



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

GUILHERME LUIZ SCHEEL

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS  
BASEADOS EM MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE  
SUPRAMOLECULAR (SUPRAS) À BASE DE ALCANOL  
PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE PESTICIDAS  
POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

---

Londrina  
2019

GUILHERME LUIZ SCHEEL

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS  
BASEADOS EM MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE  
SUPRAMOLECULAR (SUPRAS) À BASE DE ALCANOL  
PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE PESTICIDAS  
POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

Tese apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. César Ricardo Teixeira Tarley

Londrina  
2019

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

SCH315 Scheel, Guilherme Luiz.

Desenvolvimento de Métodos Analíticos baseados em Microextração com Solvente Supramolecular (SUPRAS) à base de Alcanol para Determinação Simultânea de Pesticidas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência / Guilherme Luiz Scheel. - Londrina, 2019.  
117 f.

Orientador: César Ricardo Teixeira Tarley.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2019.  
Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Tese. 2. Pesticidas - Tese. 3. Microextração por solvente supramolecular - Tese. 4. Cromatografia líquida de alta eficiência - 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

GUILHERME LUIZ SCHEEL

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS BASEADOS EM  
MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE SUPRAMOLECULAR  
(SUPRAS) À BASE DE ALCANOL PARA DETERMINAÇÃO  
SIMULTÂNEA DE PESTICIDAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE  
ALTA EFICIÊNCIA**

Tese apresentada ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina, 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

---

Profa. Dra. Maria Cristina Solci  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Vanessa Egéa dos Anjos  
Universidade Estadual de Ponta Grossa –  
UEPG

---

Prof. Dr. Eduardo César Meurer  
Universidade Federal do Paraná – UFPR

---

Prof. Dr. Altair Benedito Moreira  
Universidade Estadual Paulista – UNESP

Londrina, 30 de agosto de 2019

*À minha mãe Sonia Marisa Ronchi,  
minha melhor professora, por me  
ensinar que educação é luz num  
mundo de escuridão.*

## AGRADECIMENTOS

Sempre achei esta a pior parte para escrever, talvez porque seja muito difícil utilizar poucas páginas para agradecer as pessoas que fizeram parte desta minha trajetória de 10 anos no Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina. Uma tese, independente do fato de sua autoria ser individual, é uma construção fruto do esforço de muitos que contribuíram indiretamente ou diretamente com a sua construção. Assim, rumo ao final desta jornada, dedico-lhes aqui algumas palavras.

Primeiramente agradeço a minha mãe, Sonia Marisa Ronchi, por ter se privado de muito para que eu atingisse meus objetivos. Sem seu apoio emocional e financeiro, provavelmente eu não teria sequer sonhado em realizar este doutorado. Espero um dia dar-lhe o orgulho de ser reconhecida como a 'mãe do Guilherme'. Também a minha irmã, Fernanda Scheel, e ao meu pai, Wander Wander Scheel, pelo incentivo. À minha família agradeço por tanto se orgulharem de mim, mesmo não merecendo. Mesmo fisicamente distante, levo-os comigo pois são a melhor parte de mim.

Agradeço ao amor da minha vida, Fernanda Midori de Oliveira, pelo apoio incondicional em todos os momentos, principalmente nos de incerteza, muito comuns para quem tenta trilhar novos caminhos. Sem você nenhuma conquista valeria a pena. Meus melhores anos nesta universidade foram aqueles em que estive ao seu lado, indubitavelmente. Te amo e pra sempre te amarei, japa brava!

Ao meu orientador, Professor César Ricardo Teixeira Tarley, agradeço pela orientação e principalmente por possibilitar oportunidades desafiadoras de amadurecimento profissional à um aluno audacioso. Aprendi muito nestes nove anos de convivência e quatro de doutorado. Agradeço muito por esse aprendizado!

Agradeço imensamente as pessoas com quem convivi nos mais diversos setores da Universidade Estadual de Londrina, professores, técnicos de laboratório, servidores públicos, amigos e colegas que de certa forma contribuíram. Ao Corpo Docente do Departamento de Química, meu agradecimento por todo conhecimento transmitido. Aos técnicos de laboratório Ana (Aninha), Dalva (JapoNeusa), Dorizete (Dori), Ivanira (Nira), Lourival (Caburé), Marcia, Nelson e Rosemeire (Rose) e aos servidores públicos Anderson, Cibele, Edvaldo, Elda, Izabel (Bel), Maria de Lourdes, Maria Lúcia, Mauro (JoãoPones), Regina, Rogério, Sandra (Sandrita), e Sérgio

agradeço afetosamente pela amizade e por todo apoio profissional e emocional.

Agradeço a todos os amigos que esta caminhada me presenteou: Fernanda Delaroza, Elis, Amélia, Luana, Tainara, Jhessica, Gabriel, Felipe, Lorena, Juliana, Fábio Luiz, Lucinéia, Ederson, Gislaine, Débora, Eduardo, Leonardo, Fabiano, Marcus, Igor, Davyston, Rafel, Denis, Frederico, Adriano, Jéssica, Élio, Kauana, Flávio, Ana Célia, Giovana, Vítor, Mayara, Bruna e muitos outros. Obrigado por dividir comigo as angústias e alegrias e por ouvirem minhas bobagens. Agradeço também a todos meus amigos de longas datas, que embora não nomeados, me ajudaram a ser quem sou e estiveram presentes ao meu lado em distintos momentos.

Aos órgãos de fomento, CNPq, Capes, Fundação Araucária e INCT Bioanalítica, agradeço pelo suporte financeiro. Por fim, agradeço a todos aqueles que embora não mencionados ou nomeados, de alguma forma fizeram parte deste e de outros momentos de minha vida. Muito obrigado, foi um privilégio conhece-los!

*“Importante não é ver o que ninguém nunca viu, mas sim pensar o que ninguém nunca pensou sobre algo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer

SCHEEL, Guilherme Luiz. **Desenvolvimento de métodos analíticos baseados em microextração com solventes supramoleculares (SUPRASs) para pré-concentração simultânea de pesticidas e determinação por cromatografia líquida**. 2019. 117 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, 2019.

## RESUMO

Pesticidas e recursos hídricos detêm uma relação complexa, tanto técnica quanto política. Preocupações sobre pesticidas que adentram águas atmosféricas, superficiais e subterrâneas são recorrentes em muitos países. Ametrina, carbendazim, diuron, fipronil, hexazinona, picoxistrobina e tebuthiuron são pesticidas amplamente utilizados em lavouras brasileiras, portanto o monitoramento destes em recursos hídricos torna-se essencial. Neste trabalho, capítulos envolvendo o uso de um solvente supramolecular no qual micelas reversas de 1-decanol são dispersas em soluções de tetrahidrofurano/água para pré-concentração simultânea de pesticidas em recursos hídricos, e determinação por cromatografia líquida acoplada a detecção por arranjo de fotodiodos, são propostos. Altos fatores de pré-concentração (48,5 para diuron, 47,4 para ametrina, 21,0 para tebuthiuron, 21,43 para carbendazim, 71,10 para fipronil e 71,36 para picoxistrobina) e de porcentagens de extração (80,0% para diuron, 80,0% para ametrina, 32,0% para tebuthiuron, 21,5% para carbendazim, 84,5% para fipronil e 83,0% para picoxistrobina). Os limites de detecção (LOD), quantificação (LOQ), precisão (DPR) e exatidão (ER) dos métodos desenvolvidos variaram entre 0,13-1,45  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 0,43-4,85  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 1,65-6,80% e 0,11-6,20%, respectivamente. Os valores de recuperação obtidos pela aplicação do método proposto em amostras de águas, contendo adições de pesticidas em níveis de  $\mu\text{g L}^{-1}$ , variaram na faixa de 93-111%. De acordo com os níveis estabelecidos por legislações internacionais destes pesticidas em águas, os métodos propostos demonstraram-se apropriados para determinação. Além disso, a presença de alguns pesticidas analisados em amostras reais demonstra claramente a importância do monitoramento.

**Palavras-chave:** Pesticidas. Microextração por solvente supramolecular. Micelas reversas de 1-decanol. Recursos hídricos. Cromatografia líquida.

SCHEEL, Guilherme Luiz. **Development of analytical methods based on microextraction with supramolecular solvents (SUPRASs) for the simultaneous preconcentration of pesticides and determination by liquid chromatography.** 2019. 117 p. Tese de Doutorado (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, 2018.

## ABSTRACT

Pesticides and water resources has a complex relationship, both technical and political. Concerns about pesticides entering atmospheric, surface and groundwater are recurrent in many countries. Ametryn, carbendazim, diuron, fipronil, hexazinone, picoxystrobin and tebutiuron are pesticides widely utilized in Brazilian fields, therefore monitoring them in water resources becomes essential. In this work, chapters describing the use of supramolecular solvent, constituted by reversed micelles of 1-decanol dispersed in tetrahydrofuran/water solutions, to preconcentrate simultaneously pesticides in hydric resources, and determination by high performance liquid chromatography with photodiode array detector, are proposed. High preconcentration factors (48,5 to diuron, 47,4 to ametryn, 21,0 to tebutiuron, 21,43 to carbendazim, 71,10 to fipronil and 71,36 to picoxystrobin) and extraction factors (80.0% to diuron, 80.0% to ametryn, 32.0% to tebutiuron, 21.5% to carbendazim, 84.5% to fipronil and 83,0% to picoxystrobin) were obtained. The limits of detection (LOD), quantification (LOQ), the precision (RSD) and the accuracy (RE) of the developed methods ranged between 0.13-1.45  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 0.43-4.85  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 1.65-6.80% and 0.11-6.20%, respectively. Recovery values obtained by applying the proposed methods in spiked hydric samples, at  $\mu\text{g L}^{-1}$  levels, varied in the range of 93-111%. According to the levels established by international legislation of these pesticides in waters, the proposed methods have proven appropriate for determination. Moreover, the presence of some analyzed herbicides in real samples clearly demonstrate the importance of monitoring pesticides.

**Keywords:** Pesticides. Supramolecular solvent microextraction. 1-decanol reverse micelles. Natural waters. High performance liquid chromatography.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Valores limitantes de ametrina, carbendazim, diuron, fipronil, hexazinona, picoxistrobina e tebuthiuron em legislações internacionais .....	18
<b>Figura 2</b> – Distribuição global da água .....	23
<b>Figura 3</b> – Estrutura de agregados supramoleculares de acordo com o fator de empacotamento (g) .....	29
<b>Figura 4</b> – Representação esquemática da microextração realizada utilizando solvente supramolecular .....	37
<b>Figura 5</b> – Efeito do pH na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ; quantidade de 1-decanol, 150 $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 600 $\mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min. (n = 2).....	44
<b>Figura 6</b> – Efeito da concentração de NaCl na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; quantidade de 1-decanol, 150 $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 600 $\mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min. (n = 2) .....	45
<b>Figura 7</b> – Efeito do tipo de sal na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal, 5% (m/v); quantidade de 1-decanol, 150 $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 600 $\mu\text{L}$ ; Tempo de agitação, 2 min. (n = 2) .....	46
<b>Figura 8</b> – Efeito de a) volume 1-decanol (com 600 $\mu\text{L}$ de THF) e b) volume de THF (com 50 $\mu\text{L}$ de 1-decanol) na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/ v). (n = 2) .....	48
<b>Figura 9</b> – Efeito da agitação por vórtice na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/v); quantidade de 1-decanol, 50 $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 100 $\mu\text{L}$ . (n = 2).....	49

<b>Figura 10</b> – Cromatogramas obtidos com 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de herbicidas nas condições otimizadas e solução inicial a pH 4,00 .....	50
<b>Figura 11</b> – Cromatogramas das amostras fortificadas e não fortificadas do riacho de Arapongas, submetidas a pré-concentração .....	55
<b>Figura 12</b> – Representação gráfica da aplicação da função desejabilidade de Derringer-Suich nas respostas dos pesticidas obtidas no planejamento fatorial $2^{6-1}$ com ponto central .....	73
<b>Figura 13</b> – Representações gráficas dos cromatogramas obtidos para as triplicatas de validação em a) 286 nm, b) 279 nm e c) 246 nm com 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de pesticidas .....	74
<b>Figura 14</b> – Percentuais de recuperação analítica para pré-concentração de carbendazim, fipronil e picoxistrobina (2, 20 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na presença de ácido húmico nas concentrações de a) 5,0 $\text{mg L}^{-1}$ , b) 12,5 $\text{mg L}^{-1}$ e c) 12,5 $\text{mg L}^{-1}$ com variação no tempo. (n = 3) .....	80
<b>Figura 15</b> – a) Cromatogramas (com fipronil sublinhado) e b) espectros de DAD ( $\lambda = 279 \text{ nm}$ ) de amostras não fortificadas e fortificadas da água natural proveniente de Guaratuba.....	82

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Propriedades físicas e químicas dos herbicidas analisados .....	41
<b>Tabela 2</b>	– Parâmetros das equações de regressão linear e ANOVA unidirecional para cada herbicida. (n = 3) .....	51
<b>Tabela 3</b>	– Fatores de pré-concentração, linearidades, limites de detecção e quantificação do método de análise de herbicidas.....	52
<b>Tabela 4</b>	– Precisão, exatidão e intervalos de confiança do método para análise de herbicidas.....	53
<b>Tabela 5</b>	– Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação de diuron, hexazinona, ametrina e tebutiuron com detecção por HPLC-DAD.....	54
<b>Tabela 6</b>	– Testes de adição e recuperação para amostras ambientais de águas. (n=3).....	57
<b>Tabela 7</b>	– Valores das variáveis e níveis codificados do planejamento fatorial $2^{6-1}$ .....	62
<b>Tabela 8</b>	– Propriedades físicas e químicas dos pesticidas analisados.....	66
<b>Tabela 9</b>	– Ensaios e respostas obtidas de intensidades de área de pico do planejamento fatorial $2^{6-1}$ para carbendazim, fipronil e picoxistrobina em concentrações de $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	69
<b>Tabela 10</b>	– Parâmetros das equações de regressão linear e ANOVA unidirecional para cada pesticida. (n = 3).....	75
<b>Tabela 11</b>	– Linearidades, limites de detecção e quantificação, fatores de pré-concentração e porcentagens de extração do método de microextração de pesticidas por SUPRAS .....	76
<b>Tabela 12</b>	– Precisão, exatidão e intervalos de confiança do método para análise dos pesticida.....	77
<b>Tabela 13</b>	– Comparação entre métodos presentes na literatura para a determinação de carbendazim, fipronil e/ou picoxistrobina com o método proposto .....	78
<b>Tabela 14</b>	– Valores de adição e recuperação para amostras distintas de águas naturais e artificiais. (n = 3) .....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ao	Área ocupada pelo grupo principal na superfície da micela (grupo cabeça)
ACN	Acetonitrila
AH	Ácido húmico
ANOVA	Análise de variância
CCA	Concentração crítica de agregação
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
d	Desejabilidade
d <sub>i</sub>	Desejabilidade individual
D <sub>g</sub>	Desejabilidade global
DAD	Detecção por arranjo de fotodiodos
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DPR	Desvio padrão relativo
ER	Erro relativo
EU	União Européia
F-valor	Razão entre a média quadrática do modelo e do resíduo
FP	Fator de pré-concentração
g	Fator de empacotamento
GC	Cromatografia gasosa
GC-FPD	Cromatografia gasosa com detecção por fotometria de chama
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GC-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem
GL	Graus de liberdade
H	Resposta mais desejável
H <sub>2</sub> O	Água
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos
HPLC-UV	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria ultravioleta

IC-hv-FD	Cromatografia iônica com detector de fluorescência e reator fotoquímico pós-coluna
IL-DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico
$K_{oc}$	Coeficiente de sorção padronizado para o carbono orgânico
$K_{ow}$	Coeficiente de partição água-octanol
$l$	Comprimento aparente da cadeia de hidrocarboneto do monômero de surfactante na micela
$L$	Resposta menos desejável
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas
LLE	Extração líquido-líquido
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
$m$	Número de respostas estudadas no processo de otimização
MS	Espectrometria de massas
$n$	Número de replicatas (podendo ser amostras ou dias)
ND	Não detectado
NaCl	Cloreto de sódio
NaNO <sub>3</sub>	Nitrato de sódio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de sódio
$P$	Pressão de vapor
p-valor	Significância do F-valor
PE	Porcentagens de extração
$pK_a$	Logaritmo da constante de dissociação ácida
$r$	Peso aplicado
$R_{adj.}$	Coeficiente de correlação ajustado
$s$	Desvio padrão
SBSE	Extração sortiva em barra magnética
SDVB	Copolímero de estireno-divinilbenzeno
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
SUPRAS	Microextração por solvente supramolecular
$t_{1/2}$	Tempo de meia-vida
THF	Tetrahidrofurano
UA	Unidade arbitrária

USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América
UV-Vis	Espectroscopia molecular na região ultravioleta-visível
V	Volume da cadeia de hidrocarboneto do monômero micelar
Y <sub>i</sub>	Resposta do ensaio

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	23
2.1.	ÁGUA, RECURSOS HÍDRICOS E CONTAMINAÇÃO POR PESTICIDAS.....	23
2.2.	SOLVENTES SUPRAMOLECULARES.....	27
2.2.1.	Automontagem.....	28
2.2.2.	Coacervação.....	30
2.2.3.	Aplicação para Determinação de Pesticidas.....	31
	<b>CAPÍTULO I</b> .....	34
<b>3.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	35
3.1.	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	35
3.2.	APARATOS.....	35
3.3.	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE SUPRAMOLECULAR.....	36
3.4.	PROCEDIMENTO DE OTIMIZAÇÃO.....	37
3.5.	DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS DO MÉTODO.....	38
3.6.	COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	39
3.7.	PROGRAMAS COMPUTACIONAIS.....	40
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
4.1.	MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS HERBICIDAS.....	40
4.1.1.	Capacidade de Extração do Solvente e Propriedades dos Herbicidas.....	40
4.1.2.	Otimização.....	43
4.2.	PARÂMETROS ANALÍTICOS.....	50
4.3.	ANÁLISES DE ÁGUAS NATURAIS.....	55
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	58

<b>CAPÍTULO II</b> .....	59
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	60
3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES .....	60
3.2. APARATOS .....	60
3.3. PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO .....	61
3.4. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO.....	62
3.5. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS DO MÉTODO .....	62
3.6. AVALIAÇÃO DE INTERFERÊNCIA NA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS.....	63
3.7. COLETA, PREPARAÇÃO E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS .....	64
3.8. PROGRAMAS COMPUTACIONAIS.....	65
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	65
4.1. MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS PESTICIDAS .....	65
4.1.1. Propriedades dos Analitos e Interações com o Surfactante.....	65
4.1.2. Otimização multivariada do método SUPRAS .....	68
4.2. PARÂMETROS ANALÍTICOS .....	75
4.3. AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA .....	78
4.4. ANÁLISE DE ÁGUAS NATURAIS E AMBIENTES ARTIFICIAIS .....	81
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	85
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	85
<b>ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO</b> .....	102
<b>ANEXO B – EXEMPLOS DE CROMATOGRAMAS</b> .....	110

## 1.INTRODUÇÃO

Aplicados há décadas em várias culturas para aumentar o rendimento, melhorar a qualidade e maximizar o retorno econômico, os pesticidas têm atraído considerável atenção por serem frequentemente detectados em corpos d'água naturais ou artificiais, podendo afetar ecossistemas e causar vários problemas de saúde a animais e seres humanos [1-4]. Pesticida é qualquer substância ou mistura de substâncias destinada a prevenir, destruir ou controlar qualquer praga que causam danos ou interferem na produção, armazenamento, transporte ou comercialização de alimentos, produtos agrícolas, madeira e produtos de madeira ou alimentos para animais, como também substâncias que possam ser administradas a animais para o controle de insetos, aracnídeos ou outras pragas no corpo. O termo inclui também substâncias destinadas ao uso como regulador de crescimento de plantas, desfolhante, dessecante ou agente para desbaste de frutas ou para impedir a queda prematura de frutas. Também usado como substâncias aplicadas às culturas antes ou depois da colheita para proteger a mercadoria da deterioração durante o armazenamento e o transporte [5]. Atualmente, existem três métodos mais populares de classificação de pesticidas. Esses três métodos populares de classificação compreendem: classificação baseada no modo de entrada, classificação baseada na função de pesticidas e no organismo de pragas que eles matam e classificação baseada na composição química do pesticida [6].

