,0$	$10,6 \pm 0,9$	$15,2 \pm 0,3$	92	81	90
PROC	11,0	17,0	23,0	$9,7 \pm 0,9$	$17,5 \pm 0,7$	$22,1 \pm 0,6$	88	103	96
PROP	3,0	4,0	5,0	$2,5 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,5$	82	87	102
TRI	55,0	82,0	109,0	$60,9 \pm 0,3$	$83,4 \pm 3,9$	$108,8 \pm 4,9$	111	102	100
Farinha de Aveia									
Pesticida	Concentração adicionada			Concentração encontrada			Recuperação (%)		
	$(\mu\text{g kg}^{-1})$			$(\mu\text{g kg}^{-1})$					
CLO	12,0			$10,7 \pm 0,3$			90		
CRE	48,0			$41,2 \pm 1,3$			86		
PROC	120,0			$97,7 \pm 4,6$			81		
PROP	6,0			$5,1 \pm 0,5$			85		
TRI	30,0			$28,4 \pm 0,7$			95		
Farinha de Trigo									
Pesticida	Concentração adicionada			Concentração encontrada			Recuperação (%)		
	$(\mu\text{g kg}^{-1})$			$(\mu\text{g kg}^{-1})$					

	($\mu\text{g kg}^{-1}$)	($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
CLO	12,0	10,2 \pm 0,5	85
CRE	90,0	85,1 \pm 2,0	95
PROC	18,0	15,9 \pm 0,7	89
PROP	6,0	5,4 \pm 0,3	90
TRI	30,0	28,5 \pm 0,3	95

Farinha de Arroz			
Pesticida	Concentração adicionada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Concentração encontrada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Recuperação (%)
CLO	240,0	214,0 \pm 4,6	89
CRE	6,0	5,3 \pm 0,2	89
PROC	18,0	15,0 \pm 0,5	83
PROP	6,0	5,1 \pm 0,2	87
TRI	30,0	27,9 \pm 0,2	93

O cromatograma da aplicação na água do rio da cidade de Medianeira é apresentado na Figura 41.

Figura 41 – Cromatograma da amostra de Rio da cidade de Medianeira – PR, fortificada no nível 2,0xLQ

Fonte: Autoria própria.

Neste estudo, nenhum dos pesticidas avaliados nesse estudo foi encontrado nas amostras de águas e farinhas estudadas. Nos artigos citados na Tabela 13, somente o herbicida propanil foi detectado em três amostras de água coletadas na Grécia no trabalho de Tsochatzis

e colaboradores (2012), com concentrações variando de 0,8 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tsochatzis et al., 2012).

Stringhini e colaboradores (2021) encontraram clorantraniliprole (11,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$) em uma amostra de tomate, sendo seu uso não autorizado no Brasil para tomate (Stringhini et al., 2021). Jahan e colaboradores mostraram que das 50 amostras de beringela coletadas em diferentes mercados, em 8 foram detectados resíduos de clorantraniliprole variando de 14,0 a 332,0 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (Jahan et al., 2023).

Cresoxim-metil foi detectado em duas amostras de abobrinha e duas amostras de pepino com concentrações de 0,1–128,3 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ no trabalho de Hu e colaboradores (2023), abaixo do LMR preconizado na China (Hu et al., 2023).

Zhang e colaboradores encontraram trifluralina em amostras de peixes de diferentes cidades da China com concentração de 0,55 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 0,68 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Zhang et al., 2019).

12 CONCLUSÃO

Um novo método de extração supramolecular é apresentado focado na extração de diferentes classes de pesticidas, um inseticida, dois fungicidas e dois herbicidas frequentemente aplicados em culturas de grãos.

O método foi desenvolvido empregando uma análise univariada das variáveis estudadas, o que permitiu estudar mais variáveis minuciosamente e analisar o comportamento dos pesticidas com a mudança das variáveis. Assim, chegou-se ao método de microextração supramolecular otimizado em pesticidas com a concentração de clorantraniliprole e propanil de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, cresoxim-metílico e procloraz 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e trifluralina 600 $\mu\text{g L}^{-1}$, com 10,0 mL de solução dos pesticidas com pH ajustado em 6,0, 75,0 μL de decanol, 400,0 μL de THF, 4,0% de NaCl (m/v), 0,01 mol L^{-1} de tampão BR e 120 s de vortex e 120 s de centrifugação.

Obteve-se os parâmetros analíticos do método desenvolvido, com limites de quantificação que compreendem em sua maioria as legislações brasileiras e internacionais, fatores de pré-concentração variando de 50,1 a 90,3 e, principalmente, um método rápido e simples, com apenas 120 s de vortex para pré-concentração e 120 s de centrifugação para separar as fases. A aplicação do método em amostras de águas e farinhas não apresentou efeitos de matriz, com recuperações dentro da faixa satisfatória, indicando que o método pode ser empregado na extração e pré-concentração desses pesticidas.

13 REFERENCIAS

ABASTECIMENTO, S. D. A. E. DO. Levantamento da Produção Agropecuária. Disponível em: <<https://www.agricultura.pr.gov.br/deral/ProducaoAnual>>.

AHMAD, S. M.; GOMES, M. I.; IDE, A. H.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F. Monitoring traces of organochlorine pesticides in herbal matrices by bar adsorptive microextraction – Application to black tea and tobacco. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 10, p. 1363–1377, 2021. doi.org/10.1080/03067319.2019.1682140.

AHMADI-JOUIBARI, T.; SHAAHMADI, Z.; MORADI, M.; FATTAHI, N. Extraction and determination of strobilurin fungicides residues in apple samples using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on a novel hydrophobic deep eutectic solvent followed by H.P.L.C-U.V. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2021. doi.org/10.1080/19440049.2021.1978559.

AHMED, R. K.; SAAD, E. M.; FAHMY, H. M.; EL NASHAR, R. M. Multivariate experimental design: towards more reliable electrochemical detection. **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 31, p. 100880, 2022. doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100880.

AKBAŞ, H.; BATIGÖÇ, Ç. Spectrometric studies on the cloud points of Triton X-405. **Fluid Phase Equilibria**, v. 279, n. 2, p. 115–119, 2009.

ALCÂNTARA, D. B.; FERNANDES, T. S. M.; NASCIMENTO, H. O.; et al. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food Chemistry**, v. 298, n. June, p. 124958, 2019. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124958.

ALGAR, L.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Methanetriyl-pi hydrogen bonding in nonpolar domains of supramolecular nanostructures: An efficient mechanism for extraction of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons from soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1667, p. 462879, 2022. doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462879.

ALOTHMAN, Z. A.; YILMAZ, E.; HABILA, M. A.; et al. Development of combined-supramolecular microextraction with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry procedures for ultra-trace analysis of carbaryl in water, fruits and vegetables. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2020. doi.org/10.1080/03067319.2020.1738419.

ANDRADE, G. C. R. M.; MONTEIRO, S. H.; FRANCISCO, J. G.; et al. Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and dynamic multiple reaction monitoring method for determining multiple pesticide residues in tomato. **Food Chemistry**, v. 175, p. 57–65, 2015. doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.105.

ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA): relatório das amostras analisadas no período de 2017-2018. 2019.

ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA Plano Plurianual 2017-2022 – Ciclos 2018-2019 e 2022. 2023a.

ANVISA. Monografias de Agrotóxicos. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acesoainformacao/dadosabertos/informacoes-analiticas/monografias-de-agrotoxicos>>.

AZIZI, A.; BOTTARO, C. S. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1614, p. 460603, 2020. doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460603.

AZZOUZ, A.; KAILASA, S. K.; LEE, S. S.; et al. Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 347–369, 2018. doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.009

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; LUNAR, L.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Hyphenating Supramolecular Solvents and Liquid Chromatography: Tips for Efficient Extraction and Reliable Determination of Organics. **Chromatographia**, v. 82, n. 1, p. 111–124, 2019. doi.org/10.1007/s10337-018-3614-1.

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S. Environment-responsive alkanol-based supramolecular solvents: Characterization and potential as restricted access property and mixed-mode extractants. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 342–349, 2012. doi.org/10.1021/ac2026207.

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S. Supramolecular solvents for multi-target and matrix-independent sample preparation. **Advances in Sample Preparation**, v. 7, n. June, p. 100085, 2023. doi.org/10.1016/j.sampre.2023.100085.

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Potential of supramolecular solvents for the extraction of contaminants in liquid foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 3, p. 530–539, 2009. doi.org/10.1016/j.chroma.2008.06.029

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 677, n. 2, p. 108–130, 2010. doi.org/10.1016/j.aca.2010.07.027

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008. doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019

BOGDANOVA, P.; VAKH, C.; BULATOV, A. A surfactant-mediated microextraction of synthetic dyes from solid-phase food samples into the primary amine-based supramolecular solvent. **Food Chemistry**, v. 380, n. July 2021, p. 131812, 2022. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131812.

BORDAGARAY, A.; GARCÍA-ARRONA, R.; MILLÁN, E. Development and application of a screening method for triazole fungicide determination in liquid and fruit samples using solid-phase microextraction and HPLC-DAD. **Analytical Methods**, v. 5, n. 10, p. 2565–2571, 2013. doi.org/10.1039/C3AY26433E.

BRASIL, G. DO. LEI No 14.785, DE 27 DE DEZEMBRO DE 2023. Brasil, 2023.
BURATO, J. S. DA S.; MEDINA, D. A. V.; TOFFOLI, A. L. DE; MACIEL, E. V. S.; LANÇAS, F. M. Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, p. 202–225, 2020. doi.org/10.1002/jssc.201900776.

BURKE, J. Solubility Parameters: Theory and Application. Disponível em: <<https://cool.culturalheritage.org/coolaic/sg/bpg/annual/v03/bp03-04.html>>.

CABALLERO-CASERO, N.; GARCÍA-FONSECA, S.; RUBIO, S. Restricted access supramolecular solvents for the simultaneous extraction and cleanup of ochratoxin A in spices subjected to EU regulation. **Food Control**, v. 88, p. 33–39, 2018. doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.003.

CABALLO, C.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Stereoselective quantitation of mecoprop and dichlorprop in natural waters by supramolecular solvent-based microextraction, chiral liquid chromatography and tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 761, p. 102–108, 2013. doi.org/10.1016/j.aca.2012.11.044.

CAMPANALE, C.; MASSARELLI, C.; LOSACCO, D.; et al. The monitoring of Pesticides in water matrices and the analytical criticalities: a review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 144, p. 116423, 2021. doi.org/10.1016/j.trac.2021.116423.

CANDIOTI, L. V.; DE ZAN, M. M.; CÁMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123–138, 2014. dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034.

CARABAJAL, M.; TEGLIA, C. M.; CERUTTI, S.; CULZONI, M. J.; GOICOECHEA, H. C. Applications of liquid-phase microextraction procedures to complex samples assisted by response surface methodology for optimization. **Microchemical Journal**, v. 152, n. November 2019, p. 104436, 2020. doi.org/10.1016/j.microc.2019.104436.

CARASEK, E.; BERNARDI, G.; MORELLI, D.; MERIB, J. Sustainable green solvents for microextraction techniques: Recent developments and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1640, p. 461944, 2021. doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461944.

CARBO, L.; SOUZA, V.; DORES, E. F. G. C.; RIBEIRO, M. L. Determination of pesticides multiresidues in shallow groundwater in a cotton-growing Region of Mato Grosso, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, n. 6, p. 1111–1117, 2008. doi.org/10.1590/S0103-50532008000600009.

CARNEIRO, R. P.; OLIVEIRA, F. A. S.; MADUREIRA, F. D.; et al. Development and method validation for determination of 128 pesticides in bananas by modified QuEChERS and UHPLC–MS/MS analysis. **Food Control**, v. 33, n. 2, p. 413–423, 2013. doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.02.027.