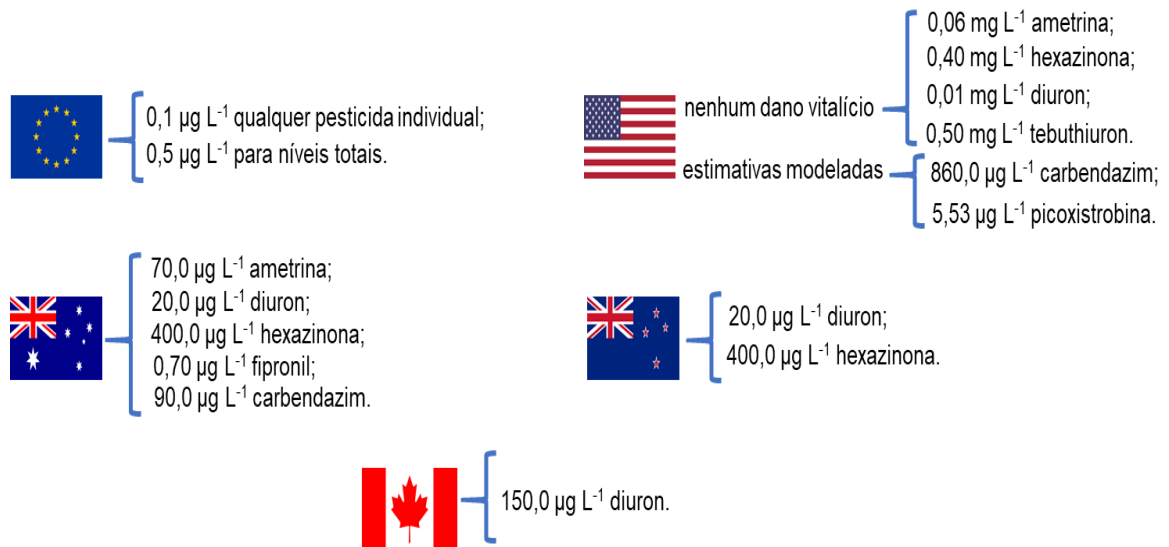
Menos de 1% da quantidade total de pesticidas aplicados para controle de pragas atingem o alvo [4]. Uma grande quantidade é perdida e, uma vez em ambiente aquático, pode ser absorvida pelos organismos, não apenas provocando efeitos detectáveis agudos, mas induzindo outros danos, como distúrbios genéticos e alterações fisiológicas, que reduzem a expectativa de vida a longo prazo [4,7-9].

Ametrina, carbendazim, diuron, fipronil, hexazinona, picoxistrobina e tebuthiuron são exemplos de pesticidas amplamente empregados em todo o mundo e, devido a características físico-químicas como persistência (baixa taxa de degradação) e mobilidade, já foram detectados em águas naturais e artificiais [10-12].

A detecção frequente em águas é uma grande preocupação para o público, autoridades e todos os envolvidos na produção de água potável, tratamento de águas residuais e aplicações de reutilização de água devido aos efeitos potencialmente adversos à saúde associados a esses compostos, mesmo em pequenas concentrações [13]. Para garantir a proteção ambiental e estabelecer parâmetros de qualidade de águas, o Brasil tem como alicerce a Resolução nº 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) [14], que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento de corpos d'água superficiais (águas doces, salobras e salinas) – contendo 90 itens: 26 parâmetros inorgânicos e 64 parâmetros orgânicos – e a Portaria do Ministério da Saúde 2.914/11 [15], que dispõe sobre os procedimentos de controle e qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade – contendo 28 agrotóxicos na tabela de padrão de potabilidade para substâncias químicas que representam riscos à saúde. No entanto, devido ao país ser um grande consumidor de pesticidas, os parâmetros de qualidade das águas não contemplam os numerosos produtos utilizados rotineiramente, tampouco seus produtos e subprodutos de degradação, resultando na falta de parâmetros para pesticidas com altas probabilidades de ocorrência em águas superficiais, subterrâneas e hidrometeoros [16,17].

Quando não há informações referentes aos limites permitidos de pesticidas nos documentos nacionais, buscam-se valores limitantes em legislações internacionais como, por exemplo, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA),

União Europeia (EU) e entre outros [8,18-27], como mostrado na Figura 1. Considerando a importância do monitoramento da presença de resíduos de pesticidas em baixas concentrações em águas e as rigorosas regulamentações, análises por métodos confiáveis com alta detectabilidade, seletividade e frequência analítica são necessárias.



**Figura 1** – Valores limitantes de ametrina, carbendazim, diuron, fipronil, hexazinona, picoxistrobina e tebuthiuron em legislações internacionais [18-27].

Diferentes técnicas têm sido exploradas para a determinação de pesticidas, no entanto, métodos cromatográficos acoplados a detectores seletivos são tradicionalmente utilizados para análise devido sua sensibilidade, confiabilidade e eficiência [28-30]. Atualmente, a cromatografia líquida (HPLC) ou a cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massas (MS) e/ou MS em tandem (MS/MS) parecem ser as técnicas mais aceitáveis para a determinação de pesticidas. Para analitos de alta a média volatilidade que são termicamente estáveis, a GC-MS ou GC-MS/MS apresentam-se como melhores técnicas pois combinam alta eficiência com a especificidade estrutural da MS. No entanto, analitos polares, não voláteis ou termicamente instáveis são mais difíceis de identificar por estas técnicas em amostras naturais, necessitando tratamento amostrais adicionais (como

a derivatização) [31, 32]. A HPLC acoplada ao detector de arranjo de diodos (DAD) também é frequentemente utilizado, sendo mais acessível e capaz de identificar vários pesticidas pelos seus espectros de absorção [33]. Comparando os desempenhos analíticos, o HPLC convencional acoplado ao DAD é inferior ao MS ou MS/MS. Portanto, os procedimentos de pré-tratamento de amostras são indispensáveis para determinar os pesticidas em baixos níveis de concentração (microgramas por litro) utilizando HPLC-DAD [33, 34].

Os procedimentos miniaturizados de pré-tratamento de amostras são importantes para a análise de pesticidas, apresentando várias vantagens além da extração e pré-concentração, como a diminuição do uso de solventes tóxicos e a diminuição/eliminação de possíveis compostos interferentes [35-37]. Dentre estes, destacam-se a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid-phase Extraction*) [38, 39], a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid-phase Microextraction*) [40, 41], a extração sortiva em barra magnética (SBSE) [42-44], a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) [45,46] e a microextração por solventes supramoleculares (SUPRASs) [47,48].

A SPE é um dos procedimentos mais utilizados para limpeza, extração, fracionamento e pré-concentração de poluentes em amostras ambientais, clínicas, biológicas e alimentícias [49]. Ao percolar as amostras por um cartucho contendo um material sorvente, os analitos são retidos e, posteriormente, um solvente orgânico é utilizado para eluir os analitos ou eliminar interferentes [49-51]. Entretanto, este procedimento apresenta algumas desvantagens como: ter baixa reusabilidade e uma dessorção não quantitativa do analito devida elevada interação do analito com a fase sólida [52]. SPME e a SBSE são técnicas sortivas baseadas no equilíbrio entre a matriz da amostra e o revestimento polimérico [41, 42]. A principal limitação destas

duas técnicas consiste na baixa frequência analítica, sendo requerido tempos relativamente longos para que o equilíbrio seja atingido pois a taxa de extração é controlada pela difusão da matriz amostral pela fronteira da fase extratora [53,54].

A DLLME foi desenvolvida como um avanço das técnicas de microextração em fase líquida [55]. O princípio básico da técnica é a dispersão de um solvente extrator (imiscível com água) e um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) em uma solução aquosa, o que proporciona uma grande área de contato entre a fase aquosa e o solvente extrator [55-57]. Do ponto de vista comercial, econômico e ambiental, as vantagens da DLLME em relação aos métodos convencionais de extração com solvente são simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, fácil manipulação, baixo consumo de solventes orgânicos (da ordem de  $\mu\text{L}$ ), alta recuperação, alto fator de enriquecimento e compatibilidade com os métodos analíticos com análise por cromatografia a gás ou cromatografia líquida. No entanto, o pré-tratamento apresenta algumas restrições na seleção e automação de solventes. [57]

A microextração por solventes supramoleculares (SUPRASs) é um termo recente para se referir aos líquidos nanoestruturados produzidos em soluções coloidais de compostos anfífilos (n-alcanóis, ácidos alquilcarboxílicos, álcoois etoxilados, alquifenóis etoxilados, ésteres metílicos de ácidos graxos oxietilados, alquilsulfonatos, alquisulfatos, dialquisulfocinatos e entre outros) por fenômenos sequenciais espontâneos de automontagem e coacervação [58, 59]. Inicialmente, uma solução homogênea de anfífilos produz uma solução coloidal de agregados tridimensionais, acima de uma concentração crítica de agregação (CCA), por meio de um equilíbrio de interações atrativas e repulsivas e de delicadas interações entre soluto-solvente e soluto-soluto. Por conseguinte, as condições ambientais são

alteradas para produzir a coacervação e, por meio deste fenômeno, agregados maiores são induzidos na solução coloidal, provocando a formação de gotículas oleosas (i. e., gotas de coacervatos) que se associam e produzem conglomerados de gotículas individuais [58, 59].

Os SUPRASs possuem propriedades intrínsecas que os tornam muito atraentes para processos de extração. Essas propriedades derivam do caráter anfifílico das moléculas que as compõem e de sua alta concentração. Assim, nanoestruturas nos SUPRASs possuem regiões de diferentes polaridades que dissolvem, concentram, compartimentalizam, organizam e localizam uma ampla gama de analitos, criando um meio específico para isolar os compostos alvo [58, 60, 61]. Os SUPRASs também são vantajosos devido ao baixo consumo de solventes químicos, por permitirem interações polares (micelas reversas) e apresentarem alta capacidade de solubilização com baixos volumes de solvente (na faixa de microlitros) [58-61].

Em soluções de tetrahidrofurano (THF)/água, os agregados micelares reversos de alcanóis formam espontaneamente cavidades aquosas rodeadas pelos grupos polares de alcanóis com as cadeias alquílicas dissolvidas em THF. A adição de THF em sistemas não-iônicos é uma maneira muito eficaz de promover a coacervação e diminuir o número de moléculas de solvente (água) disponíveis para a solvatação das micelas. A competição pelo solvente de solvatação dessolvata os grupos polares dos anfífilos, estimulando a formação micelar e a separação de fases [62]. Este líquido nanoestruturado fornece um meio de reação excelente para o processo de extração de compostos orgânicos, como também para complexos metálicos [60,62]. As interações intermoleculares que conduzem à extração são ligações de hidrogênio e hidrofóbicas, sendo o primeiro um mecanismo de solubilização extremamente eficaz para compostos polares. Mediante o exposto, o presente trabalho tem como

objetivo desenvolver metodologias utilizando solventes supramoleculares para microextração e melhoria da detectabilidade do HPLC-DAD na determinação de pesticidas em amostras de água naturais ou artificiais. Para produzir os agregados micelares reversos de alcanóis, utilizou-se o solvente extrator 1-decanol em soluções de THF/água.

No primeiro capítulo foi desenvolvido um método de microextração à base de solvente supramolecular para extração e pré-concentração simultânea de diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron de amostras de águas naturais com posterior determinação por HPLC-DAD. Estes analitos são herbicidas amplamente utilizados em todo o mundo e, no Brasil, representam 70% de todos os herbicidas aplicados em lavouras de cana-de-açúcar [63]. Eles são altamente eficientes na inibição do transporte de elétrons na fotossíntese e altamente persistentes (baixa taxa de degradação) no ambiente sem sofrer qualquer alteração em sua estrutura molecular por um período [64-67]. Neste capítulo estão contidos os resultados obtidos em estudos de otimização, os parâmetros analíticos e análise de amostras provenientes de três riachos de três distintas cidades (as cidades Assis e Tarumã do estado de São Paulo e a cidade Arapongas do estado do Paraná) e de um poço artesiano localizado na cidade de Assis.

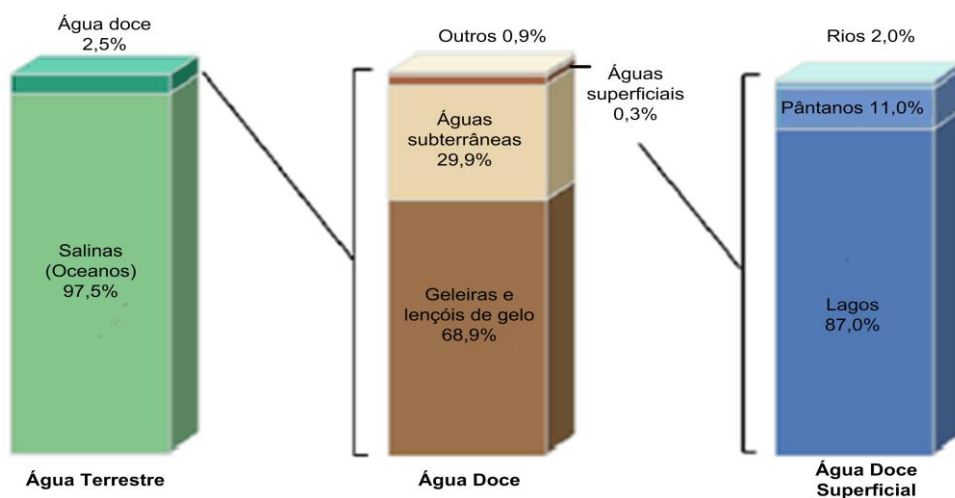
No segundo capítulo desenvolveu-se um método de microextração utilizando SUPRASs para os pesticidas carbendazim, fipronil e picoxistrobina com posterior determinação por HPLC-DAD. Tais pesticidas selecionados são amplamente utilizados em lavouras brasileiras, correspondendo a aproximadamente 9,0% das vendas totais das toneladas de ingredientes ativos comercializados no país em 2017, e podem atingir águas naturais e causar efeitos adversos a organismos não-alvo [17, 68]. No capítulo estão contidos os resultados obtidos em estudos de

otimização, dos parâmetros analíticos, dos estudos de interferência e das avaliações de desempenho analítico em diversas águas naturais (hidrometeoros, águas superficiais e subterrâneas) e águas artificiais (lagos artificiais) de diferentes locais do Brasil.

## 2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1.ÁGUA, RECURSOS HÍDRICOS E CONTAMINAÇÃO POR PESTICIDAS

A água é absolutamente essencial para a sobrevivência. Além de todos os organismos vivos dependerem dela, seres humanos a utilizam na agricultura, indústria, recreação e em usos domésticos. Os recursos hídricos constituem cerca de 71% da superfície do planeta Terra, mas sua maioria é salgada, conforme mostrado na Figura 2. A água doce, que é necessária para uso doméstico, industrial e para a agricultura, corresponde apenas cerca de 2,5%. Desta água doce, 68,9% estão presentes em geleiras e lençóis de gelo, 29,9% são subterrâneas e apenas 0,3% são águas superficiais (rios, pântanos e lagos) [69-72].



**Figura 2** - Distribuição global da água [69-72].

Quase 60% de todas as retiradas de água doce do mundo são destinadas para usos em irrigações agrícolas [72]. Como consequência, inúmeros países têm se preocupado com o surgimento de pesticidas em águas subterrâneas e em água superficiais, devido ao mesmo ser massivamente utilizado neste setor [73-77]. Todos os pesticidas são tóxicos em algum grau. Para alguns deles, apenas uma quantidade muito pequena é necessária para causar efeitos agudos ou crônicos em seres humanos ou em ecossistemas [78-80]. Pesticidas podem contaminar águas superficiais e subterrâneas tanto por fontes pontuais quanto por fontes difusas. Como resultado, o ciclo hidrológico pode ser afetado em muitos níveis. Além do clima, do solo e das propriedades geológicas, quatro propriedades dos pesticidas determinam sua tendência a movimentação, contribuindo para a contaminação de hidrometeoros, águas superficiais e subterrâneas. Estas incluem a adsorção, solubilidade, persistência e a volatilização/sublimação. [81-83]

O processo de adsorção consiste na 'adesão' dos pesticidas pulverizados às partículas do solo e à matéria orgânica em graus variados. Pelo parâmetro denominado coeficiente de sorção padronizado para o carbono orgânico ( $K_{oc}$ ), definido como a proporção entre o analito adsorvido por unidade de peso de carbono orgânico e a solução do solo, faz-se possível avaliar o grau de adsorção de determinado pesticida no solo. Pesticidas moderadamente ( $K_{oc}$  100,0 – 599,0 mL g<sup>-1</sup>) ou fracamente ( $K_{oc}$  0,5 – 99,0 mL g<sup>-1</sup>) adsorvidos são levados facilmente por escoamentos de águas superficiais e são mais propensos a lixiviar, enquanto pesticidas fortemente adsorvidos ( $K_{oc}$  > 5000 mL g<sup>-1</sup>) [81-85].