CATALÁ-ICARDO, M.; GÓMEZ-BENITO, C.; SIMÓ-ALFONSO, E. F.; HERRERO-MARTÍNEZ, J. M. Determination of azoxystrobin and chlorothalonil using a methacrylate-based polymer modified with gold nanoparticles as solid-phase extraction sorbent. **Analytical**

and Bioanalytical Chemistry, v. 409, n. 1, p. 243–250, 2017. doi.org/10.1007/s00216-016-9993-y.

CERQUEIRA, U. M. F. M.; BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C.; et al. Doehlert design in the optimization of procedures aiming food analysis – A review. **Food Chemistry**, v. 364, n. January, 2021. doi10.1016/j.foodchem.2021.130429.

CHARLES M. HANSEN. HANSEN SOLUBILITY PARAMETERS: A User's Handbook. 2o ed. 2000.

CHEMAXON. Chemicalize. Disponível em: <<http://www.chemicalize.com>>.

CHEN, R.; XUE, X.; WANG, G.; WANG, J. Determination and dietary intake risk assessment of 14 pesticide residues in apples of China. **Food Chemistry**, v. 351, n. January, p. 129266, 2021. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129266.

CONAB. Produção de grãos está estimada em 312,5 milhões de toneladas na safra 2022/23.

COSTA, F. P.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in canned and fresh peach. **Food Chemistry**, v. 165, p. 587–593, 2014. doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.099.

DALMAZ, A.; OZAK, S. S. Environmentally-friendly supramolecular solvent microextraction method for rapid identification of Sudan I – IV from food and beverages. **Food Chemistry**, v. 414, n. October 2022, 2023. doi 10.1016/j.foodchem.2023.135713.

DELIŃSKA, K.; YAVIR, K.; KLOSKOWSKI, A. Ionic liquids in extraction techniques: Determination of pesticides in food and environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 143, 2021. doi.org/10.1016/j.trac.2021.116396.

DENG, H.; WANG, H.; LIANG, M.; SU, X. A novel approach based on supramolecular solvent microextraction and UPLC-Q-Orbitrap HRMS for simultaneous analysis of perfluorinated compounds and fluorine-containing pesticides in drinking and environmental water. **Microchemical Journal**, v. 151, n. April, p. 104250, 2019. doi.org/10.1016/j.microc.2019.104250.

DÍAZ-ÁLVAREZ, M.; TURIEL, E.; MARTÍN-ESTEBAN, A. Molecularly imprinted polymer monolith containing magnetic nanoparticles for the stir-bar sorptive extraction of thiabendazole and carbendazim from orange samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1045, p. 117–122, 2019. doi.org/10.1016/j.aca.2018.09.001.

DUCHOWICZ, P. R. QSPR studies on water solubility, octanol-water partition coefficient and vapour pressure of pesticides. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 31, n. 2, p. 135-148, 2020. doi.org/10.1080/1062936X.2019.1699602.

DUEÑAS-MAS, M. J.; BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S. Supramolecular solvent-based microextraction probe for fast detection of bisphenols by ambient mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 294, n. January, 2022. doi10.1016/j.chemosphere.2022.133719,

ELENCOVAN, V.; JOSEPH, J.; YAHAYA, N.; et al. Exploring a novel deep eutectic solvents combined with vortex assisted dispersive liquid–liquid microextraction and its toxicity for organophosphorus pesticides analysis from honey and fruit samples. **Food Chemistry**, v. 368, n. July 2021, p. 130835, 2022. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130835.

FAMA, F.; FELTRACCO, M.; MORO, G.; et al. Pesticides monitoring in biological fluids: Mapping the gaps in analytical strategies. **Talanta**, v. 253, n. September 2022, p. 123969, 2023. doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123969.

FAO. Pesticides Use. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>>.

FERREIRA, J. A.; FERREIRA, J. M. S.; TALAMINI, V.; et al. Determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera* Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC–MS/MS. **Food Chemistry**, v. 213, p. 616–624, 2016. doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.114.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013. doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010.

GANDINI, E. M. M.; COSTA, E. S. P.; DOS SANTOS, J. B.; et al. Compatibility of pesticides and/or fertilizers in tank mixtures. **Journal of Cleaner Production**, v. 268, 2020. doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122152.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades Agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n. 1, p. 83–92, 2015. doi.org/10.1590/S0100-83582015000100010.

GONZÁLEZ-MARTÍN, R.; GUTIÉRREZ-SERPA, A.; PINO, V.; SAJID, M. A tool to assess analytical sample preparation procedures: Sample preparation metric of sustainability. **Journal of Chromatography A**, v. 1707, n. August, 2023. doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464291.

GONZÁLEZ-RUBIO, S.; BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; GARCÍA-GÓMEZ, D.; RUBIO, S. Double-headed amphiphile-based sponge droplets: synthesis, characterization and potential for the extraction of compounds over a wide polarity range. **Talanta**, v. 239, n. September 2021, 2022. doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123108.

GORJI, S.; BIPARVA, P.; BAHRAM, M.; NEMATZADEH, G. Rapid and Direct Microextraction of Pesticide Residues from Rice and Vegetable Samples by Supramolecular Solvent in Combination with Chemometrical Data Processing. **Food Analytical Methods**, v. 12, n. 2, p. 394–408, 2019. doi.org/10.1007/s12161-018-1371-2.

GORLA, F. A.; DUARTE, E. H.; SARTORI, E. R.; TARLEY, C. R. T. Electrochemical study for the simultaneous determination of phenolic compounds and emerging pollutant using an electroanalytical sensing system based on carbon nanotubes/surfactant and multivariate approach in the optimization. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 65–75, 2016. doi.org/10.1016/j.microc.2015.07.021>.

GUEDES, T. D. J.; HELENO, F. F.; AMARAL, M. D. O.; et al. A simple and efficient method employing solid-liquid extraction with low-temperature partitioning for the determination/monitoring of pesticide residues in strawberries by GC/ECD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 8, p. 1520–1527, 2014. doi.org/10.5935/0103-5053.20140135

GUO, J.; LI, A. Trends in sample preparation and analysis of current use pesticides in abiotic environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 172, n. 117605, p. 18, 2024. doi.org/10.1016/j.trac.2024.117605.

HASHEMI, B.; ZOHRABI, P.; KIM, K. H.; et al. Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 83–95, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.08.014>>.

HASSAAN, M. A.; NEMR, A. EL. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, v. 46, n. 3, p. 207–220, 2020. **National Institute of Oceanography and Fisheries**. doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007.

HU, Y.; LIU, T.; WANG, S.; et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for the selective extraction of strobilurin fungicides in agricultural products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 123, n. May, p. 105564, 2023. doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105564.

IBGE. Produção Agropecuária. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/br>>.

INMETRO. ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DOQ-CGCRE-008. 2016.

JAFARVAND, S.; SHEMIRANI, F. Supramolecular-based dispersive liquid-liquid microextraction: A novel sample preparation technique utilizes coacervates and reverse micelles. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 4, p. 455–461, 2011. doi10.1002/jssc.201000630.

JAGIRANI, M. S.; OZALP, O.; SOYLAK, M. New Trend in the Extraction of Pesticides from the Environmental and Food Samples Applying Microextraction Based Green Chemistry Scenario: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 0, n. 0, p. 1–27, 2021. doi.org/10.1080/10408347.2021.1874867.

JAHAN, T.; YASMIN, S.; SHAIKH, M. A. A.; et al. Heliyon Development and validation of a modified QuEChERS method coupled with LC-MS / MS for simultaneous determination of difenoconazole , dimethoate , pymetrozine , and chlorantraniliprole in brinjal collected from fields and markets places to assess hu. **Heliyon**, v. 9, n. 4, p. e14972, 2023. doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14972.

JALILI, V.; ZENDEHDEL, R.; BARKHORDARI, A. Supramolecular solvent-based microextraction techniques for sampling and preconcentration of heavy metals: A review.

Reviews in Analytical Chemistry, v. 40, n. 1, p. 93–107, 2021. doi.org/10.1515/revac-2021-0130.

JOVANOV, P.; GUZSVÁNY, V.; LAZIĆ, S.; et al. Development of HPLC-DAD method for determination of neonicotinoids in honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 106–113, 2015. doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.021.

KEMMERICH, M.; BERNARDI, G.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Comprehensive Method Validation for the Determination of 170 Pesticide Residues in Pear Employing Modified QuEChERS Without Clean-Up and Ultra-High Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 2, p. 556–577, 2018. doi.org/10.1007/s12161-017-1026-8.

KEMMERICH, M.; RIZZETTI, T. M.; MARTINS, M. L.; et al. Optimization by Central Composite Design of a Modified QuEChERS Method for Extraction of Pesticide Multiresidue in Sweet Pepper and Analysis by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 3, p. 728–739, 2015. doi.org/10.1007/s12161-014-9951-2.

KIM, Y. A.; ABD EL-ATY, A. M.; RAHMAN, M. M.; et al. Method development, matrix effect, and risk assessment of 49 multiclass pesticides in kiwifruit using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1076, n. December 2017, p. 130–138, 2018. doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.01.015.

KOKOSA, J. M.; PRZYJAZNY, A. Green microextraction methodologies for sample preparations. **Green Analytical Chemistry**, v. 3, n. July, p. 100023, 2022. doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100023.

KONATU, F. R. B.; BREITKREITZ, M. C. S.; JARDIM, I. C. F. Revisiting quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe parameters for sample preparation in pesticide residue analysis of lettuce by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1482, p. 11–22, 2017. doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.061.

LACHTER, D. R.; NUDI, A. H.; PORTO, G. F.; et al. Multiresidue method for triazines and pyrethroids determination by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 0, n. 0, p. 865–875, 2020. doi.org/10.1080/03601234.2020.1790266.

LARA, A. B.; CABALLO, C.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Quick and Sensitive Enantioselective Determination of Permethrin in Fruits and Vegetables by Combining Supramolecular Solvents and Chiral Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 33, p. 9014–9023, 2020. doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02533.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, n. 1–2, p. 161–172, 2009. doi.org/10.1016/j.aca.2009.06.015

LEMES, L. F. R.; TARLEY, C. R. T. Combination of supramolecular solvent-based microextraction and ultrasound-assisted extraction for cadmium determination in flaxseed flour by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 357, n. January, 2021. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129695.

LIANG, Z.; MAHMOUD ABDELSHAFY, A.; LUO, Z.; et al. Occurrence, detection, and dissipation of pesticide residue in plant-derived foodstuff: A state-of-the-art review. **Food Chemistry**, v. 384, n. February, 2022. doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132494.

LIMA, J. A. M. DE C.; LABANOWSKI, J.; BASTOS, M. C.; et al. “Modern agriculture” transfers many pesticides to watercourses: a case study of a representative rural catchment of southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 10, p. 10581–10598, 2020. doi.org/10.1007/s11356-019-06550-8.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of Detection: A Closer look at the IUPAC Definition. **Analytical Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 712–724, 1983.

LÓPEZ-JIMÉNEZ, F. J.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Supramolecular solvent-based microextraction of Sudan dyes in chilli-containing foodstuffs prior to their liquid chromatography-photodiode array determination. **Food Chemistry**, v. 121, n. 3, p. 763–769, 2010. doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.081.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I.; PENA-PEREIRA, F.; PEDERSEN-BJERGAARD, S.; et al. The ten principles of green sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 148, 2022. doi.org/10.1016/j.trac.2022.116530.

MA, J.; WU, G.; LI, S.; et al. Magnetic solid-phase extraction of heterocyclic pesticides in environmental water samples using metal-organic frameworks coupled to high performance liquid chromatography determination. **Journal of Chromatography A**, v. 1553, p. 57–66, 2018. doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.034>.

MALDANER, L.; SANTANA, C. C.; JARDIM, I. C. S. F. HPLC determination of pesticides in soybeans using matrix solid phase dispersion. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 31, n. 7, p. 972–983, 2008. doi.org/10.1080/10826070801924675.