Solubilidade é a capacidade de um analito se dissolver em um meio. A solubilidade é frequentemente expressa em miligramas por litro (mg L<sup>-1</sup>) ou parte por milhão (ppm). Produtos químicos com alta solubilidade geralmente são facilmente

removidos da água, tendo a lixiviação como principal preocupação. Produtos químicos com solubilidade inferior a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  são fortemente adsorvidos ou ligados a sedimentos, e as perdas via erosão do solo são a principal preocupação ambiental. Outra importante medida de solubilidade é o coeficiente de partição água-octanol ( $K_{ow}$ ), que consiste no quociente entre a solubilidade de uma substância em n-octanol e em água, em condições de equilíbrio. Quanto maior o logaritmo de  $K_{ow}$  ( $\log K_{ow}$ ), maior a hidrofobicidade do pesticida [81-85].

Persistência refere-se a quanto tempo leva para um analito se dissipar ou degradar do ambiente. A persistência determinará o período que o pesticida estará disponível para perda ambiental, como também para o controle de pragas. A taxa de degradação é influenciada pela atividade microbiana, reações químicas, fotodegradação (exposição à luz solar) e temperatura. A persistência pode ser expressa em termos de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) - tempo necessário para que metade do pesticida se degrade em outros produtos [81-85]. O tempo de meia-vida pode ajudar a estimar se um pesticida tende a se acumular no meio ambiente, podendo ser agrupados em três grupos para estimar a persistência. Estes são: baixa persistência (menos de 16 dias de meia-vida), moderada persistência (16 a 59 dias) e alta persistência (acima de 60 dias). Os pesticidas com tempos de meia-vida mais curtos tendem a acumular-se menos porque são muito menos propensos a persistir no meio ambiente. Em contraste, os pesticidas com meias-vidas mais longas são mais propensos a se acumularem após repetidas aplicações. Isso pode aumentar o risco de contaminação de águas superficiais próximas, águas subterrâneas, plantas e animais [81-85].

A volatilização/sublimação é o fenômeno de mudança de fase de um líquido ou sólido para o estado gasoso. Fatores ambientais específicos que tendem a aumentar

a volatilização/sublimação incluem alta temperatura, baixa umidade relativa e movimentação de ar. O processo fornece um caminho significativo de transferência para alguns pesticidas. Em geral, os pesticidas com baixas pressões de vapor ( $\leq 1 \cdot 10^{-6}$  mmHg) são menos propensos a se transformar em vapor, já aqueles com altas pressões de vapor ( $\geq 1 \cdot 10^{-2}$  mmHg) são mais propensos a mudar para o estado gasoso. Menos volatilização/sublimação ocorre em solos mais secos, porque a falta de água permite que o pesticida seja eficientemente adsorvido nas partículas do solo [81-85]. Quando inserido na atmosfera como um gás, os pesticidas podem diluir-se em gotículas de água ou serem adsorvidos por materiais suspensos (como partículas de poeira), tornando-se altamente suscetíveis ao transporte de longo alcance a partir do local de aplicação. Na atmosfera, pesticidas também pode sofrer reações de fotólise, oxidação e hidrólise. Ao dissolver-se, pesticidas retornam a superfície terrestre durante precipitações [86, 87].

Em águas subterrâneas, a presença de pesticidas é algo alarmante. A taxa de rotatividade para a água subterrânea pode ser curta (alguns meses), no entanto comumente são necessários anos e décadas para substituí-la. O gás oxigênio é praticamente ausente e, os microrganismos que vivem neste ambiente são muito menos eficazes na metabolização de pesticidas. Diluições e decomposições extremamente lentas significam que o pesticida permanecerá por um longo período. A contaminação de águas subterrâneas não pode ser facilmente corrigida. Isso exige a perfuração de poços de purga e o bombeamento da água para a superfície. O bombeamento pode ter que ser continuado por um longo tempo para remover toda a água contaminada. O processo é extremamente caro, logo evitar a contaminação é a melhor solução [88-92].

Contaminações de águas superficiais por pesticidas são menos graves do que em águas subterrâneas. A maioria das águas superficiais (exceto lagos profundos) tem uma taxa de renovação rápida, o que significa que a água doce dilui rapidamente a concentração do contaminante. Além disso, a maioria das águas superficiais contém oxigênio livre, o que aumenta a taxa de decomposição dos pesticidas por microrganismos [93, 94]. Entretanto, esta contaminação não deve ser tratada casualmente e necessita monitoramento, pois pesticidas extremamente tóxicos podem causar danos severos em ambientes aquáticos, mesmo em baixas concentrações.

## 2.2.SOLVENTES SUPRAMOLECULARES

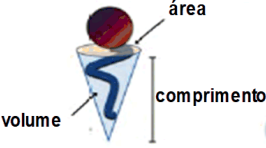

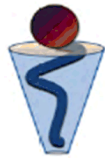
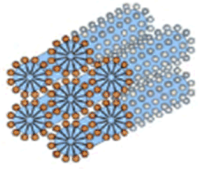



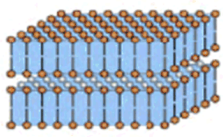
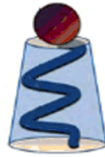

Desde que Watanabe et al. reportaram a técnica do ponto nuvem, os SUPRAS têm sido extensivamente aplicados à extração de compostos orgânicos hidrofóbicos e metais, principalmente em amostras ambientais e biológicas [95-99]. Na última década, o progresso nessa área concentrou-se no desenvolvimento de SUPRAS baseados em surfactantes iônicos, outros agregados micelares além de micelas aquosas (ou seja, micelas reversas e vesículas) e outros estímulos à agregação além da temperatura como força motriz da separação de fase (por exemplo, pH, eletrólitos ou solventes). Muitos aspectos teóricos e práticos da automontagem e coacervação dos anfífilos também foram elucidados. Esta ampla experiência adquirida é hoje uma base promissora, em consonância aos princípios da química verde, para o desenvolvimento de solventes supramoleculares com propriedades direcionadas que podem fornecer extração seletiva em aplicações específicas [59, 100-102].

### 2.2.1. Automontagem

Na automontagem, os componentes isolados se organizam de forma autônoma e espontânea em estruturas ordenadas e/ou funcionais. Para anfífilos típicos, a solvofobicidade impulsiona a agregação enquanto o processo de parada emana da repulsão do grupo orgânico principal. Assim, estruturas coloidais automontáveis surgem de uma interação delicada entre interações soluto-solvente e soluto-soluto. As estruturas organizadas são unidas por interações não covalentes (por exemplo, íon-íon, íon-dipolo, dipolo-dipolo, ligação de hidrogênio, cátion- $\pi$ ,  $\pi$ - $\pi$ , dispersão), que são consideravelmente mais fracas (2-300 kJ/mol) que as interações covalentes (150-450 kJ/mol) [100-103]. No entanto, quando essas interações são usadas de maneira cooperativa, elas podem fornecer conjuntos supramoleculares muito estáveis. A morfologia do agregado depende do tamanho relativo do grupo principal e da cadeia de hidrocarbonetos do anfífilo e, pode ser previsto usando o chamado fator de empacotamento ( $g$ ) introduzido por Israelachvili e colaboradores [104], descrito pela Equação 1.

$$g = \frac{V}{a_0 \times l} \quad (1)$$

Na equação,  $V$  é o volume da cadeia de hidrocarboneto do monômero micelar,  $a_0$  é a área ocupada pelo grupo principal na superfície da micela (grupo cabeça), e  $l$  é o comprimento aparente da cadeia de hidrocarboneto do monômero de surfactante na micela. Uma vez que os três subparâmetros  $v$ ,  $a_0$  e  $l$  são estimados, pode-se determinar a estrutura de micela mais favorável utilizando o parâmetro de empacotamento do surfactante. Esse fornece um excelente guia para identificar as estruturas micelares sem exigir conhecimento das relações complexas entre as forças, conforme demonstrado na Figura 3 [100-103].

Tipos de agregado	Fator de empacotamento	Geometria do Surfactante	Estrutura do agregado
Micelas esféricas	$\frac{V}{a_a l_c} < \frac{1}{3}$		
Micelas cilíndricas	$\frac{1}{3} < \frac{V}{a_a l_c} < \frac{1}{2}$		
Bicamadas flexíveis ou vesículas	$\frac{1}{2} < \frac{V}{a_a l_c} < 1$		
Bicamadas planares	$\frac{V}{a_a l_c} \sim 1$		
Micelas reversas	$\frac{V}{a_a l_c} > 1$		

**Figura 3** - Estrutura de agregados supramoleculares de acordo com o fator de empacotamento ( $g$ ). (Adaptado de Ballesteros-Gómez et al., [59])

Por exemplo, quando o valor de  $g$  é próximo de  $1/3$ , pode-se prever a formação de uma micela esférica pela simples consideração geométrica do empacotamento de monômeros do tipo cone em agregados tridimensionais automontáveis. Da mesma forma, quando o valor de  $g$  está entre  $1/3$  e  $1/2$ , pode-se prever que a micela em forma de bastão cilíndrico será formada. Quando o valor  $g$  é próximo de  $1$ , a forma de empacotamento da unidade torna-se o tipo de cilindro. Assim, a micela tipo bicamada é a estrutura mais provável de ser montada. Por outro lado, quando a geometria de empacotamento é ligeiramente menor que  $1$ , a bicamada pode ser curvada e, eventualmente, formar uma forma esférica fechada de agregado

automontável denominado como bicamadas flexíveis ou vesículas. Com valores de  $g > 1$ , micelas reversas são formadas [103-105].

Os SUPRAS se comportam como materiais adaptativos. Se as condições experimentais forem alteradas, os agregados serão reformados e indistinguíveis do original. Logo, a reversibilidade ou ajustabilidade é um fator-chave para gerar estruturas ordenadas por automontagem e compreender o comportamento dos SUPRAS em solução. A reversibilidade das interações não covalentes permite a mudança dinâmica da morfologia e das funções das nanoestruturas em resposta a vários estímulos externos, o que proporciona uma plataforma flexível para projetar e fabricar nanomateriais anfifílicos inteligentes e dispositivos supramoleculares funcionais. [105].

### 2.2.2. Coacervação

A coacervação é o fenômeno que envolve a aproximação e a agregação das estruturas tridimensionais, levando à formação de gotas de coacervado, que em seguida organizam-se em agregados de maior tamanho (micro e nano-estruturados), tornando-se imiscíveis e dispersos na fase contínua. O crescimento dos agregados anfifílicos nesta etapa envolve a redução das repulsões dos grupamentos característicos dos anfifilos. Como alcançar este objetivo depende de cada sistema. Entre os agentes de coacervação, eletrólitos ou contraíons anfifílicos, como também alterações de pH, são frequentemente utilizados para induzir a coacervação em soluções coloidais de anfifilos iônicos. A temperatura é também um indutor muito comum de coacervação em soluções coloidais de surfactantes não-iônicos, zwitteriônicos e de misturas não-iônico/iônico [106-108].

Entretanto, para sistemas compostos de surfactantes não-iônicos de ácidos carboxílicos e alcanóis uma alternativa eficiente de induzir a coacervação tem sido

adicionar um solvente pobre para micelas que seja miscível no solvente de solvatação [59, 60, 100, 109-111]. Uma ampla variedade de solventes próticos e apróticos podem ser utilizados (dioxano, THF, acetona, acetonitrila, etanol, metanol, propanol, etilenoglicol, dimetilformamida e etc.). A competição pelo solvente de solvatação irá dessolvatar os grupos polares dos surfactantes, possibilitando o crescimento micelar e a separação de fases [100]. Um exemplo é a separação de fases de micelas reversas hexagonais de 1-decanol em água promovida pela adição de THF.

No sistema tetrahidrofurano (THF)/água a composição global do solvente, o tamanho das gotas coacervadas que o formam e as cavidades aquosas do arranjo hexagonal invertido dos anfífilos podem ser adaptadas controlando-se o ambiente (especificamente a relação THF: água, na solução). O tamanho das gotas coacervadas aumenta conforme a proporção de THF, mas a concentração das micelas diminui. O tamanho dos vacúolos é também dependente da porcentagem de THF na solução coloidal e esta propriedade pode ser explorada para a utilização destes SUPRAS como solventes de acesso restrito [59, 60, 100].

### 2.2.3. Aplicação para Determinação de Pesticidas

Várias abordagens baseadas na microextração utilizando SUPRAS têm sido propostas na literatura para a determinação de pesticidas em amostras ambientais, agroalimentares e biológicas. Os surfactantes não-iônicos Triton X-114 e Triton X-100 foram utilizados para extrair resíduos de inseticida carbamato em frutas [112], pesticidas organofosforados na urina humana [113], carbofurano em arroz [114], hidrazina em águas e amostras biológicas [115], prometrina na água e nos solos [116] e carbamatos no milho [117]. Uma etapa de LLE para amostras sólidas antes

da pré-concentração por CPE e foi realizado com acetonitrila [112] ou com a solução micelar [115]. Enquanto detecção por HPLC com detecção UV-Vis (HPLC-UV) tenha sido empregada na região do ultravioleta para a determinação de inseticidas carbamato (270 nm), a região visível foi selecionada para o carbofurano (530 nm) após derivatização para evitar a alta absorvância de fundo do Triton X-100 na região UV.

A determinação de pesticidas organofosforados na urina humana envolveu a extração retro-assistida por microondas de compostos contidos em isoctano (200  $\mu\text{L}$ ) para remover o surfactante antes do GC com detecção por fotometria de chama (GC-FPD) [113]. Uma etapa de centrifugação foi necessária apenas para limpeza adicional antes da injeção. Os baixos limites fornecidos pelo método (0,07  $\mu\text{g L}^{-1}$  para forato, fention e quinalphos, 0,04  $\mu\text{g L}^{-1}$  para diazinon e 0,08  $\mu\text{g L}^{-1}$  para metilparation) foram inferiores aos obtidos por outros métodos de microextração utilizando SPME, portanto comprovando sua adequação ao monitoramento biológico.

Moral e colaboradores propuseram um solvente supramolecular composto de vesículas de ácido decanóico/decanoato de tetrabutilamônio para a análise de fungicidas benzimidazólicos - carbendazim, tiabendazol e fuberidazol - em águas superficiais e subterrâneas com determinação por HPLC-UV [118]. Os analitos foram extraídos com base em interações hidrofóbicas e  $\pi$ -cátion e pela formação de ligações de hidrogênio. O tetrabutilamônio promoveu a formação de SUPRAS e aumentou a recuperação de benzimidazol por meio de interações  $\pi$ -catiônicas. Foram obtidos altos valores de fator de preconcentração (160–190), resultando em baixos limites de detecção (32  $\text{ng L}^{-1}$ , 4  $\text{ng L}^{-1}$  e 0,1  $\text{ng L}^{-1}$  para carbendazim, tiabendazol e fuberidazol, respectivamente).

Recentemente, Zohrabi et al. [119] propuseram um novo procedimento baseado na aplicação de um solvente supramolecular como veículo para um ferrofluido. O ferrofluido foi produzido a partir da combinação de partículas magnéticas revestidas com ácido oleico e um solvente supramolecular como solvente extrator. Essas partículas podem ser atraídas por um ímã, portanto, nenhuma etapa de centrifugação é necessária para a separação de fases. A técnica de extração proposta foi aplicada com sucesso na extração e determinação de três pesticidas organofosforados em amostras de água e suco de frutas. O limite de detecção variou de 0,1 a 0,35  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Já Amir e colaboradores propuseram um método de microextração para HPLC-UV com solvente supramolecular para análise de resíduos de herbicidas de dinitroanilina (pendimetalina e trifluralina) em amostras de água e cebola. No método, micelas reversas de undecanol dispersas em THF e água foram utilizadas como solvente supramolecular. A porcentagem de recuperações foi encontrada de 97,5 a 100% e 91,2 a 95,2% para amostras de água e cebola, respectivamente. O limite de detecção de pendimetalina e trifluralina situou-se na faixa de 3,0 a 5,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  para amostras de água e de 7 a 11  $\mu\text{g L}^{-1}$  para amostras de cebola [120]. Outro método utilizando micelas reversas de undecanol dispersas em THF e água foi o de Peyrovi e Hadjmohammadi para microextrair três pesticidas organofosforados (cloropirifós, diazinon e fosadona) em água de torneira e suco de frutas por detecção em HPLC-UV. Os limites de detecção de pesticidas foram de 0,5 a 1,3  $\mu\text{g L}^{-1}$  [121].

# CAPÍTULO I

## Microextração simultânea de herbicidas em águas naturais por solvente supramolecular

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de qualidade analítica ou HPLC e todas as soluções de trabalho foram preparadas em água ultrapura (18,2 MΩ cm) a partir de um sistema de purificação Millipore® (Bedford, MA, EUA). Acetonitrila (ACN, ≥ 99,9%), THF (≥ 99,9%) e 1-decanol (≥ 98,0%) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA) enquanto metanol (99,9%) foi adquirido da Panreac® (Barcelona, Espanha), todos de grau HPLC. Padrões de diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron foram adquiridos da Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, EUA). Soluções individuais de herbicidas contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas em metanol e armazenadas em frascos de vidro âmbar no refrigerador. Nessas condições, eles permaneceram estáveis por pelo menos 1 mês. As soluções de trabalho contendo os herbicidas foram preparadas diariamente a partir das soluções estoques por diluição com água ultrapura. Cloreto de sódio (NaCl, 99,5%), nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>, 99,0%) e sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 99,0%) de grau analítico foram fornecidos por Fmaia® (Cotia, SP, Brasil), Nuclear® (São Paulo, SP, Brasil) e Vetec® (Duque de Caxias, RJ, Brasil), respectivamente.