MALONN, M. C.; ZANCHIN, C. F.; FLORIANO, L.; ZANELLA, R. Multiresidue method for determination of pesticides in papaya using modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 00, n. 00, p. 1–21, 2023. doi.org/10.1080/03067319.2023.2182207.

MARTENDAL, E.; BUDZIAK, D.; CARASEK, E. Application of fractional factorial experimental and Box-Behnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, n. 2, p. 131–136, 2007. doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.079.

MELO, A.; AGUIAR, A.; MANSILHA, C.; PINHO, O.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Optimisation of a solid-phase microextraction/HPLC/Diode Array method for multiple pesticide screening in lettuce. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1090–1097, 2012. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.137.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. Informações Técnicas. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>>.

MORAL, A.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Determination of benzimidazolic fungicides in fruits and vegetables by supramolecular solvent-based microextraction/liquid chromatography/fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 650, n. 2, p. 207–213, 2009. doi.org/10.1016/j.aca.2009.07.056.

MOZZAQUATRO, J. DE O.; CÉSAR, I. A.; PINHEIRO, A. E. B.; CALDAS, E. D. Pesticide residues analysis in passion fruit and its processed products by LC–MS/MS and GC–MS/MS: Method validation, processing factors and dietary risk assessment. **Food Chemistry**, v. 375, n. November 2021, p. 0–2, 2022. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131643.

MUNARETTO, J. S.; VIERA, M. D. S.; MARTINS, M. L.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Quantitative multiclass pesticide residue analysis in apple, pear, and grape by modified QuEChERS and liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 99, n. 6, p. 1426–1435, 2016. doi.org/10.5740/jaoacint.16-0276.

MUÑOZ, N. C.; FLORIANO, L.; DE SOUZA, M. P.; et al. Determination of Pesticide Residues in Golden Berry (*Physalis peruviana* L.) by Modified QuEChERS Method and Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Quadrupole Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 2, p. 320–329, 2017. **Food Analytical Methods**. doi.org/10.1007/s12161-016-0582-7.

MUSARURWA, H.; TAVENGWA, N. T. Emerging green solvents and their applications during pesticide analysis in food and environmental samples. **Talanta**, v. 223, n. P1, p. 121507, 2021a. doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121507.

MUSARURWA, H.; TAVENGWA, N. T. Supramolecular solvent-based micro-extraction of pesticides in food and environmental samples. **Talanta**, v. 223, n. P1, p. 121515, 2021b. doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121515.

NAKAMURA, N. C.; VERÍSSIMO, N. V. P.; OLIVEIRA, F.; et al. Extraction of natural colorants using supramolecular solvents composed of Triton X-114 and ionic liquids. **Separation and Purification Technology**, v. 319, n. April, p. 1–10, 2023. doi.org/10.1016/j.seppur.2023.124070.

NARENDERAN, S. T.; MEYYANATHAN, S. N.; BABU, B. Review of pesticide residue analysis in fruits and vegetables. Pre-treatment, extraction and detection techniques. **Food Research International**, v. 133, n. November 2019, p. 109141, 2020. doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109141>.

NARENDERAN, S. T.; MEYYANATHAN, S. N.; KARRI, V. V. S. R. Experimental design in pesticide extraction methods: A review. **Food Chemistry**, v. 289, n. November 2018, p. 384–395, 2019. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.045.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 123, p. 115772, 2020. doi.org/10.1016/j.trac.2019.115772.

NEGUSSIE, B. T.; DUBE, S.; NINDI, M. M. Multiclass Pesticide Residue Analysis in Fruit and Vegetable Samples by Combining Acetone-Based Salting-Out Assisted Extraction with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. **Journal of Chemistry**, v. 2021, 2021. doi.org/10.1155/2021/6417093.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. 2o ed. Campinas, 2001.

NICOLOPOULOU-STAMATI, P.; MAIPAS, S.; KOTAMPASI, C.; STAMATIS, P.; HENS, L. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Frontiers in Public Health**, v. 4, n. July, p. 1–8, 2016. doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148.

NOVAES, C. G.; YAMAKI, R. T.; DE PAULA, V. F.; et al. Optimization of analytical methods using response surface methodology - Part I: Process variables. **Revista Virtual de Quimica**, v. 9, n. 3, p. 1184–1215, 2017. doi.10.21577/1984-6835.20170070.

OLIVEIRA, F. M. DE; SCHEEL, G. L.; AUGUSTI, R.; TARLEY, C. R. T.; NASCENTES, C. C. Supramolecular microextraction combined with paper spray ionization mass spectrometry for sensitive determination of tricyclic antidepressants in urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 1106, p. 52–60, 2020. doi.org/10.1016/j.aca.2020.01.061

OLIVEIRA, L. L. G.; KUDO, M. V. F.; LOPES, C. T.; TARLEY, C. R. T. Development and multivariate optimization of nanostructured supramolecular liquid-liquid microextraction validated method for highly sensitive determination of methyl parathion in water samples. **Journal of Molecular Liquids**, v. 308, 2020. doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113026.

OTERO, R. R.; GRANDE, B. R.; GÁNDARA, J. S. Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 992, n. 1–2, p. 121–131, 2003. doi.10.1016/s0021-9673(03)00317-0.

PARRA-ARROYO, L.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R. B.; CASTILLO-ZACARÍAS, C.; et al. Highly hazardous pesticides and related pollutants: Toxicological, regulatory, and analytical aspects. **Science of the Total Environment**, v. 807, p. 18–26, 2022. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151879.

PENA-PEREIRA, F.; WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M. AGREE - Analytical GREENness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 2020. doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887.

PEYROVI, M.; HADJMOHAMMADI, M. Extraction optimization of Loratadine by supramolecular solvent-based microextraction and its determination using HPLC. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 980, p. 41–47, 2015. doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.12.008>.

PEYROVI, M.; HADJMOHAMMADI, M. Alkanol-based supramolecular solvent microextraction of organophosphorus pesticides and their determination using high-performance liquid chromatography. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 14, n. 5, p. 995–1004, 2017. doi.org/10.1007/s13738-017-1049-5.