#### 3.2. APARATOS

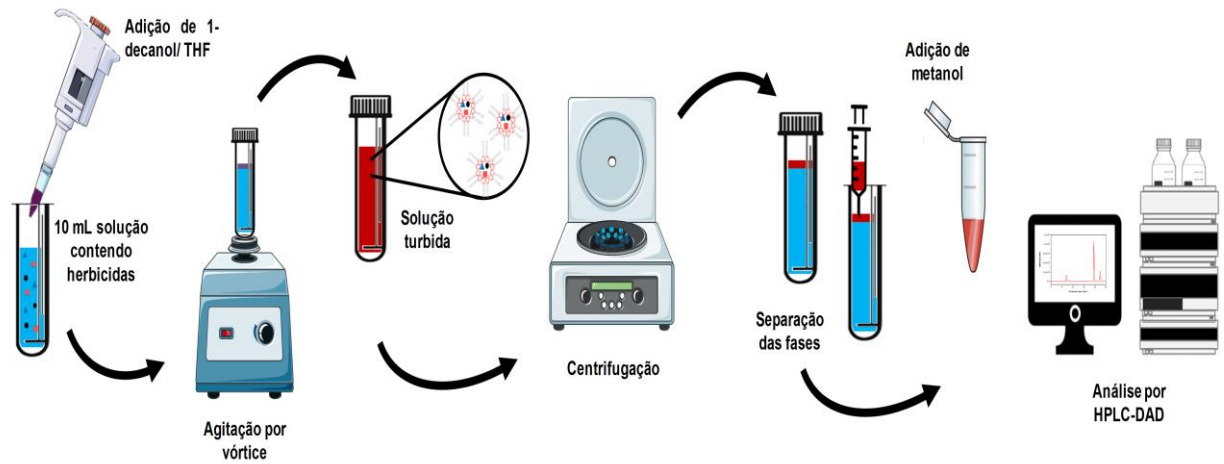
As medidas de pH foram realizadas com um pHmetro digital de laboratório Metrohm® pH 827 (Herisau, Suíça) e um eletrodo de vidro combinado Metrohm® Primatrode com sensor de temperatura integrado (Herisau, Suíça). Foi utilizado um oscilador de vórtice SCIOLOGEX® MX-S (Rocky Hill, CT, EUA), para auxiliar o procedimento de microextração supramolecular à base de solvente, e uma centrífuga QUIMIS® 0222T2 (Diadema, SP, Brasil), para o processo de separação de

fases. A separação cromatográfica foi realizada num cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu® Prominence LC-20AD / T LPGE KIT (Tóquio, Japão) operando em eluição de gradiente equipado com uma fase estacionária constituída por uma coluna Luna C<sub>8</sub> (5 µm x 250 mm x 4,6 mm) da Phenomenex® (Torrance, Califórnia, EUA), um detector de fotodiodos em 254 nm, volume de injeção de 20 µL e temperatura do forno de 30 °C. A vazão da fase móvel a 1,0 mL min<sup>-1</sup> consistiu num gradiente linear binário de acetonitrila e água (ACN: H<sub>2</sub>O, v/v). O gradiente consistiu em: ACN: H<sub>2</sub>O (30:70, v/v), 0,00 - 11,00 min; ACN: H<sub>2</sub>O (50: 50, v / v), 11,00 - 11,01 min; ACN: H<sub>2</sub>O (50: 50, v / v), 11,01-24,00 min. Para estabilizar a coluna para análise subsequente, o gradiente inicial foi percolado por seis minutos. Os tempos de retenção dos herbicidas foram 9,6, 10,6, 19,6 e 21,9 minutos para tebuthiuron, hexazinona, diuron e ametrina, respectivamente.

### 3.3. PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE SUPRAMOLECULAR

A sequência esquematizada do procedimento realizado para a microextração dos herbicidas utilizando SUPRASs está exemplificada na Figura 4. Foram adicionados, separadamente, volumes de 50 µL de 1-decanol e 100 µL de THF em 10,0 mL de solução aquosa de herbicida em pH 4,0 e contendo 5% de NaCl (m/v). Em seguida, a mistura foi agitada por um oscilador de vórtice durante 30 segundos, que é suficiente para formar espontaneamente o solvente supramolecular na solução, e submetida a centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos para completar a separação do solvente supramolecular por ser menos densa do que a água. Com uma seringa cromatográfica Hamilton® de 50 µL modelo 1705N (Reno, NV, EUA) o solvente supramolecular foi retirado, transferido para microtubos e 30 µL do mesmo foi diluído em metanol (1: 1, v / v) para homogeneizar e analisar. Para as amostras

de águas superficiais e subterrâneas foram utilizados volumes amostrais de 10,0 mL.



**Figura 4** – Representação esquemática da microextração realizada utilizando solvente supramolecular.

#### 3.4. PROCEDIMENTO DE OTIMIZAÇÃO

O efeito de variáveis experimentais sobre a eficiência de extração de herbicidas em água foi investigado mudando-se cada variável por vez, mantendo as demais previamente fixadas. A concentração dos padrões submetidos às microextrações foi de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  para todos os herbicidas e o volume foi fixado em 10,0 mL. As medições foram feitas em duplicata. A seleção das condições ótimas foi baseada nos valores das áreas cromatográficas. A influência do intervalo de pH (3,00-8,00), do efeito da força iônica ( $0,17$ - $1,71 \text{ mol L}^{-1}$  NaCl), do tipo de sal (NaCl,  $\text{NaNO}_3$  e  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), do volume de 1-decanol/THF e do tempo de agitação do vórtice (0,5-5,0 minutos) foram investigados na respectiva ordem.

### 3.5. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS DO MÉTODO

Todos os parâmetros analíticos (porcentagens de extração, curvas analíticas, fatores de pré-concentração, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão inter/intradia, exatidão e intervalos de confiança) foram calculados utilizando os valores de área cromatográfica obtidos simultaneamente a partir de procedimentos de microextração com 10,0 mL de soluções padrões.

As porcentagens de extração (PE) dos analitos sob condições otimizadas foram calculadas pela diferença entre os valores de uma solução inicial e o sobrenadante após pré-concentração dividido pelo valor da solução inicial, em triplicata. As curvas analíticas foram construídas submetendo as soluções padrões dos herbicidas (concentrações variando de 5-400  $\mu\text{g L}^{-1}$  para hexazinona e 1-400  $\mu\text{g L}^{-1}$  para diuron, ametrina e tebuthiuron) ao método de pré-concentração com solvente supramolecular, em triplicata. Os valores do fator de pré-concentração (FP) foram calculados como a razão entre a inclinação da curva analítica dos herbicidas após pré-concentração e a sem pré-concentração [122].

Obteve-se também outros parâmetros analíticos como linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão inter/intradia, exatidão e intervalo de confiança aplicando o método desenvolvido de acordo com as normas nacionais e internacionais [123-127]. Os LODs e LOQs foram determinados usando valores de área cromatográfica de soluções de brancos analíticos. O LOD de cada herbicida foi calculado utilizando a razão de três vezes o desvio padrão de dez brancos analíticos dividido pela inclinação da curva analítica obtida para o respectivo herbicida após microextração por SUPRAS. O LOQ de cada herbicida foi calculado utilizando a razão de dez vezes o desvio padrão de dez brancos analíticos dividido

pela inclinação da curva analítica obtida para o respectivo herbicida após microextração por SUPRAS [125].

A precisão inter/intradia, a exatidão e os intervalos de confiança foram calculados com duas soluções padrões contendo 5,0 e 400,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  dos herbicidas. Os desvios-padrão relativos (DPR, %) foram calculados para determinar a precisão. A precisão intradia, que significa a concordância entre os resultados dentro de um curto período, foi calculada utilizando corridas cromatográficas (obtidas no mesmo dia) de dez amostras de soluções padrões nas concentrações mencionadas. A precisão interdia, que representa a concordância entre os resultados obtidos em dias diferentes de análise, foi calculada utilizando corridas cromatográficas (realizadas em três dias diferentes) de amostras de soluções padrões nas concentrações mencionadas. A exatidão foi determinada pelo cálculo da porcentagem de erro relativo (ER, %) [126,127].

### 3.6. COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de águas superficiais foram coletadas de três riachos diferentes, localizados nas cidades de Assis e Tarumã no estado de São Paulo e da cidade de Arapongas no Paraná. As amostras de água subterrânea foram coletadas em um poço localizado na cidade de Assis. Todas as amostras foram recolhidas em recipientes de vidro âmbar e ajustadas a pH 2,00 pela adição de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de Nylon® de 0,45  $\mu\text{m}$  (GVS Filter Technology, Morecambe, Reino Unido) para remover partículas em suspensão e armazenadas no refrigerador sob proteção de luz até à análise. Antes da coleta, os frascos foram lavados com água de torneira, água destilada, acetona e hexano,

### 3.7. PROGRAMAS COMPUTACIONAIS

Todos os valores da área cromatográfica foram processados utilizando o software LabSolutions® LCsolution versão 1.25 (Shimadzu, Tóquio, Japão). As representações gráficas e análise estatística foram feitas pelo software Origin® Pro 8 SR0 v8.0724 (B724) (OriginLab Corporation, MA, EUA).

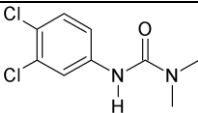
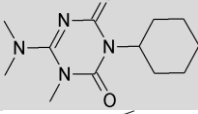
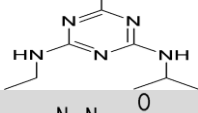
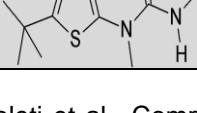
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS HERBICIDAS

#### 4.1.1. Capacidade de Extração do Solvente e Propriedades dos Herbicidas

Entender as interações entre solvente e analitos são importantes para montar um esquema de extração eficiente. Por ser um n-alcanol, o 1-decanol não se dissocia ( $pK_a \sim 15$ ) e retém a sua estrutura ordenada ao longo do intervalo de pH. As micelas reversas de 1-decanol podem solubilizar solutos com base em interações hidrofóbicas nas caudas de hidrocarbonetos e por ligações de hidrogênio nos grupos polares do álcool [59,60,62]. Estas associações de solvente-analito permitem o desenvolvimento de métodos robustos e eficientes de microextração. Por outro lado, os herbicidas analisados têm as suas próprias particularidades na qual podem afetar a microextração, como exemplificado na Tabela 1 e discutidos abaixo.

**Tabela 1** – Propriedades físicas e químicas dos herbicidas analisados.

Herbicida	Estrutura química	$K_{oc}$ (mL g <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	$t_{1/2}$ (dias) <sup>b</sup>	P (mmHg) <sup>a</sup>	Log $K_{ow}$ <sup>c,e</sup>	S (mg L <sup>-1</sup> , 20-25°C) <sup>c,d</sup>	pK <sub>a</sub>
Diuron		477	90	$6,9 \cdot 10^{-8}$	2,68	42	13,55 <sup>f,g</sup> -1,09 <sup>g</sup> -2,48 <sup>g</sup>
Hexazinona		54	90	$1,4 \cdot 10^{-7}$	1,05	33000	2,20 <sup>e</sup>
Ametrina		30	60	$8,4 \cdot 10^{-7}$	2,98	185	4,10 <sup>e</sup>
Tebuthiuron		80	360-450	$1,0 \cdot 10^{-7}$	1,79	2500	1,20 <sup>h</sup>

<sup>a</sup> P. J. Christoffoleti et al., Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar. primeira ed., ESALQ, Piracicaba, 2008.

<sup>b</sup>T. J. Monaco et al., Weed science: principles & practices, quarta ed., John Wiley & Sons, Inc., Nova Iorque, 2002.

<sup>c</sup>K. N. Reddy, M. A. Locke, Water, Air and Soil Pollution, 86, 1996.

<sup>d</sup> A. G. Hornsby et al., Pesticide Properties in the Environment. primeira ed., Springer-Verlag, Nova Iorque, 1996.

<sup>e</sup> H. M. Lebaron et al., The Triazine Herbicides. first ed., Elsevier, Amsterdam, 2008.

<sup>f</sup> A. Wong et al., React. Func. Polym., 100, 2016.

<sup>g</sup> Environment and Climate Change Canada, Screening Assessment for the Challenge Urea, N'-(3,4 dichlorophenyl)-N,N-dimethyl-(Diuron), 2011.

<sup>h</sup> R. J. Fonseca et al. React. Func. Polym., 03, 2015.

O herbicida ametrina, da classe das triazinas, apresenta fraca adsorção no solo, alta persistência ao ambiente e é pouco volátil [128, 129]. Numa perspectiva molecular, tem funcionalidades hidrofílicas e hidrofóbicas que confere um duplo comportamento de solubilidade e auxilia a microextração. Os pares de elétrons de nitrogênio em configuração  $sp^3$ , contidos no anel aromático, formam ligações de hidrogênio com moléculas de água conferindo caráter hidrofílico e solubilidade considerável, enquanto as cadeias laterais de alquilamino apresentam caráter hidrofóbico corroborando com o maior valor de coeficiente de partição água-octanol ( $K_{ow}$ ) de todos os herbicidas analisados. Por ser um ácido fraco ( $pK_a = 4,1$ ) e dependendo do pH do sistema aquoso, a ametrina pode existir como forma neutra

ou protonada. O nitrogênio mais básico do anel aromático localizado entre as cadeias alquilamínicas é o local de protonação mais provável [130, 131].

A hexazinona, uma triazina assimétrica que pertence ao grupo triazinona, é um herbicida pouco volátil, altamente persistente e apresenta fraca adsorção no solo [116,117]. É também a mais solúvel dos herbicidas analisados e, conseqüentemente, apresenta o menor valor de  $K_{ow}$  [131]. Devido a essas características, a hexazinona apresenta um caráter hidrofílico pronunciado e interage mais com a água, dificultando as interações com o solvente supramolecular. É um ácido forte ( $pK_a = 2,2$ ) com protonação no anel triazínico, contudo acima de pH 3,0 existe principalmente na forma molecular [128].

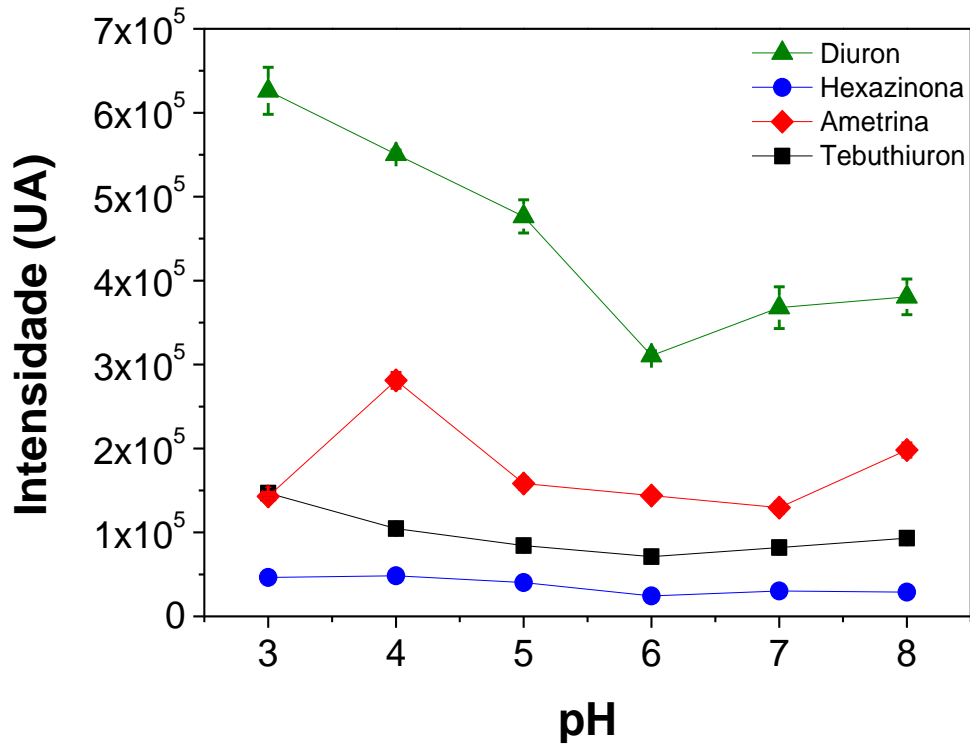
Apesar de serem da mesma classe das ureias, os herbicidas diuron e tebuthiuron têm comportamentos diferentes. O pesticida diuron contém moderada adsorção ao solo, alta persistência e baixa volatilidade. É também ligeiramente solúvel em água e apresenta maior valor  $K_{ow}$  indicando maior caráter hidrofóbico do que hidrofílica, embora a molécula possivelmente apresenta ligações de hidrogênio com água [128-132]. Tais características são responsáveis por manter sua presença no ambiente [132] e permitem interações com o solvente supramolecular. Sob uma vasta gama de pH, o diuron apresenta-se apenas em forma molecular, devido aos seus valores de  $pK_a$  estarem quase fora do intervalo de pH ( $pK_{a1} = 13,55$ ,  $pK_{a2} = -1,09$  e  $pK_{a3} = -2,08$ ) [133, 134].

O tebuthiuron difere da maioria dos outros herbicidas de ureia substituídos por ter um grupo tiadiazol substituído no lugar do grupo fenila. Além disso, o tebuthiuron contém elevada persistência, baixa volatilidade, baixa adsorção no solo e é mais solúvel em água do que os herbicidas de ureia substituídos, apresentando baixo valor de  $K_{ow}$  [128-131, 135]. Portanto, devido à sua elevada característica hidrofílica,

a interação do tebuthiuron com o solvente supramolecular pode ser menos eficaz. Além disso, ao ser considerado um ácido forte ( $pK_a = 1,2$ ), acima do pH 2,0 este composto existe principalmente na sua forma molecular [136].

#### 4.1.2. Otimização

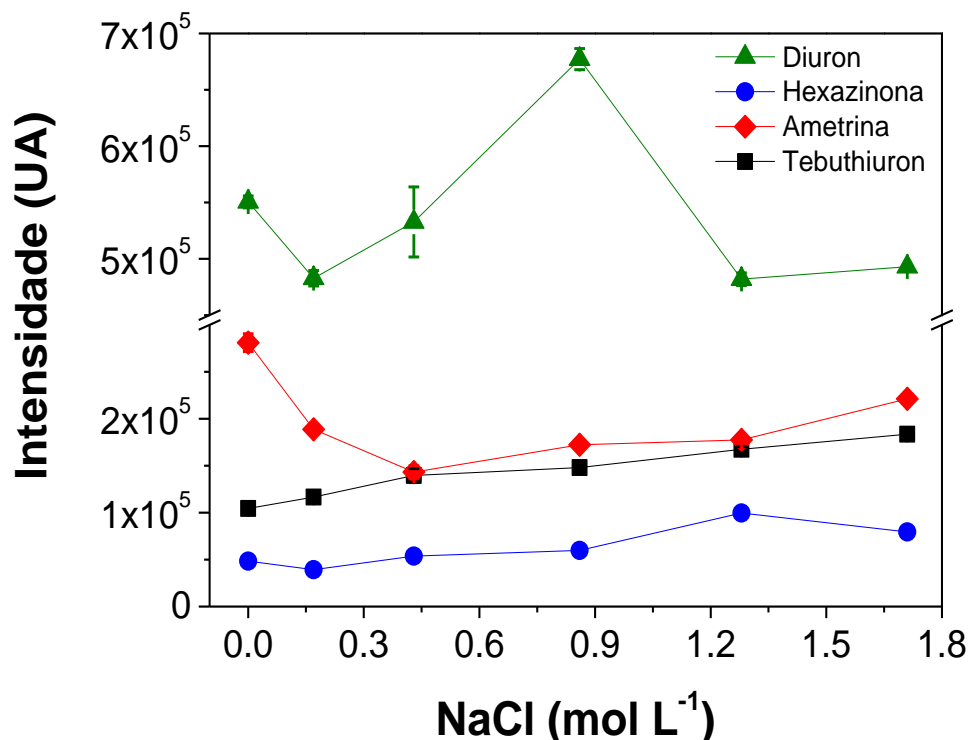
O pH da solução é um fator importante na SUPRAS para a formação do solvente supramolecular e para a extração de analitos com caráter ácido-base [137, 138]. Conforme mostrado na Figura 5, a diminuição do pH aumenta a eficiência de extração, exceto para ametrina que em pH 3,0 apresentou menor porcentagem de extração, provavelmente devido à sua forma protonada. As formas iônicas moleculares criadas pela protonação do ácido fraco interagem fracamente com o agregado micelar do que sua forma neutra, resultando numa menor quantidade extraída [138]. Para os demais herbicidas e para a ametrina até pH 4,00, houve aumento contínuo do sinal analítico na região ácida. Portanto, este valor de pH foi selecionado para os experimentos subsequentes por exibir uma elevada eficiência de extração para os herbicidas.



**Figura 5** – Efeito do pH na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; quantidade de 1-decanol, 150  $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 600  $\mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min. ( $n = 2$ )

Na maioria das técnicas de pré-tratamento de amostras, a adição de sal frequentemente aumenta o desempenho de extração devido ao efeito da força iônica [139, 140]. Para os herbicidas, o efeito diminui a solubilidade, tornando-os mais disponíveis para interagir com o solvente supramolecular [141]. O efeito da força iônica (neste caso, “*salting out*”) no método foi investigado sobre uma gama de concentrações entre 0,17-1,71 mol  $\text{L}^{-1}$  NaCl (1,0-10,0%, m/v), e os resultados experimentais estão demonstrados na Figura 6. Verificou-se que a utilização de 0,86 mol  $\text{L}^{-1}$  NaCl fornece um ganho em sinal analítico para o tebuthiuron, hexazinona e diuron. No entanto, para a ametrina, a adição de sal provoca uma diminuição na eficiência de extração devido à interação entre a molécula protonada com os ânions adicionados em solução. Uma ligeira diminuição é evidenciada ao diuron e hexazinona quando apenas 0,17 mol  $\text{L}^{-1}$  NaCl foi adicionado ao meio. Em geral,

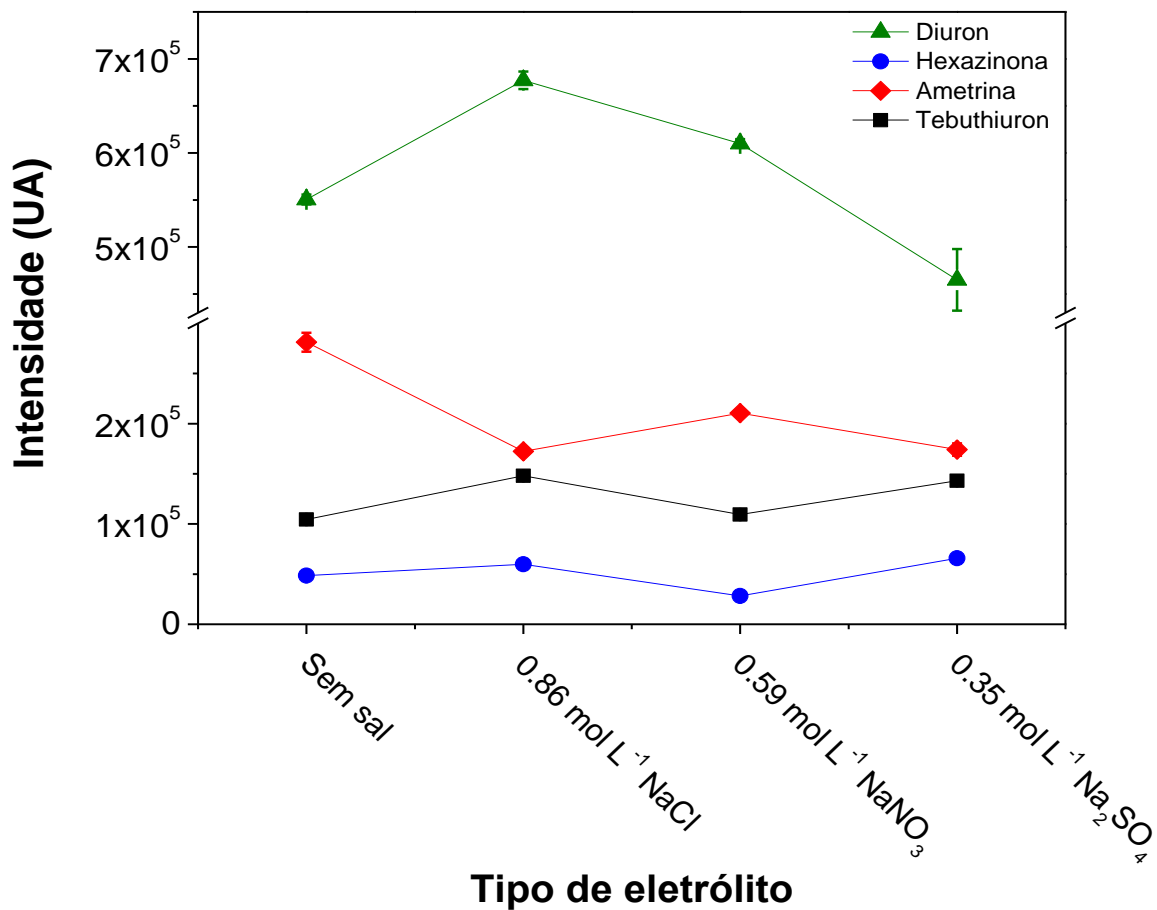
concentrações baixas de sal podem promover a dissolução de analitos em solução aquosa e o “*salting out*” ocorre quando a quantidade de sal ultrapassa um determinado limite [142]. Em relação ao tebuthiuron observou-se um aumento ligeiramente gradual no sinal analítico com a adição de sal. Para o diuron, após o elevado aumento em intensidade de área de pico com  $0,86 \text{ mol L}^{-1}$  NaCl evidenciou-se um declínio em maiores concentrações. Este comportamento pode ser atribuído devido ao fato de que concentrações salinas mais elevadas podem diminuir a cinética de difusão dos analitos na fase orgânica [109]. Desta forma,  $0,86 \text{ mol L}^{-1}$  de NaCl foi escolhido como concentração ótima.



**Figura 6** – Efeito da concentração de NaCl na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas,  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; quantidade de 1-decanol,  $150 \mu\text{L}$ ; quantidade de THF,  $600 \mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min. ( $n = 2$ )

A adição de eletrólitos é importante para induzir o efeito “*salting out*”, no entanto íons específicos também podem exercer influência neste efeito, e

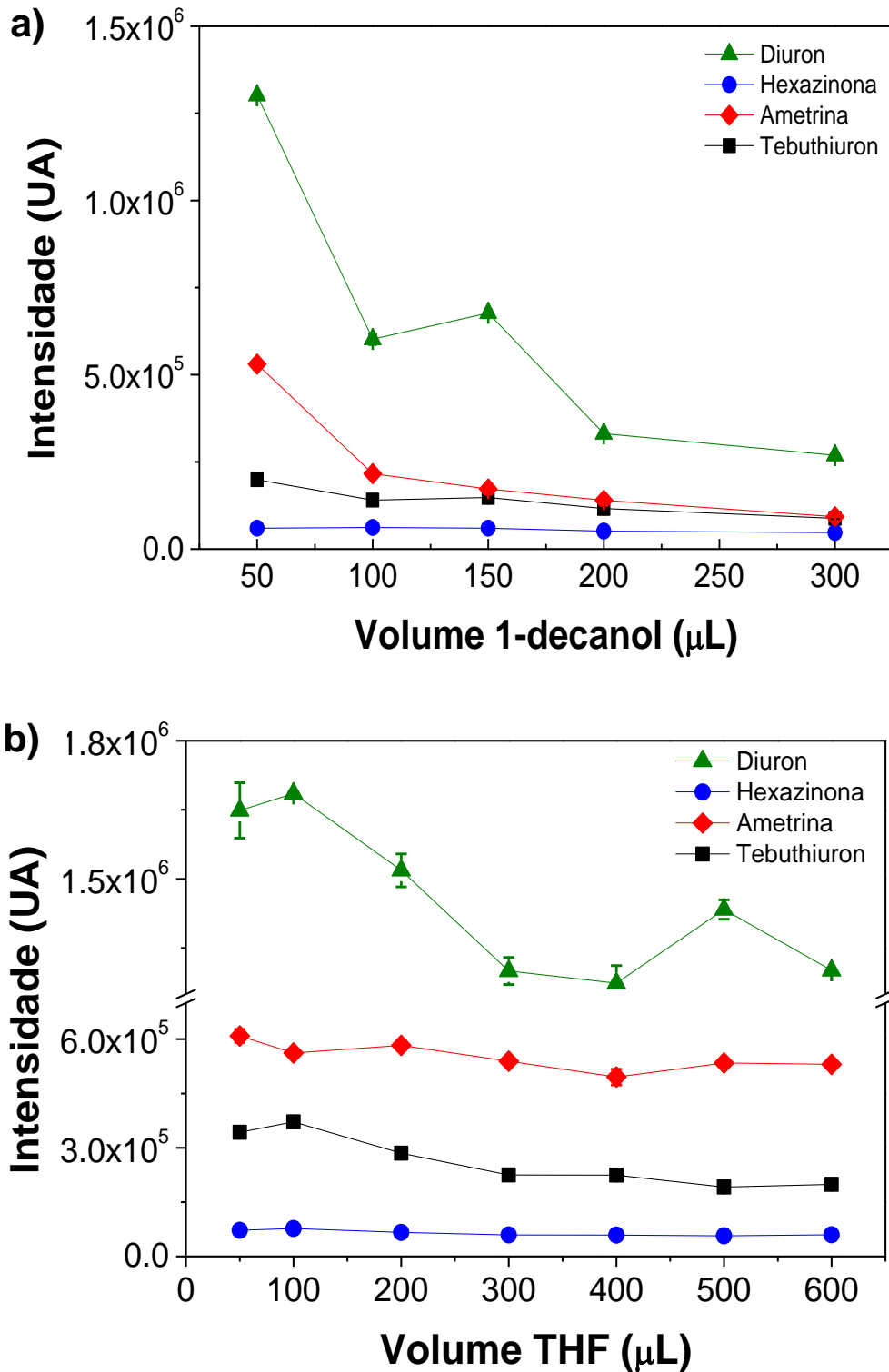
consequentemente sobre a eficiência de extração dos analitos, pela alteração da força iônica do meio [143]. Assim, se investigou diferentes sais de sódio (NaCl, NaNO<sub>3</sub> e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) em concentração de 5,0% (m/v) na extração de herbicidas, Figura 7. Para ametrina todas as adições de sais prejudicam a extração devido à presença da ametrina protonada. Infelizmente, diferentes concentrações dos sais foram preparadas nas soluções, inviabilizando a comparação da influência de diferentes forças iônicas sobre a grandeza do efeito “salting out”.



**Figura 7** – Efeito do tipo de sal na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 µg L<sup>-1</sup>; pH 4,00; concentração de sal, 5% (m/v); quantidade de 1-decanol, 150 µL; quantidade de THF, 600 µL; Tempo de agitação, 2 min. (n = 2)

Apesar da não adição de sal apresentar valores consideráveis de intensidade cromatográfica, a adição é importante para evitar a formação de microemulsões que podem ocasionar maiores desvios padrões. Microemulsões envolvem um processo um pouco mais complexo de micelização dos anfífilos, sendo termodinamicamente estáveis e reversíveis. A diferença em relação ao processo de formação micelar é que neste sistema existe uma quantidade significativa de água dentro da microemulsão. Essa situação é geralmente conhecida como a formação de gotas de água de tamanhos nanométricos em micelas invertidas ou como micelas normais inchadas [103]. Mesmo com ligeira diminuição da ametrina e pelos problemas relacionados a concentrações dos sais, a condição de  $0,86 \text{ mol L}^{-1}$  de NaCl foi mantida para experimentos subsequentes.

A composição e o volume do solvente supramolecular desempenham um papel importante que afeta muito a sua capacidade de extração [61]. O solvente supramolecular utilizado foi baseado em micelas reversas de 1-decanol dispersas numa fase contínua de THF:H<sub>2</sub>O. Portanto, o volume de 1-decanol foi estudado na faixa de 50-300  $\mu\text{L}$ . Observa-se na Figura 8a a elevada melhoria dos valores do sinal analítico para diuron e ametrina com o menor volume de 1-decanol. Tebuthiuron, na mesma condição, teve um ligeiro aumento e hexazinona permaneceu praticamente com o mesmo valor. Sabe-se que a eficiência da extração é maior quando o volume do solvente de extração é também elevado. No entanto, como efeito colateral, um volume grande provoca uma maior diluição dos analitos na fase supramolecular, diminuindo os valores da área cromatográfica. Deste modo, 50  $\mu\text{L}$  de 1-decanol foi escolhido como sendo o volume ótimo de solvente de extração para a microextração dos herbicidas analisados.

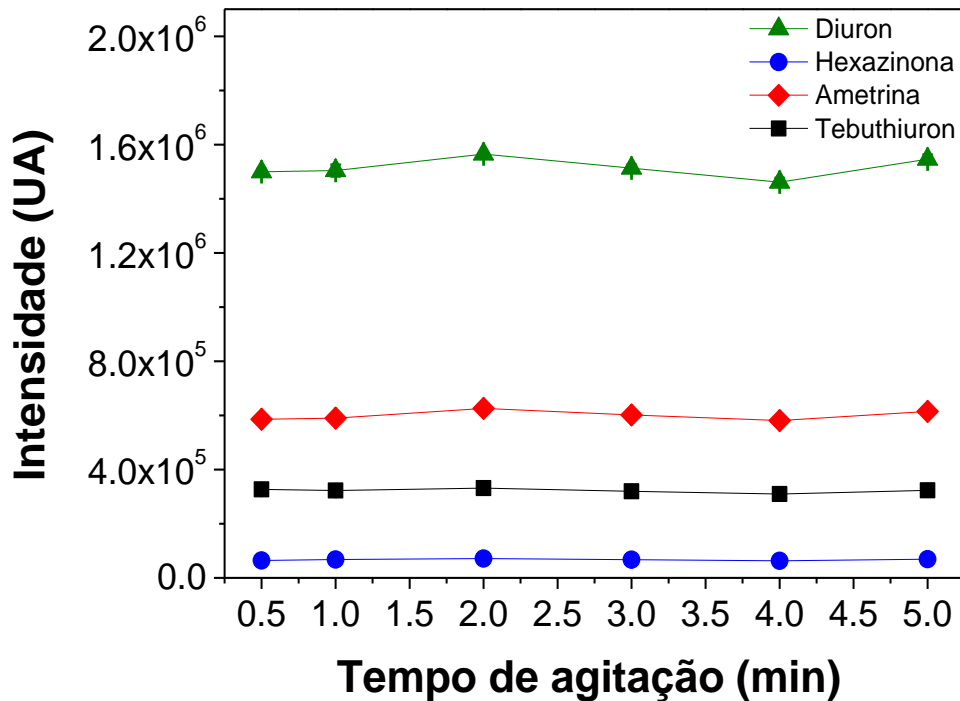


**Figura 8** – Efeito de a) volume 1-decanol (com 600 µL de THF) e b) volume de THF (com 50 µL de 1-decanol) na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 µg L<sup>-1</sup>; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/ v). (n = 2)

Para avaliar o efeito do volume de THF uma série de microextrações com diferentes volumes de THF (na faixa de 50-600 µL) foi realizada, fixando a

quantidade de 1-decanol em 50  $\mu\text{L}$ . Conforme Figura 8b, observou-se apenas ligeiras alterações no sinal analítico para hexazinona e ametrina. No entanto, para tebuthiuron e diuron com 100  $\mu\text{L}$  de THF mostrou melhor ganho analítico. Por conseguinte, 100  $\mu\text{L}$  de THF foi escolhido como condição otimizada, dando origem a uma razão de 0,5 de 1-decanol/THF.

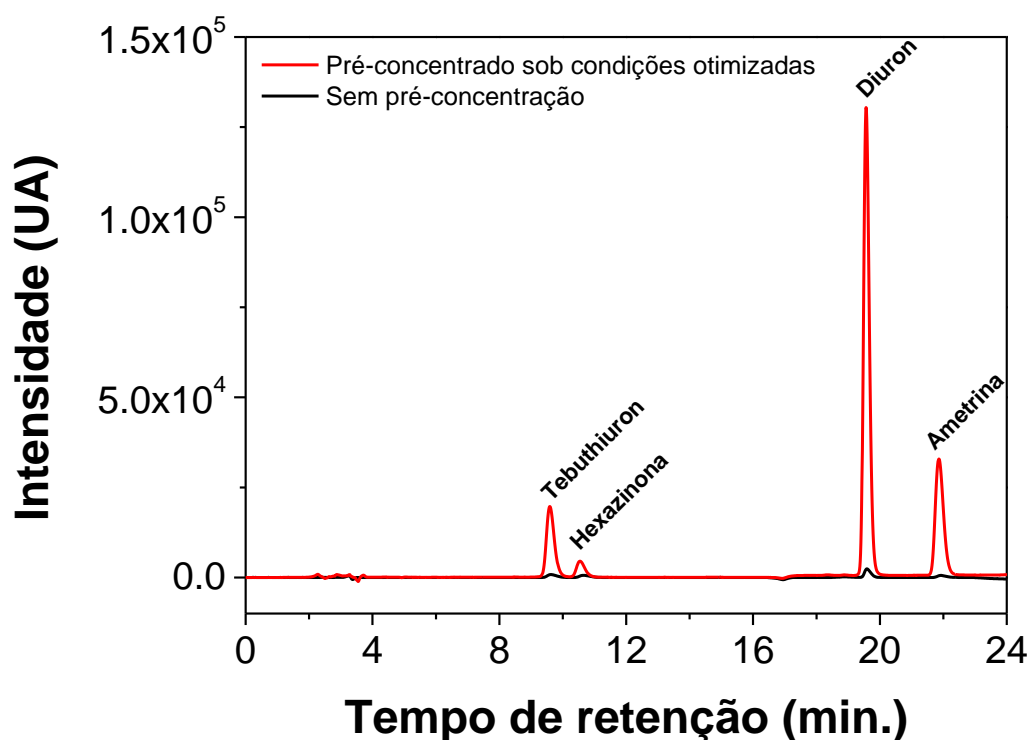
A microextração assistida por agitação em vórtice acelera a formação espontânea do solvente supramolecular na solução. Depois de otimizada a razão 1-decanol/THF, a influência da extração do tempo por agitador de vórtice variou de 0,5-5,0 min. Conforme evidenciado na Figura 9, os resultados sugerem que não há variação significativa nos valores do sinal analítico, sendo assim adotado o tempo mínimo de agitação (0,5 minutos). Exemplos dos cromatogramas obtidos em cada variação de parâmetro estão contidos no Anexo B.