POLATI, S.; BOTTARO, M.; FRASCAROLO, P.; et al. HPLC-UV and HPLC-MSn multiresidue determination of amidosulfuron, azimsulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, thifensulfuron methyl, tribenuron methyl and azoxystrobin in surface waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 579, n. 2, p. 146–151, 2006. doi.org/10.1016/j.aca.2006.07.034.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Quimica Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620–1634, 2009. doi.org/10.1590/S0100-40422009000600046.

RANI, L.; THAPA, K.; KANOJIA, N.; et al. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, p. 124657, 2021. doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657.

RASOOL, S.; RASOOL, T.; GANI, K. M. A review of interactions of pesticides within various interfaces of intrinsic and organic residue amended soil environment. **Chemical Engineering Journal Advances**, v. 11, n. April, p. 100301, 2022. doi.org/10.1016/j.ceja.2022.100301.

RAYMUNDO-PEREIRA, P. A.; GOMES, N. O.; SHIMIZU, F. M.; MACHADO, S. A. S.; OLIVEIRA, O. N. Selective and sensitive multiplexed detection of pesticides in food samples using wearable, flexible glove-embedded non-enzymatic sensors. **Chemical Engineering Journal**, v. 408, n. October 2020, p. 1–8, 2021. doi.org/10.1016/j.cej.2020.127279.

ROMERA-GARCÍA, E.; BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S. An environmentally stable supramolecular biosolvent: Characterization and study of its potential for the elimination of polar toxic substances in water. **Journal of Cleaner Production**, v. 321, n. July, 2021. doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128975.

RUBIO, S. Twenty years of supramolecular solvents in sample preparation for chromatography: achievements and challenges ahead. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, p. 6037–6058, 2020. doi.org/10.1007/s00216-020-02559-y.

RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Supramolecular assemblies for extracting organic compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 7, p. 470–485, 2003. doi.org/10.1016/S0165-9936(03)00706-4.

RUIZ, F. J.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Water-induced coacervation of alkyl carboxylic acid reverse micelles: Phenomenon description and potential for the extraction of organic compounds. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 19, p. 7473–7484, 2007. doi.org/10.1021/ac0708644.

SALAMAT, Q.; YAMINI, Y.; MORADI, M.; KARIMI, M.; NAZRAZ, M. Novel generation of nano-structured supramolecular solvents based on an ionic liquid as a green solvent for

microextraction of some synthetic food dyes. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 23, p. 19252–19259, 2018. doi.org/10.1039/C8NJ03943G.

SAMSIDAR, A.; SIDDIQUEE, S.; SHAARANI, S. M. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. **Trends in Food Science and Technology**, v. 71, n. June 2017, p. 188–201, 2018. doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.011.

SANTOS, E. O. DOS; GONZALES, J. O.; ORES, J. C.; et al. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 297, n. February, p. 124926, 2019. doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.200.

SANTOS, L. F. S.; DE JESUS, R. A.; COSTA, J. A. S.; et al. Evaluation of MCM-41 and MCM-48 mesoporous materials as sorbents in matrix solid phase dispersion method for the determination of pesticides in soursop fruit (*Annona muricata*). **Inorganic Chemistry Communications**, v. 101, n. January, p. 45–51, 2019. doi.org/10.1016/j.inoche.2019.01.013.

SCHEEL, G. L.; TARLEY, C. R. T. Feasibility of supramolecular solvent-based microextraction for simultaneous preconcentration of herbicides from natural waters with posterior determination by HPLC-DAD. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 650–657, 2017. doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.007.

SCHEEL, G. L.; TARLEY, C. R. T. Simultaneous microextraction of carbendazim, fipronil and picoxystrobin in naturally and artificial occurring water bodies by water-induced supramolecular solvent and determination by HPLC-DAD. **Journal of Molecular Liquids**, v. 297, p. 111897, 2020. doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111897.

SEEBUNRUENG, K.; SANTALADCHAIYAKIT, Y.; SRIJARANAI, S. Vortex-assisted low density solvent liquid-liquid microextraction and salt-induced demulsification coupled to high performance liquid chromatography for the determination of five organophosphorus pesticide residues in fruits. **Talanta**, v. 132, p. 769–774, 2015. dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.020.

SHAH, A.; PATEL, T.; AL-GHAMDI, A. A.; MALEK, N. I. Stimuli responsive self-assembled structural aggregates of ionic liquid based surfactants as the membrane free microreactors for dyes sequestration and drug encapsulation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 350, p. 118555, 2022. doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118555.

SONGA, E. A.; OKONKWO, J. O. Recent approaches to improving selectivity and sensitivity of enzyme-based biosensors for organophosphorus pesticides: A review. **Talanta**, v. 155, p. 289–304, 2016. dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.046.

SOUSA, J. DA S.; NASCIMENTO, H. O. DO; GOMES, H. DE O.; NASCIMENTO, R. F. DO. Pesticide residues in groundwater and surface water: recent advances in solid-phase extraction and solid-phase microextraction sample preparation methods for multiclass analysis by gas chromatography-mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 168, n. April, 2021. doi.org/10.1016/j.microc.2021.106359.

SOUZA, M. C. O.; CRUZ, J. C.; CESILA, C. A.; et al. Recent trends in pesticides in crops: A critical review of the duality of risks-benefits and the Brazilian legislation issue. **Environmental Research**, v. 228, n. April, 2023. doi. 10.1016/j.envres.2023.115811.

SOUZA, R. M. DE; SEIBERT, D.; QUESADA, H. B.; et al. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 135, p. 22–37, 2020. doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035.

SOYLAK, M.; ELZAIN, H.; AHMED, H.; UZCAN, F. Determination of Sudan III in Food by Supramolecular Microextraction and Spectrophotometry Determination of Sudan III in Food by Supramolecular. **Analytical Letters**, v. 56, n. 6, p. 997–1006, 2023. doi.org/10.1080/00032719.2022.2112047.

STALIKAS, C.; FIAMEGOS, Y.; SAKKAS, V.; ALBANIS, T. Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 2, p. 175–189, 2009. doi.org/10.1016/j.chroma.2008.11.060.