**Figura 9** – Efeito da agitação por vórtice na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/v); quantidade de 1-decanol, 50  $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 100  $\mu\text{L}$ . (n = 2)

#### 4.2. PARÂMETROS ANALÍTICOS

A Figura 10 ilustra os cromatogramas obtidos para os herbicidas antes e após a pré-concentração otimizada, demonstrando claramente a detectabilidade altamente melhorada do HPLC-DAD para determinação simultânea de diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron utilizando a microextração supramolecular à base de solvente. As PE do diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron em condições otimizadas foram de 80%, 9%, 80% e 32%, respectivamente. Menores valores derivam da influência das moléculas de água sob pesticidas mais solúveis.



**Figura 10** – Cromatogramas obtidos com  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de herbicidas nas condições otimizadas e solução inicial a pH 4,00.

As curvas analíticas obtidas para os herbicidas foram estatisticamente avaliadas por análise de variância (ANOVA), Tabela 2. A um nível de confiança de 95% para todos os herbicidas, a razão entre a média quadrática do modelo e do resíduo (F-valores) foram maiores que o valor tabelado ( $F_{1,7} = 5,59$  e  $F_{1,8} = 5,31$ , em 95% de

confiança), indicando adequado ajuste do modelo aos dados experimentais. Além disso, os valores dos coeficientes de correlação ajustados ( $R_{adj.}$ ) foram iguais a 0,99. A pequena significância dos F-valores (p-valores) obtidos também foram satisfatórios. Estes valores indicam a impossibilidade do resultado ocorrer por acaso, indicando a forte relação entre os valores de intensidade e concentração dos herbicidas.

**Tabela 2** – Parâmetros das curvas analíticas e ANOVA unidirecional para cada herbicida. (n = 3)

Herbicidas	Equação da curva analítica				ANOVA unidirecional						
	Intercepto (UA)	Erro	Coef. angular (AU $\mu\text{g}^{-1}$ L)	Erro	GL	Soma dos quadrados	Média quadrática	F-valor	p-valor	$R_{adj.}$	
Diuron	3038	44	6846	65	Modelo	1	11013,31	11013,31	1790,78	$0,10 \cdot 10^{-9}$	0,99
					Resíduo	8	49,17	6,15			
					Total	9	11062,48				
Hexazinona	55	62	350	5	Modelo	1	4687,96	4687,96	494,51	$0,94 \cdot 10^{-7}$	0,99
					Resíduo	7	66,37	9,48			
					Total	8	4754,33				
Ametrina	532	154	2737	18	Modelo	1	23544,38	23544,38	1686,56	$0,14 \cdot 10^{-9}$	0,99
					Resíduo	8	111,7	13,96			
					Total	9	23656,08				
Tebuthiuron	728	80	1542	11	Modelo	1	20326,11	20326,11	1511,23	$0,21 \cdot 10^{-9}$	0,99
					Resíduo	8	107,56	13,45			
					Total	9	20433,67				

GL: graus de liberdade; p-valor: significância dos F-valor;  $R_{adj.}$ : coeficiente de correlação ajustado.

Os resultados de linearidade, FP, LOD e LOQ foram determinados e estão apresentados na Tabela 3. Os valores de FP mostraram um potencial substancial de pré-concentração mesmo para herbicidas muito solúveis, tais como a hexazinona. Estes valores corroboram com os valores obtidos com a PE: menores porcentagens extraídas de herbicidas geram menores FP. Os baixos valores de LOD e LOQ obtidos também indicam um ganho de detectabilidade.

Os intervalos de linearidade foram obtidos após a submissão ao SUPRAS de amostras contendo os herbicidas em concentrações apontadas pelos cálculos de LOQ. As intensidades de área de pico obtidas foram então inseridas no conjunto de dados e novas curvas analíticas para cada herbicida foram calculadas. As novas curvas analíticas para microextração por SUPRAS, obtidas adicionando os LOQs foram: Intensidade (UA) =  $6836,51 \pm 147,06$  [diuron] UA  $\mu\text{g}^{-1}$  L +  $3095,36 \pm 226,97$ , Intensidade (UA) =  $349,89 \pm 14,05$  [hexazinona] UA  $\mu\text{g}^{-1}$  L +  $50,29 \pm 77,89$ , Intensidade (UA) =  $2736,78 \pm 59,43$  [ametrina] UA  $\mu\text{g}^{-1}$  L +  $540,68 \pm 395,14$ , Intensidade (UA) =  $1541,63 \pm 37,14$  [tebuthiuron] UA  $\mu\text{g}^{-1}$  L +  $742,99 \pm 143,74$ , com  $R_{\text{adj.}} = 0.99$  para todas. As variações entre os novos e antigos (Tabela 2) coeficientes angulares foram menores que 0,2%, demonstrando que a relação linear entre a intensidade cromatográfica (AU) e a concentração dos analitos se estende até aos valores de LOQs.

**Tabela 3** – Fatores de pré-concentração, linearidades, limites de detecção e quantificação do método de análise de herbicidas submetidos a SUPRAS.

Parâmetros	Herbicidas			
	Diuron	Hexazinona	Ametrina	Tebuthiuron
Linearidade ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,43 – 400,0	4,85 – 400,0	0,86 – 400,0	0,79 – 400,0
LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,13	1,45	0,26	0,24
LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,43	4,85	0,86	0,79
FP	48,5	15,1	47,4	21,0

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; FP: fator de pré-concentração.

Precisão inter/intradia, exatidão e intervalos de confiança foram calculados, como demonstrado na Tabela 4. Os resultados apresentaram DPR e ER menores que

7,00%, mostrando uma variação muito baixa entre as medidas e boa concordância com a concentração nominal. Os intervalos de confiança mostraram que os valores obtidos estão apresentados dentro dos limites de confiança em um nível de confiança de 95%

**Tabela 4** – Precisão, exatidão e intervalos de confiança do método para análise de herbicidas.

Parâmetros	Herbicidas							
	Diuron		Hexazinona		Ametrina		Tebuthiuron	
Concentração nominal ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	5,0	400,0	5,0	400,0	5,0	400,0	5,0	400,0
Intradia ( $n^a = 10$ )								
Concentração analisada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4,9	397,8	5,2	385,9	4,9	404,0	5,2	392,8
Precisão (DPR, %) <sup>b</sup>	5,4	4,5	4,6	5,2	5,5	3,3	4,5	2,6
Exatidão (ER, %) <sup>c</sup>	2,8	0,6	3,0	3,5	1,4	1,0	3,8	1,8
Intervalo de confiança ( $t_{\theta}$ , 95%)	0,2	12,8	0,2	14,2	0,2	9,7	0,2	7,4
Interdia ( $n^d = 3$ )								
Concentração analisada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4,9	387,2	5,3	378,6	5,1	391,8	5,3	376,7
Precisão (DPR, %)	6,2	2,4	5,7	4,9	6,8	2,8	6,8	3,6
Exatidão (ER, %)	2,0	3,2	5,6	5,4	1,2	2,1	6,2	5,8
Intervalo de confiança ( $t_{\xi}$ , 95%)	0,8	22,9	0,8	46,5	0,9	27,2	0,9	33,8

<sup>a</sup> n: número de determinações;

<sup>b</sup> DPR (%): precisão expressa como porcentagem de DPR;

<sup>c</sup> ER (%): exatidão expressa como porcentagem do erro relativo;

<sup>d</sup> n: número de dias.

A comparação do método proposto com outros métodos analíticos previamente relatados na literatura para a determinação de diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron por HPLC-DAD está apresentada na Tabela 5. A maioria dos métodos comparados envolve valores elevados de volume de amostra, volume de solvente e tempo de extração, enquanto alguns deles exibem altos valores de LOQ e LOD. O método proposto apresenta baixos valores de volume de amostra, volume de solvente e tempo de extração, enquanto apresenta bons valores de linearidade, LOQ e LOD que auxilia na quantificação desses herbicidas em pequenas concentrações.

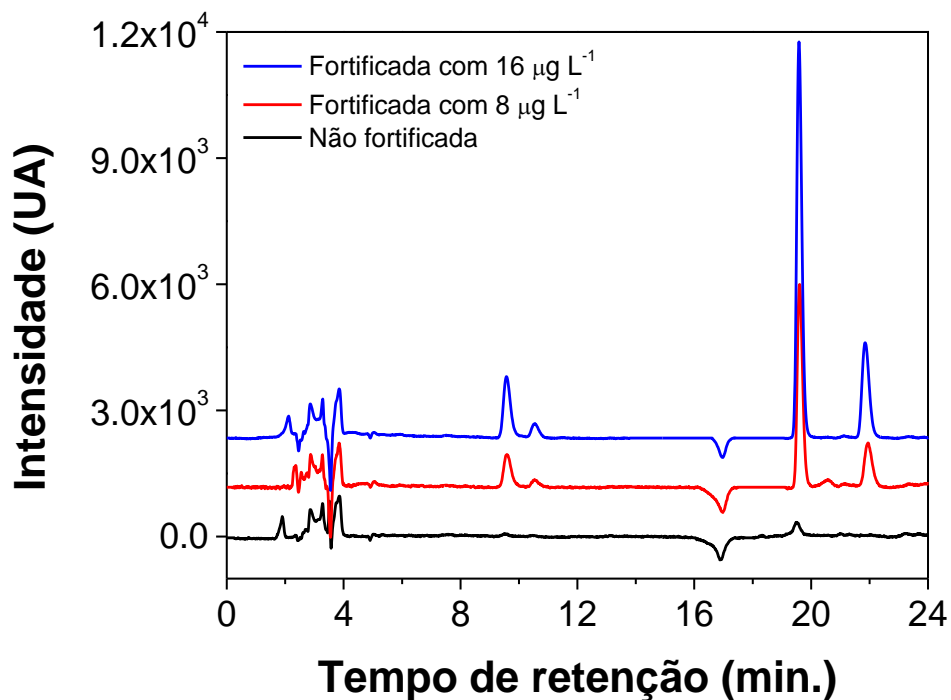
**Tabela 5** – Comparação dos métodos da literatura e do presente método para a determinação de diuron, hexazinona, ametrina e tebuthiuron com detecção por HPLC-DAD.

Analitos	Método de pré-concentração	Volume amostral (mL)	Volume solvente (mL)	Tempo de extração (min.)	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Tipo de matrizes	Referência
Ametrina	SBSE (espumas de poliuretano)	25,0	5,0	20,0	0,9 - 16,4	0,2	0,5	Água	[144]
Diuron	SPE (discos comerciais de C <sub>18</sub> )	500,0	34,0	25,0 - 50,0	0,2 - 17,8 0,2 - 32,0	-	0,2	Água	[145]
Diuron Tebuthiuron	SPME (fibra revestida com poliacrilato)	5,0	-	65,0	10,0 - 100,0 50,0 - 500,0	30,0 160,0	10,0 50,0	Água	[146]
Diuron	SPE (cartuchos SDVB)	500,0	11,0	100,0	0,2 - 10,0	0,42	0,07	Água	[147]
Ametrina Diuron	SPE (cartuchos comerciais de C <sub>18</sub> )	50,0	21,0	-	30,0 - 250,0 50,0 - 500,0	70,0 30,0	20,0 10,0	Água	[40]
Diuron Tebuthiuron	DLLME	5,0	≈ 2,15	4,08	0,2 - 200,0 1,0 - 200,0	- -	0,07 0,2	Água	[148]
Hexazinona	SPE (cartuchos comerciais de C <sub>18</sub> )	100,0	26,5	15,0	300,0 - 5000,0	150,0	50,0	Vegetal	[149]
Diuron	IL-DLLME	10,0	0,16	45,0	5,0 - 200,0	-	0,66	Água	[140]
Diuron Hexazinona Ametrina Tebuthiuron	Nenhuma	-	-	-	100,0 - 1000,0 100,0 - 1000,0 100,0 - 1000,0 100,0 - 1000,0	65,0 50,0 100,0 35,0	20,0 15,0 30,0 10,0	Água	[150]
Hexazinona Tebuthiuron	LLE	250,0	150,0	-	- 300,0	0,07 0,09	0,02 0,03	Água	[151]
Diuron Hexazinona Ametrina Tebuthiuron	SUPRASs	10,0	0,15	10,5	0,43 - 400,0 4,85 - 400,0 0,86 - 400,0 0,79 - 400,0	0,43 1,45 0,86 0,79	0,13 4,85 0,26 0,24	Água	Este trabalho

LOQ: limite de quantificação; LOD: limite de detecção; SBSE: extração sortiva em barra de agitação; SPE: extração em fase sólida; SPME: microextração em fase sólida; SDVB: copolímero de estireno-divinilbenzeno; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; IL-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico; LLE: extração líquido-líquido; SUPRASs: microextração por solvente supramolecular.

#### 4.3. ANÁLISES DE ÁGUAS NATURAIS

Para determinar a viabilidade do método proposto na detecção e quantificação de herbicidas em água natural, foram analisadas e listadas amostras não-fortificadas e fortificadas de três riachos (localizados nas cidades de Assis, Arapongas e Tarumã) e um poço (localizado na cidade de Assis). Na Figura 11, como exemplo, estão reunidos os cromatogramas obtidos de amostras fortificadas e não fortificadas do riacho de Arapongas.



**Figura 11** – Cromatogramas das amostras fortificadas e não fortificadas do riacho de Arapongas, submetidas a pré-concentração.

Na Tabela 6 estão contidos os resultados encontrados. Tebuthiuron e ametrina foram detectados e quantificados no poço de Assis com concentrações de  $0,81 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $1,56 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. No riacho de Arapongas, o diuron foi detectado e quantificado em  $0,49 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os herbicidas não foram detectados nos riachos de Assis e Tarumã. As recuperações obtidas a partir de

amostras fortificadas com herbicidas em duas concentrações (8,0 e 16,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) também estão listadas na Tabela 6. Foram obtidos valores de recuperação variando de 94,57 a 110,62%, indicando a ausência de efeito de matriz e a viabilidade do método para a determinação simultânea sem interferência de herbicidas em baixas concentrações.

**Tabela 6** – Resultados da aplicação do método em amostras ambientais de águas e dos testes de adição e recuperação. (n=3)

Local	Concentração adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				Concentração encontrada $\pm$ s ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				Recuperação $\pm$ s (%)			
	Diuron	Hexazinona	Ametrina	Tebuthiuron	Diuron	Hexazinona	Ametrina	Tebuthiuron	Diuron	Hexazinona	Ametrina	Tebuthiuron
<i>Poço artesiano</i>												
	0,0	0,0	0,0	0,0	ND	ND	1,6 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,0				
Assis	8,0	8,0	8,0	8,0	7,7 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 0,2	9,5 $\pm$ 0,0	8,7 $\pm$ 0,1	97 $\pm$ 1	105 $\pm$ 2	99 $\pm$ 1	99 $\pm$ 1
	16,0	16,0	16,0	16,0	16,1 $\pm$ 0,1	15,4 $\pm$ 0,3	16,7 $\pm$ 0,1	15,8 $\pm$ 0,0	100 $\pm$ 1	96 $\pm$ 2	95 $\pm$ 1	94 $\pm$ 0
<i>Água superficial</i>												
	0,0	0,0	0,0	0,0	ND	ND	ND	ND				
Assis	8,0	8,0	8,0	8,0	7,6 $\pm$ 0,3	8,1 $\pm$ 0,3	8,9 $\pm$ 0,1	8,4 $\pm$ 0,2	95 $\pm$ 3	101 $\pm$ 3	111 $\pm$ 1	105 $\pm$ 2
	16,0	16,0	16,0	16,0	15,9 $\pm$ 0,4	16,0 $\pm$ 0,2	16,3 $\pm$ 0,2	15,8 $\pm$ 0,7	99 $\pm$ 2	100 $\pm$ 1	101 $\pm$ 1	99 $\pm$ 4
	0,0	0,0	0,0	0,0	ND	ND	ND	ND				
Tarumã	8,0	8,0	8,0	8,0	7,9 $\pm$ 0,1	8,3 $\pm$ 0,3	8,6 $\pm$ 0,1	7,7 $\pm$ 0,0	99 $\pm$ 1	104 $\pm$ 4	107 $\pm$ 1	96 $\pm$ 0
	16,0	16,0	16,0	16,0	16,2 $\pm$ 0,1	16,4 $\pm$ 0,4	16,5 $\pm$ 0,2	15,8 $\pm$ 0,2	101 $\pm$ 1	102 $\pm$ 3	103 $\pm$ 1	99 $\pm$ 2
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5 $\pm$ 0,0	ND	ND	ND				
Arapongas	8,0	8,0	8,0	8,0	8,8 $\pm$ 0,5	8,2 $\pm$ 0,2	7,9 $\pm$ 0,3	8,5 $\pm$ 0,1	104 $\pm$ 5	103 $\pm$ 2	99 $\pm$ 3	107 $\pm$ 1
	16,0	16,0	16,0	16,0	16,7 $\pm$ 0,3	16,4 $\pm$ 0,5	15,8 $\pm$ 0,6	16,1 $\pm$ 0,7	101 $\pm$ 2	102 $\pm$ 3	99 $\pm$ 4	101 $\pm$ 5

s: desvio padrão; ND: não detectado.

## 5. CONCLUSÃO

O método de extração baseado em solvente supramolecular com formação de micelas reversas de 1-decanol disperso em THF/água provou ser um bom extrator de herbicidas comuns de cana-de-açúcar em águas naturais utilizando HPLC-DAD. Por meio dos parâmetros de validação, o método mostrou ser eficiente e confiável para a determinação dos herbicidas analisados em amostras de águas subterrâneas e superficiais. A aplicação do método proposto é bastante simples, rápida, de baixo custo e ambientalmente amigável por não exigir grandes quantidades de solvente orgânico. Também permite a análise direta uma vez que o solvente de extração não necessita ser evaporado e nem ser retomado na fase móvel. A presença de alguns herbicidas analisados em águas naturais mostrou claramente a importância de investigar as concentrações de herbicidas em regiões de predominância do cultivo da cana-de-açúcar.

# **CAPÍTULO II**

## **Microextração simultânea de carbendazim, fipronil e picoxistrobina por solvente supramolecular**

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de qualidade analítica ou HPLC e todas as soluções de trabalho foram preparadas em água ultrapura (18,2 M $\Omega$  cm) a partir de um sistema de purificação ELGA<sup>®</sup> PURELAB Maxima (High Wycombe, Bucks, UK). A acetonitrila (ACN,  $\geq$  99,9%), THF ( $\geq$  99,9%) e 1-decanol ( $\geq$  98,0%) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (St. Louis, MO, EUA) enquanto o metanol (99,9%) da Panreac<sup>®</sup> (Barcelona, Espanha), todos de grau HPLC. Os padrões de carbendazim, fipronil e picoxistrobina foram adquiridos da Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (St. Louis, MO, EUA). As soluções individuais de herbicidas contendo 100 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas em metanol e armazenadas em frascos de vidro âmbar no refrigerador. Nessas condições, eles permaneceram estáveis por pelo menos 3 meses. As soluções de trabalho contendo os pesticidas foram preparadas diariamente a partir das soluções estoques por diluição com água ultrapura. O ácido húmico (AH) de grau técnico também foi adquirido da Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (St. Louis, MO, EUA) e, uma solução estoque de 500 mg L<sup>-1</sup> foi preparada em hidróxido de potássio (KOH) 0,1 mol L<sup>-1</sup>. O NaCl de grau analítico foi fornecido por Química Moderna<sup>®</sup> (Barueri, SP, Brasil).

#### 3.2. APARATOS

Os valores de pH das soluções foram medidos com um pHmetro digital de laboratório Metrohm<sup>®</sup> pH 827 (Herisau, Suíça) e um eletrodo de vidro combinado Metrohm<sup>®</sup> Primatrode com sensor de temperatura integrado (Herisau, Suíça). Foi utilizado um oscilador de vórtice SCIOLOGEX<sup>®</sup> MX-S (Rocky Hill, CT, EUA) para auxiliar o procedimento de microextração supramolecular à base de solvente e uma centrífuga QUIMIS<sup>®</sup> 0222T2 (Diadema, SP, Brasil) para o processo de separação de

fases. As análises foram realizadas num cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu® Prominence LC-20AD / T LPGE KIT (Tóquio, Japão) com volumes de injeção de 20 µL. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna Kinetex® core-shell C<sub>18</sub> (250 mm x 4,6 mm e tamanho de partícula 5 µm) da Phenomenex® (Torrance, Califórnia, EUA), vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> de um gradiente linear binário de acetonitrila e água (ACN: H<sub>2</sub>O, v/v), tempo de corrida de 20 minutos e monitoramento em 286 nm para carbendazim, 279 para fipronil e 246 nm picoxistrobina. O gradiente consistiu em: ACN: H<sub>2</sub>O (27:73, v/v), 0,00 - 6,00 min; ACN: H<sub>2</sub>O (61: 39, v / v), 6,00 - 6,01 min; ACN: H<sub>2</sub>O (61: 39, v / v), 6,01-20,00 min. Para estabilizar a coluna para análise subsequente, o gradiente inicial foi percolado por seis minutos. Os tempos de retenção dos pesticidas foram 7,9, 17,3 e 17,8 minutos para carbendazim, fipronil e picoxistrobina, respectivamente.

### 3.3. PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO

Em tubos de ensaio contendo 10,0 mL de solução dos pesticidas em concentração de 200 µg L<sup>-1</sup> e aproximadamente 1,50 mol L<sup>-1</sup> NaCl (≈ 8,75%, m/v) foram adicionados 50 µL de 1-decanol e 500 µL de THF. Em seguida, a mistura foi agitada por um oscilador de vórtice durante 0,5 min (suficiente para formar espontaneamente o solvente supramolecular na solução) e submetida a centrifugação a 2000 rpm durante 5 minutos para completar a separação do solvente supramolecular. Com uma seringa cromatográfica Hamilton® de 50 µL modelo 1705N (Reno, NV, EUA) o solvente contendo os analitos foi retirado, transferido para microtubos e guardados no refrigerador. Anteriormente a análise por HPLC-DAD, as amostras foram diluídas em metanol (1: 1 v/v) para homogeneização.

### 3.4. OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO

A microextração e pré-concentração dos pesticidas utilizando SUPRAS foi otimizada por meio de um planejamento fatorial fracionário  $2^{6-1}$  com ponto central considerando como variáveis o pH, o volume adicionado de 1-decanol, o volume adicionado de THF, a concentração de NaCl na solução, o tempo de centrifugação e o tempo de agitação em vórtice. Os níveis inferiores, centrais e superiores estão descritos na Tabela 7. A sequência de experimentos foi realizada aleatoriamente e em triplicata. Após a aplicação do planejamento fatorial fracionário  $2^{6-1}$  nas respostas obtidas, a função desejabilidade de Derringer-Suich foi utilizada para obter a melhor condição de microextração para todos os pesticidas.

**Tabela 7** - Valores das variáveis e níveis codificados do planejamento fatorial  $2^{6-1}$ .

Variáveis	Níveis		
	(-)	0	(+)
pH	3,00	5,00	7,00
1-decanol ( $\mu\text{L}$ )	50,0	125,0	200,0
THF ( $\mu\text{L}$ )	100,0	300,0	500,0
NaCl ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,86	2,14	3,42
Centrifuga (min)	5,00	12,50	20,00
Vórtice (min)	0,50	0,75	1,00

### 3.5. DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS DO MÉTODO

Sob condições otimizadas e um volume amostral de 10,0 mL, o desempenho analítico do método foi avaliado por curvas analíticas, fatores de pré-concentração (FP), porcentagens de extração (PE), limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD), linearidade, precisão inter-intradia, exatidão e intervalos de confiança. Todas as figuras de mérito foram determinadas de acordo com regulamentos nacionais, internacionais e/ou conforme literatura [123-127]. As curvas analíticas obtidas pelo método de microextração por SUPRAS foram construídas no intervalo 25-1000  $\mu\text{g L}^{-1}$

<sup>1</sup> para o carbendazim e 25-400  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o fipronil e picoxistrobina, em triplicata, e avaliados por ANOVA. As porcentagens de extração (PE) dos analitos, sob condições otimizadas, foram calculadas pela diferença entre os valores de uma solução inicial e o sobrenadante (após pré-concentração) dividido pelo valor da solução inicial, em triplicata. Os valores de FP foram calculados pela razão das inclinações das regressões lineares com e sem a pré-concentração por SUPRASs [123]. Para efetuar o cálculo do FP, curvas analíticas dos pesticidas sem pré-concentração por SUPRAS na faixa de 50 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  foram realizadas, em triplicata. Os valores de LOD e LOQ foram determinados usando valores de área cromatográfica de soluções de brancos analíticos. O LOD foi calculado utilizando a razão de três vezes o desvio padrão de dez brancos analíticos dividido pelas inclinações das curvas analíticas obtidas após microextração por SUPRAS e o LOQ foi calculado utilizando a razão de dez vezes o desvio padrão de dez brancos analíticos dividido pela inclinações das curvas analíticas obtidas após microextração por SUPRAS. A precisão inter/intradia, a exatidão e os intervalos de confiança foram calculados com duas soluções padrão contendo 2,0 e 900,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o carbendazim e 2,0 e 300,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para fipronil e picoxistrobina. Os desvios-padrão relativos (DPR,%) foram calculados para determinar a precisão. A exatidão foi determinada pelo cálculo da porcentagem de erro relativo (ER,%) [123-127].

### 3.6. AVALIAÇÃO DE INTERFERÊNCIA NA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS

Para investigar possíveis interferências nas concentrações de carbendazim, fipronil e picoxistrobina, soluções contendo diferentes concentrações de pesticidas e ácido húmico foram submetidas ao procedimento de microextração com solvente supramolecular sob condições otimizadas, em triplicata. Em soluções contendo 2,0,

20,0 e 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cada pesticida, foram adicionados volumes de AH para obter concentrações de 5,0  $\text{mg L}^{-1}$  ou 12,5  $\text{mg L}^{-1}$ . Além disso, para avaliar a interferência temporal do AH sobre as pré-concentrações de pesticidas, soluções contendo 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  de carbendazim, fipronil e picoxistrobina foram submetidas a um agitador orbital elétrico Novatecnica® NT155 por vários dias. O efeito de interferência foi estimado pelas porcentagens de recuperação de carbendazim, fipronil e picoxistrobina definidas como a razão entre a concentração analítica obtida e a concentração nominal.

### 3.7. COLETA, PREPARAÇÃO E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de águas naturais (águas atmosféricas, águas superficiais e águas subterrâneas) e artificiais (lagos artificiais) foram coletadas em diferentes localidades de quatro Unidades da Federação (Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais). A água da chuva foi coletada no município de Londrina, em 26 de dezembro de 2018. Granizo foi coletado no município de Bom Jesus do Sul, em 14 de julho de 2018, e descongelada. As águas de poços artesianos foram coletadas nas cidades de Londrina e Quatá. A água de córrego foi coletada em Londrina. As águas de lagos foram coletadas nas cidades de Londrina, Quatá, Apucarana e Belo Horizonte. As águas marinhas foram coletadas nas cidades de Guaratuba e do Rio de Janeiro. Todas as amostras foram coletadas em recipientes de vidro âmbar e ajustadas para pH 2,00 pela adição de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, foram filtrados através de filtros de Nylon® de 0,45  $\mu\text{m}$  (GVS Filter Technology, Morecambe, Reino Unido) para remover partículas suspensas e armazenadas no refrigerador sob proteção de luz até a análise. Antes da coleta, os frascos foram lavados com água de torneira, água destilada, acetona e hexano,

Antes da análise, foram realizadas medições de salinidade nas amostras de água do mar. A salinidade foi determinada pela evaporação da água do mar até a secura. A razão entre o resíduo e a água evaporada é a salinidade [140]. Então, alíquotas de 20,0 mL foram adicionadas em vidros cilíndricos rasos (previamente pesados) e aquecidas a 70°C em estufa SPLabor<sup>®</sup> SP-100/100 (Presidente Prudente, SP) até a secura. Posteriormente, os vidros cilíndricos rasos contendo os sais remanescentes como resíduo foram pesados e, por diferença, a massa total de sais foi obtida. Para a água do mar de Guaratuba a salinidade obtida foi de 3,46 ± 0,05% (m/v) e para a água do mar do Rio de Janeiro de 3,60 ± 0,02% (m/v). Posteriormente, para realizar a microextração por SUPRAS, adicionou-se NaCl para alcançar a concentração otimizada de sal.

### 3.8. PROGRAMAS COMPUTACIONAIS

Todos os valores da área cromatográfica foram processados utilizando o software LabSolutions<sup>®</sup> LCsolution versão 1.25 (Shimadzu<sup>®</sup>, Tóquio, Japão). Para executar o planejamento fatorial fracionário 2<sup>6-1</sup>, a função desejabilidade de Derringer-Suich e sua representação, os dados experimentais foram processados com o software Statsoft<sup>®</sup> Statistica 7,0 (Statsoft, Tulsa, EUA). As demais representações gráficas foram feitas utilizando o software Origin<sup>®</sup> Pro 8 SR0 v8.0724 (B724) (OriginLab Corporation, MA, EUA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

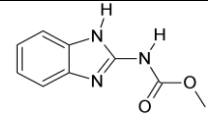
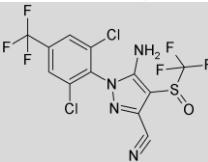
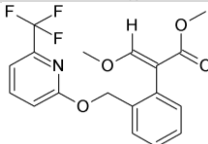
### 4.1. MICROEXTRAÇÃO SUPRAMOLECULAR DOS PESTICIDAS

#### 4.1.1. Propriedades dos Analitos e Interações com o Surfactante

Carbendazim, fipronil e picoxistrobina são pesticidas utilizados em amplo

espectro, porém, pertencem a diferentes classes e finalidades. Carbendazim e picoxistrobina são fungicidas das classes dos benzimidazóis e estrobilurinas, respectivamente, enquanto o fipronil é um inseticida da classe fenilpirazol [153-155]. Apesar das diferentes finalidades, formulações contendo misturas dos mesmos existem e são aplicadas [156-158]. Na microextração por SUPRASs, algumas propriedades dos analitos podem influenciar a eficiência de extração, conforme demonstrado na Tabela 8.

**Tabela 8** – Propriedades físicas e químicas dos pesticidas analisados.

Pesticidas	Estrutura Química <sup>a,b</sup>	K <sub>oc</sub> (mL g <sup>-1</sup> ) <sup>c,d</sup>	t <sub>1/2</sub> (dias) <sup>c,d</sup>	P (mmHg) <sup>a,b</sup>	Log K <sub>ow</sub> <sup>a,b</sup>	Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> ) <sup>a,b</sup>	pK <sub>a</sub> <sup>a,b,e</sup>
Carbendazim		223	22	1,1·10 <sup>-7</sup>	1,48	29,00 (pH 4,00) 8,00 (pH 7,00) 7,00 (pH 8,00)	4,20 9,60
Fipronil		803	140	2,8·10 <sup>-9</sup>	4,00	1,90-2,40	Não dissocia
Picoxistrobina		898	20	4,1·10 <sup>-6</sup>	3,60	3,10	Não dissocia

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

<sup>b</sup> J. Do, et al. *J. Fd Hyg. Safety*, 27, 2012.

<sup>c</sup> Andrade, A. S. et al., *Quim. Nov.*, 34, 2011.

<sup>d</sup> Silva, D. R. O. et al., *Quim. Nov.*, 34, 2011.

<sup>e</sup> Y. El Maataoui, et al., *Turk. J. Chem.*, 41, 2017.

Carbendazim ou metil-2-benzimidazolcarbamato é o ingrediente ativo amplamente utilizado da classe benzimidazol carbamatos. Contém moderada adsorção ao solo, moderada persistência, baixa volatilidade e está entre os fungicidas sistêmicos mais utilizados na agricultura para proteger e erradicar uma variedade de patógenos que afetam frutas e vegetais [159-162]. O anel benzimidazólico deste composto é de difícil quebra, fazendo que com sua degradação seja lenta e com que seja

persistente por muito tempo no meio ambiente [162]. É uma base fraca e, em solução aquosa, pode sofrer reações de protonação-desprotonação e formar espécies catiônicas ou aniônicas, dependentes fortemente do pH do meio. Quando o pH está abaixo da primeira constante de equilíbrio ( $pK_{a1} = 4,20$ ) as moléculas de carbendazim existem principalmente como cátions enquanto em um valor de pH acima da segunda constante de equilíbrio ( $pK_{a2} = 9,60$ ) a forma predominante é aniônica. Entre as duas constantes ( $pK_{a1} < \text{pH} < pK_{a2}$ ) a forma molecularmente neutra é dominante [153]. O carbendazim é moderadamente hidrofóbico ( $\log K_{ow} = 1,48$ ) e é significativamente mais solúvel quando o pH do meio é acidificado devido a protonação do núcleo benzimidazólico [163]. Devido a essas características, o carbendazim apresenta um carácter hidrofílico pronunciado e interage mais com a água, dificultando as interações com o solvente supramolecular em determinadas condições.

O pesticida fipronil, ou {5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil)fenil]-4-[(trifluorometil)sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrilo} é um inseticida da classe dos fenilpirazóis altamente eficaz comumente usado no controle de insetos em ambientes agrícolas e não agrícolas [38,164]. A molécula contém forte adsorção, alta persistência, baixa volatilidade e é pouco solúvel em água e apresenta alta característica hidrofóbica ( $\log K_{ow} = 4,00$ ), porém exhibe grupamentos capazes de realizar ligações de hidrogênio, permitindo também interações hidrofílicas. Em toda extensão do pH, o fipronil apresenta-se na forma molecular [159, 160, 163].

A picoxistrobina, ou (*E*)-3-metoxi-2-[2-(6-trifluorometil-2-piridiloximetil)fenil]acrilato de metila, pertence a uma classe relativamente nova de fungicidas sintéticos, conhecidos como estrobilurinas, inspirado por um grupo de derivados fungicidas naturais do ácido  $\beta$ -metoxi-acrílico, que foram recentemente

introduzidos na agricultura devido à sua estabilidade e eficácia contra uma ampla gama de fungos patogênicos para planta [165,166]. A molécula apresenta forte adsorção ao solo, moderada persistência, baixa volatilidade e significativa característica hidrofóbica ( $\log K_{ow} = 3,60$ ) [159, 160, 166] corroborando com sua baixa solubilidade em água, entretanto também apresenta grupamentos capazes de realizar ligações de hidrogênio. Assim como o fipronil, a picoxistrobina não apresenta dissociação na faixa de pH.

#### 4.1.2. Otimização multivariada do método SUPRAS

As melhores condições para pré-concentração por SUPRASs para os pesticidas selecionados foram determinadas utilizando um planejamento fatorial fracionário  $2^{6-1}$ , contendo ponto central, e a função desejabilidade de Derringer-Suich. A Tabela 9 apresenta o planejamento contendo os valores de variação dos fatores, os níveis codificados e as respostas de intensidade de área de pico obtidas de cada ensaio para o carbendazim, fipronil e picoxistrobina. As respostas obtidas foram utilizadas para construir as equações dos modelos e as significâncias estatísticas foram avaliadas por análise de variância (ANOVA). O modelo de interações bidirecionais melhor estabeleceu a relação entre os fatores e as intensidades cromatográficas obtidas para cada pesticida. No entanto, como a finalidade do planejamento fatorial fracionário é identificar os fatores que possuem maiores significancias [167], avaliou-se apenas os efeitos individuais dos fatores, conforme mostrados nas Equações 2 a 4.