STRINGHINI, F. M.; RIBEIRO, L. C.; ROCHA, G. I.; et al. Dilution of QuEChERS Extracts Without Cleanup Improves Results in the UHPLC-MS/MS Multiresidue Analysis of Pesticides in Tomato. *Food Analytical Methods*, v. 14, n. 8, p. 1511–1523, 2021. doi.org/10.1007/s12161-020-01921-1.

SUN, R.; YANG, W.; LI, Y.; SUN, C. Multi-residue analytical methods for pesticides in teas: a review. **European Food Research and Technology**, v. 247, n. 8, p. 1839–1858, 2021. doi.org/10.1007/s00217-021-03765-3.

TANG, W.; WANG, D.; WANG, J.; et al. Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. **Chemosphere**, v. 191, n. 308, p. 990–1007, 2018. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.115.

TARLEY, C. R. T.; KUBOTA, L. T. Molecularly-imprinted solid phase extraction of catechol from aqueous effluents for its selective determination by differential pulse voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 548, n. 1–2, p. 11–19, 2005. doi.org/10.1016/j.aca.2005.05.055.

TAVERNIERS, I.; LOOSE, M. DE; BOCKSTAELE, E. VAN. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 8, n. October 2017, 2010. doi.org/10.1016/j.trac.2004.04.001.

TSOCHATZIS, E. D.; TZIMOU-TSITOURIDOU, R.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; KARPOUZAS, D. G.; PAPAGEORGIOU, M. Development and validation of an HPLC-DAD method for the simultaneous determination of most common rice pesticides in paddy water systems. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 92, n. 5, p. 548–560, 2012. doi/abs/10.1080/03067310903229943.

TURSEN, J.; YANG, T.; BAI, L.; LI, D.; TAN, R. Determination of imidacloprid and acetamiprid in bottled juice by a new DLLME-HPLC. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 36, p. 50867–50877, 2021. doi.org/10.1007/s11356-021-13540-2.

VALENCIA, T. M. G.; LLASERA, M. P. G. DE. Determination of organophosphorus pesticides in bovine tissue by an on-line coupled matrix solid-phase dispersion-solid phase extraction-high performance liquid chromatography with diode array detection method. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 39, p. 6869–6877, 2011. doi.10.1016/j.chroma.2011.08.011.

VILKOVÁ, M.; PŁOTKA-WASYLKA, J.; ANDRUCH, V. The role of water in deep eutectic solvent-base extraction. **Journal of Molecular Liquids**, v. 304, 2020. doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747.

WANG, K.; XIE, X.; ZHANG, Y.; et al. Combination of microwave-assisted extraction and ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for separation and enrichment of pyrethroids residues in Litchi fruit prior to HPLC determination. **Food Chemistry**, v. 240, n. August 2017, p. 1233–1242, 2018. doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.061.

WANG, S. Y.; SHI, X. C.; LIU, F. Q.; LABORDA, P. Chromatographic methods for detection and quantification of carbendazim in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 43, p. 11880–11894, 2020. doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04225.

WU, B.; GUO, Z.; LI, X.; et al. Analysis of pyrethroids in cereals by HPLC with a deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic droplets. **Analytical Methods**, v. 13, n. 5, p. 636–641, 2021. doi.org/10.1039/D0AY02121K.

WU, Q.; ZHOU, X.; LI, Y.; et al. Application of dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography to the determination of carbamate pesticides in water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 6–7, p. 1755–1761, 2009. 10.1007/s00216-009-2625-z.

XIONG, J.; TANG, X.; ZHOU, G.; GUAN, Z.; WU, L. Dispersive solid phase extraction coupled with HPLC-UV for simultaneous determination of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in soil samples. **Analytical Methods**, v. 5, n. 2, p. 536–540, 2013. doi.org/10.1039/C2AY25972A.

YANG, M.; XI, X.; WU, X.; et al. Vortex-assisted magnetic β -cyclodextrin/attapulgitite-linked ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the fast determination of four fungicides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1381, p. 37–47, 2015. doi.org/10.1016/j.chroma.2015.01.016>.

YAVIR, K.; KONIECZNA, K.; MARCINKOWSKI, Ł.; KLOSKOWSKI, A. Ionic liquids in the microextraction techniques: The influence of ILs structure and properties. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 130, n. 115994, p. 12, 2020. doi.org/10.1016/j.trac.2020.115994.

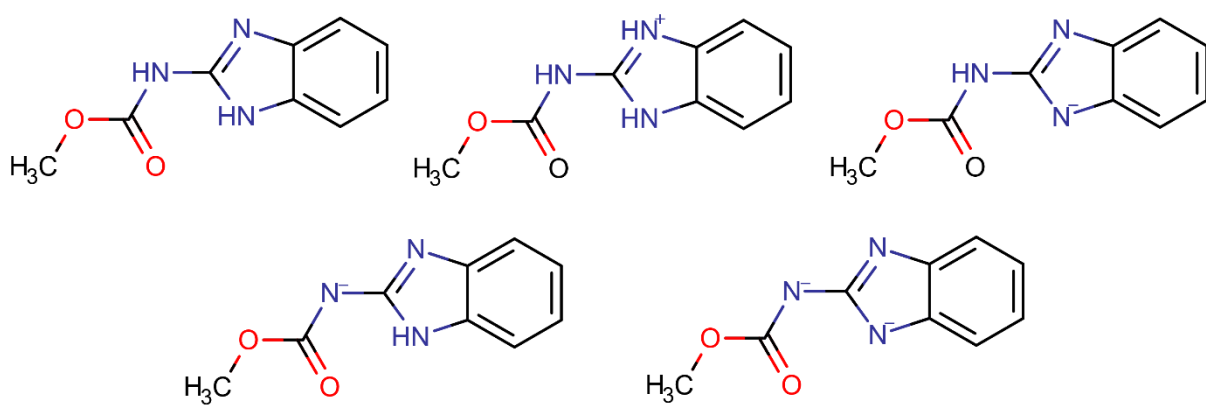
ZHANG, T.; QU, Z.; LI, B.; YANG, Z. Simultaneous Determination of Atrazine, Pendimethalin, and Trifluralin in Fish Samples by QuEChERS Extraction Coupled With Gas Chromatography-Electron Capture Detection. **Food Analytical Methods**, v. 12, p. 1179–1186, 2019. doi.org/10.1007/s12161-019-01449-z.

ZHAO, W.; JING, X.; CHANG, M.; MENG, J.; FENG, C. Vortex-assisted Emulsification Microextraction for the Determination of Pyrethroids in Mushroom. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 40, n. 10, p. 943–950, 2019. doi.org/10.1002/bkcs.11850.

ZHAO, W.; ZHAO, J.; ZHAO, H.; CAO, Y.; LIU, W. Supramolecular solvent-based vortex-mixed microextraction: Determination of chiral triazole fungicide in beer samples. **Chirality**, v. 30, n. 3, p. 302–309, 2018. doi.org/10.1002/chir.22798.

ZOLGHARNEIN, J.; SHAHMORADI, A.; GHASEMI, J. B. Comparative study of Box-Behnken, central composite, and Doehlert matrix for multivariate optimization of Pb (II) adsorption onto Robinia tree leaves. **Journal of Chemometrics**, v. 27, n. 1–2, p. 12–20, 2013. doi.org/10.1002/cem.2487.

APÊNDICE A – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE CAR



**APÊNDICE B – CURVAS ANALÍTICAS DOS SETE PESTICIDAS SEM PRÉ-
CONCENTRAÇÃO E COM A ETAPA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO USANDO 10,0
E 40,0 ML DE SOLUÇÃO AQUOSA DOS PESTICIDAS**

Acetamiprido

Azoxistrobina

Bifentrina

Carbendazim

Clorpirifós

Imidacloprido

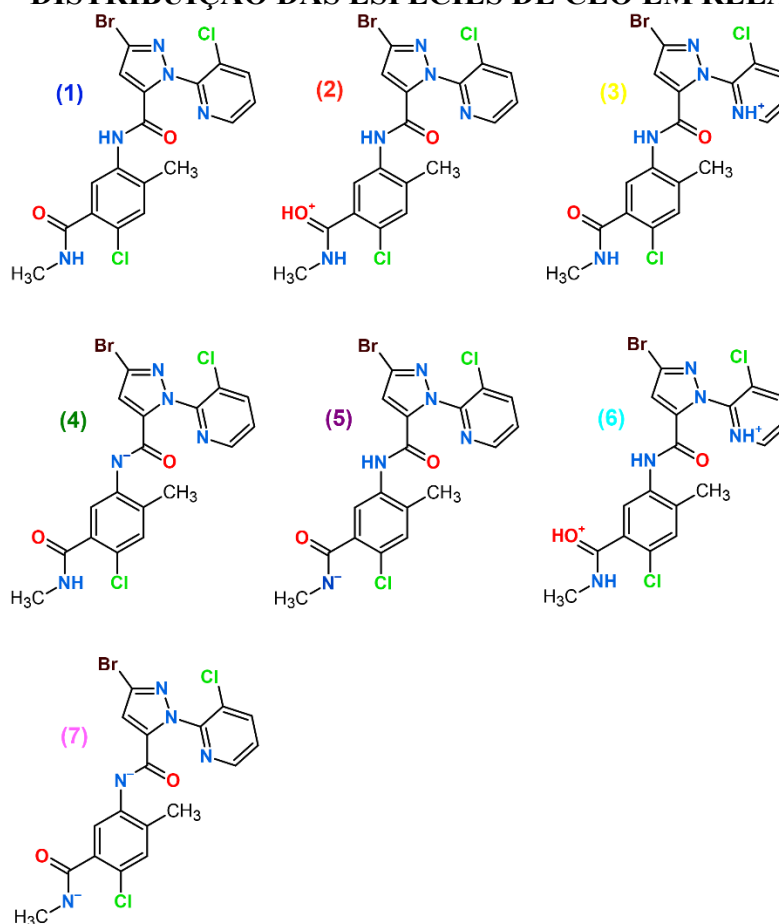
Tebuconazol

APÊNDICE C – VALOR DE F TABELADO

	f-valor tabelado*			f-valor tabelado**		
	40 mL	10 mL	SPC	40 mL	10 mL	SPC
ACE	4,49	4,74	4,60	4,30	4,49	4,38
AZO	4,49	4,60	4,60	4,30	4,38	4,38
BIF	4,41	4,60	4,60	4,24	4,38	4,38
CAR	4,49	4,60	4,60	4,30	4,38	4,38
CLO	4,41	4,60	4,60	4,24	4,38	4,38
IMI	4,49	4,60	4,60	4,30	4,38	4,38
TEB	4,49	4,60	4,60	4,30	4,38	4,38

SPC: sem pré-concentrar. * $MQ_{\text{modelo}}/MQ_{\text{resíduos}}$ (Média quadrática do modelo/ Média quadrática dos resíduos). ** $MQ_{\text{faltadeajuste}}/MQ_{\text{erropuro}}$ (Média quadrática falta de ajuste/ Média quadrática do erro puro)

APÊNDICE D – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE CLO EM RELAÇÃO AO PH



APÊNDICE E – VALOR DE F TABELADO

	f-valor tabelado*		f-valor tabelado**	
	10,0 mL	SPC	10,0 mL	SPC
CLO	4,49	4,60	4,30	4,38
CRE	4,35	4,60	4,19	4,38
PROC	4,35	4,60	4,19	4,38
PROP	4,30	4,60	4,15	4,38
TRI	4,35	4,60	4,19	4,38

SPC: sem pré-concentrar. * $MQ_{\text{modelo}}/MQ_{\text{resíduos}}$ (Média quadrática do modelo/ Média quadrática dos resíduos). ** $MQ_{\text{falta de ajuste}}/MQ_{\text{erro puro}}$ (Média quadrática falta de ajuste/ Média quadrática do erro puro)