**Tabela 9** – Ensaios e respostas obtidas de intensidades de área de pico do planejamento fatorial  $2^{6-1}$  para carbendazim, fipronil e picoxistrobina em concentrações de 200,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Ensaio	pH	1-decanol ( $\mu\text{L}$ )	THF ( $\mu\text{L}$ )	NaCl (mol $\text{L}^{-1}$ )	Centrifuga (min)	Vórtice (min)	Carbendazim (286 nm)	Fipronil (279 nm)	Picoxistrobina (246 nm)
1	+	+	+	+	+	+	385958	69374	82751
2	-	+	+	+	+	-	93009	94977	150211
3	+	-	+	+	+	-	612230	167162	209331
4	-	-	+	+	+	+	126115	300434	483743
5	+	+	-	+	+	-	469028	73580	93626
6	-	+	-	+	+	+	85811	129506	204499
7	+	-	-	+	+	+	532358	137945	177148
8	-	-	-	+	+	-	49181	215489	306651
9	+	+	+	-	+	-	222239	132118	236414
10	-	+	+	-	+	+	37708	129230	239134
11	+	-	+	-	+	+	169705	340705	604679
12	-	-	+	-	+	-	35718	362826	661127
13	+	+	-	-	+	+	250942	114902	205186
14	-	+	-	-	+	-	32413	147046	271906
15	+	-	-	-	+	-	232762	234383	417601
16	-	-	-	-	+	+	18879	287887	517079
17	+	+	+	+	-	-	346726	58155	75071
18	-	+	+	+	-	+	100587	96611	152847
19	+	-	+	+	-	+	663626	194562	232406
20	-	-	+	+	-	-	112035	308052	470561
21	+	+	-	+	-	+	519521	87452	102313
22	-	+	-	+	-	-	72022	125755	190766
23	+	-	-	+	-	-	691308	175920	204077
24	-	-	-	+	-	+	42608	244373	385416
25	+	+	+	-	-	+	194191	141452	252187
26	-	+	+	-	-	-	38482	136120	251172
27	+	-	+	-	-	-	223085	363055	645546
28	-	-	+	-	-	+	22338	340832	611408
29	+	+	-	-	-	-	333512	147474	264873
30	-	+	-	-	-	+	28831	151612	280075
31	+	-	-	-	-	+	299645	320871	575289
32	-	-	-	-	-	-	17665	242456	446951
33	0	0	0	0	0	0	154073	179353	264791
34	0	0	0	0	0	0	138394	198107	270933
35	0	0	0	0	0	0	172690	211108	295481

$$\begin{aligned} \text{Carbendazim} = & 215011,3 + 327089,6 \times \text{pH} - 39892,4 \times 1\text{-decanol}(\mu\text{L}) - 18295,9 \times \text{THF}(\mu\text{L}) \\ & (\pm 2902,1) \quad (\pm 6070,1) \quad (\pm 6070,1) \quad (\pm 6070,1) \\ & + 171500,5 \times \text{NaCl}(\text{molL}^{-1}) - 22007,9 \times \text{centrifuga}(\text{min}) - 6412,0 \times \text{vortex}(\text{min}) \\ & (\pm 6070,1) \quad (\pm 6070,1) \quad (\pm 6070,1) \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{Fipronil} = & 190311,0 - 34631,0 \times \text{pH} - 150099,0 \times 1\text{-decanol}(\mu\text{L}) + 24938,0 \times \text{THF}(\mu\text{L}) \\ & (\pm 2698,4) \quad (\pm 5644,2) \quad (\pm 5644,2) \quad (\pm 5644,2) \\ & - 69601,0 \times \text{NaCl}(\text{molL}^{-1}) - 12324,0 \times \text{centrífuga}(\text{min}) + 6449,0 \times \text{vortex}(\text{min}) \\ & (\pm 5644,2) \quad (\pm 5644,2) \quad (\pm 5644,2) \end{aligned} \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \text{Picoxistrobina} = & 309522,0 - 77815,0 \times \text{pH} - 243499,0 \times 1\text{-decanol}(\mu\text{L}) + 44696,0 \times \text{THF}(\mu\text{L}) \\ & (\pm 2744,9) \quad (\pm 5741,3) \quad (\pm 5741,3) \quad (\pm 5741,3) \\ & - 184951,0 \times \text{NaCl}(\text{molL}^{-1}) - 17492,0 \times \text{centrífuga}(\text{min}) + 13142,0 \times \text{vortex}(\text{min}) \\ & (\pm 5741,3) \quad (\pm 5741,3) \quad (\pm 5741,3) \end{aligned} \quad (4)$$

Os modelos apresentaram coeficientes de regressão ajustados de 0,953, 0,963 e 0,961 para o carbendazim, fipronil e picoxistrobina, respectivamente. De acordo com a ANOVA, os modelos não apresentam falta de ajuste devido ao valor tabelado de  $F_{11,2}$  (19,40) ser superior aos valores calculados de F para o carbendazim (14,30), fipronil (2,54) e picoxistrobina (9,69), em um nível de confiança de 95%. Os modelos estatísticos mencionados para as intensidades cromatográficas permitiram evidenciar alguns efeitos não significativos (não presentes nas equações) para pré-concentração como também mostram discordâncias entre os parâmetros ótimos para os pesticidas (como a influência do pH e da quantidade de NaCl).

Com intuito de conciliar as melhores condições de trabalho entre as condições de análise, visando a maximização das intensidades cromatográficas dos pesticidas, utilizou-se a função desejabilidade de Derringer-Suich. 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 totalmente desejada, na qual valores acima do selecionado não teriam importância. 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 5, 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 [168-170]. Os valores dos pesos foram iguais a 1 para todos os pesticidas.

$$d_i = 0, \text{ se } Y_i \leq L$$

$$d_i = \left( \frac{Y_i - L}{H - L} \right)^r, \text{ se } L \leq Y_i \leq H \quad (5)$$

$$d_i = 1, \text{ se } Y_i \geq H$$

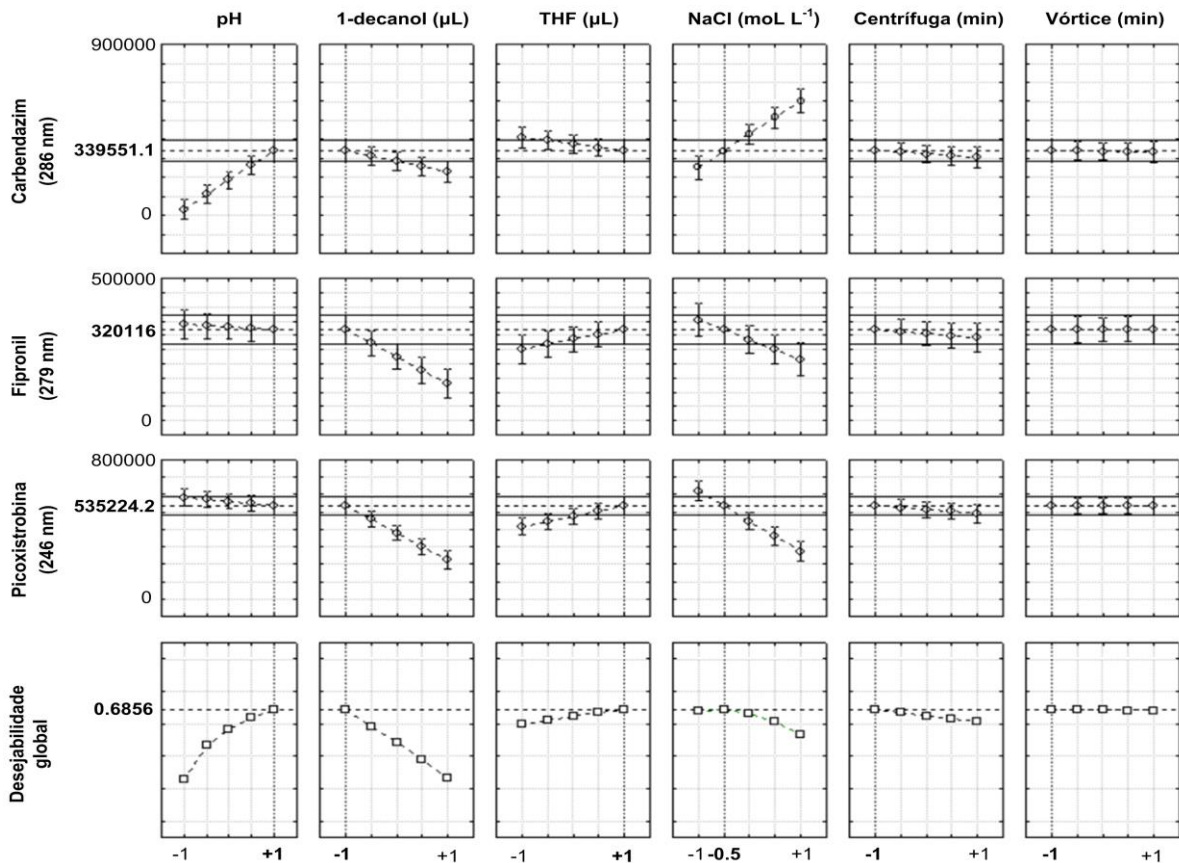
Com as desejabilidade individuais, é possível obter a desejabilidade global ( $D_g$ ). A função da desejabilidade global é definida como a média geométrica ponderada das desejabilidades individuais ( $d_i$ s), Equação 6, em que  $m$  é o número de respostas estudadas no processo de otimização [168-170].

$$D_g = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_m)^{1/m} \quad (6)$$

Com esses valores, é possível obter a melhor condição de trabalho para ambos os pesticidas simultaneamente, as expectativas dos valores de intensidade cromatográfica e seus intervalos de confiança, conforme Figura 12. Na variação de pH, o carbendazim demonstrou significativo aumento no nível mais elevado (pH = 7,00). Esse fato é justificado pela maior interação da forma molecular neutra do carbendazim com os agregados micelares por ligações de hidrogênio, resultando numa maior quantidade extraída [137]. Para o fipronil e picoxistrobina, o aumento do pH provocou apenas uma pequena queda de intensidade. Logo, o valor do pH como

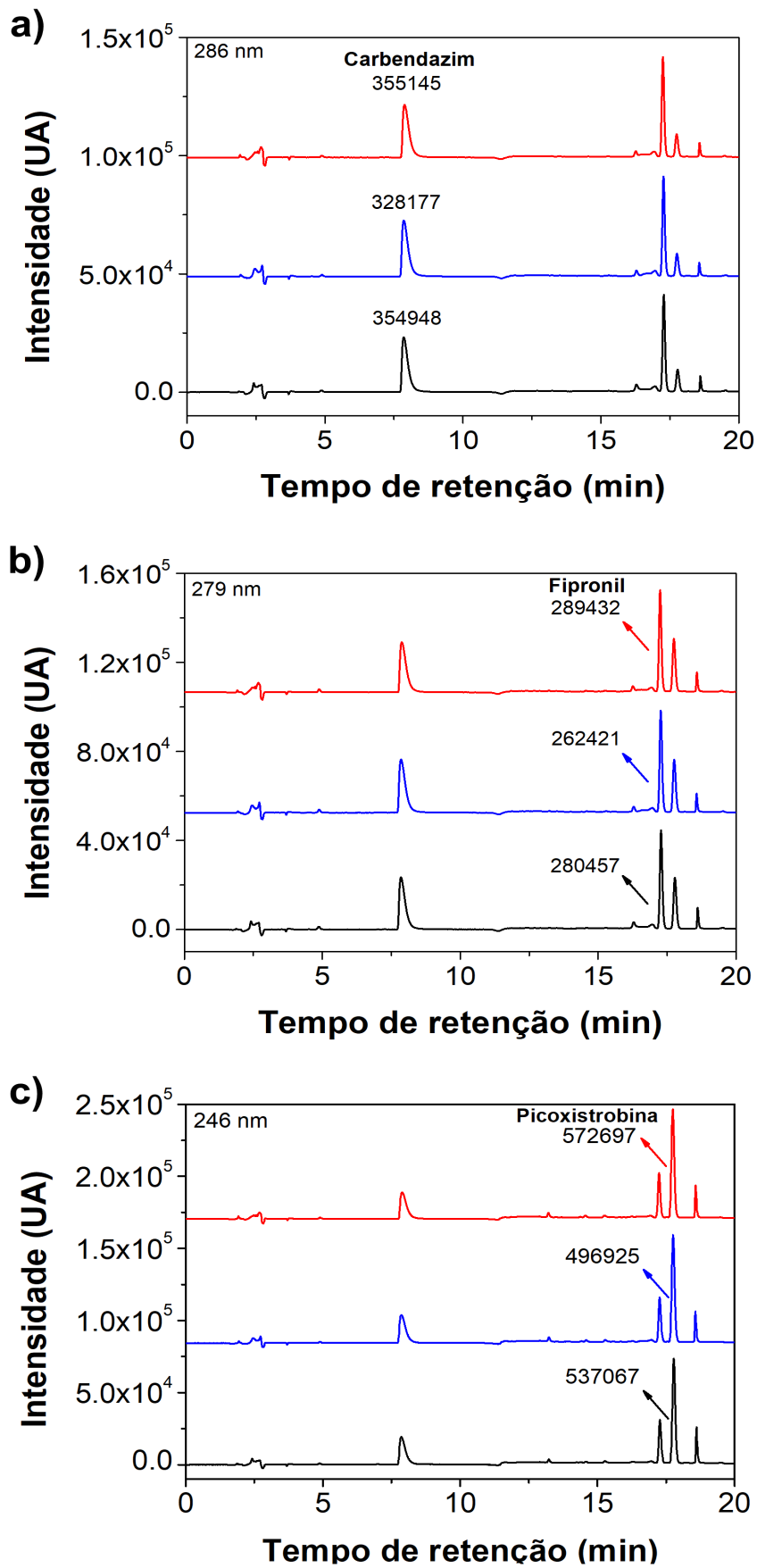
7,00 foi apontado pela  $D_g$  como valor selecionado. Para o volume de 1-decanol, todos os pesticidas apresentaram maiores intensidades cromatográficas no menor volume adicionado (50  $\mu\text{L}$ ). Esse comportamento mostra que maiores volumes provocam diluições na concentração dos analitos, diminuindo as intensidades das áreas de pico. Portanto, o volume selecionado de 1-decanol pela  $D_g$  foi de 50  $\mu\text{L}$ .

O aumento do volume de THF mostrou incremento de sinal para o fipronil e picoxistrobina, revelando uma maior eficiência como agente dispersor para os mesmos a medida que o volume aumenta, enquanto que para o carbendazim apresentou um decréscimo. Na  $D_g$  o aumento de intensidade cromatográfica dos dois pesticidas faz com que o maior volume adicionado de THF (500  $\mu\text{L}$ ) seja selecionado. Na concentração de NaCl um comportamento peculiar é observado. A medida que se aumenta a concentração, a intensidade de sinal para o carbendazim também se eleva enquanto que para fipronil e picoxistrobina o inverso é observado. Esse comportamento é justificado pelo efeito “*salting out*”, que utiliza a adição de teores de sal para criar um deslocamento do equilíbrio de partição de solutos orgânicos neutros em direção a fases não aquosas [171]. Como o carbendazim é o pesticida analisado com caráter mais hidrofílico, uma maior quantidade de sal é necessária para atingir este efeito, no entanto, quando melhorado o desempenho do mesmo, a competição pela interação com as micelas reversas faz com que haja o decréscimo das intensidades cromatográficas do fipronil e da picoxistrobina. Como os mesmos pesos foram inferidos aos pesticidas, o fipronil e a picoxistrobina influenciam a  $D_g$  para selecionar valores próximos ao nível inferior enquanto o carbendazim ao nível superior. Logo, um valor intermediário de concentração de NaCl de aproximadamente  $1,50 \text{ mol L}^{-1}$  (ou 8,75%, m/v) foi selecionado.



**Figura 12** – Representação gráfica da aplicação da função desejabilidade de Derringer-Suich nas respostas dos pesticidas obtidas no planejamento fatorial  $2^{6-1}$  com ponto central.

Os tempos de agitação em vórtice e centrifugação demonstraram pequenas variações entre os níveis selecionados. Coincidentemente, os níveis inferiores (0,5 min para agitação em vórtice e 5 min para centrifugação) foram apontados pela  $D_g$ . Os intervalos de confiança para os valores de intensidade das áreas de pico foram:  $285055.9 \leq \text{carbendazim} \leq 394046.3$ ,  $269445 \leq \text{fipronil} \leq 370787$  e  $483681.7 \leq \text{picoxistrobina} \leq 586766.7$ . Para validar as condições ótimas obtidas pela função desejabilidade de Derringer-Suich, ensaios cromatográficos foram realizados em triplicata, conforme Figura 13. Todos os valores obtidos estão contidos nos intervalos de confiança.



**Figura 13** – Cromatogramas obtidos para as triplicatas de validação em a) 286 nm, b) 279 nm e c) 246 nm com 200 µg L<sup>-1</sup> de pesticidas.

#### 4.2. PARÂMETROS ANALÍTICOS

As regressões lineares obtidas contendo os LOQ para as pré-concentrações do carbendazim, fipronil e picoxistrobina utilizando SUPRAS foram estatisticamente avaliadas por ANOVA unidimensional (Tabela 10). No nível de confiança de 95%, os valores da razão entre as médias quadráticas do modelo pelo resíduo (F-valores) foram muito maiores que os valores tabelados ( $F_{1,12} = 4,74$  e  $F_{1,6} = 5,99$ ), indicando bom ajuste do modelo aos dados experimentais. Reforçando o bom ajuste dos dados, os valores dos coeficientes de correlação ajustados ( $R_{adj.}$ ) foram iguais ou a 0,99. Além disso, os p-valores das regressões lineares apresentaram valores inferiores a 0,05, mostrando os significados dos coeficientes.

**Tabela 10** – Parâmetros das equações de regressão linear e ANOVA unidirecional para cada pesticida. (n = 3)

Pesticidas	Regressão Linear				ANOVA unidimensional						
	Intercepto (AU)	Erro	Coef. angular ( $\mu\text{g}^{-1} \text{L}$ )	Erro	GL	Soma dos quadrados	Média quadrática	F-valor	p-valor	$R_{adj.}$	
Carbendazim	-3064,85	1218,64	1722,37	16,22	Modelo	1	11270	11270	10245,45	$\approx 0$	0,99
					Resíduo	11	12	1,1			
					Total	12	11282				
Fipronil	-5195,73	1750,76	1397,57	21,23	Modelo	1	4332,36	4332,36	2831,61	$4,4 \cdot 10^{-8}$	0,99
					Resíduo	5	7,64	1,53			
					Total	6	4340				
Picoxistrobina	-3662,99	3412,79	2777,06	53,93	Modelo	1	2647,65	2647,65	457,28	$4,1 \cdot 10^{-6}$	0,99
					Resíduo	5	28,96	5,79			
					Total	6	2676,61				

GL: graus de liberdade; p-valor: significância dos F-valor;  $R_{adj.}$ : coeficiente de correlação ajustado.

Os resultados de linearidade, FP, PE, LOD e LOQ foram determinados e estão apresentados na Tabela 11. Altos valores de FP e EP foram obtidos para fipronil e picoxistrobina, enquanto menores valores foram obtidos para o carbendazim. Os menores resultados para o carbendazim foram alcançados devido seu moderado

caráter hidrofílico, comprometendo as interações com a fase orgânica. Os intervalos de linearidade foram obtidos após a submissão ao SUPRAS de amostras contendo os pesticidas em concentrações apontadas pelos cálculos de LOQ. As intensidades de área de pico obtidas foram então inseridas no conjunto de dados e novas curvas analíticas para cada herbicida foram calculadas. As novas curvas analíticas para microextração por SUPRAS foram: Intensidade (AU) =  $1680,74,51 \pm 2,29$  [carbendazim]  $AU \mu g^{-1} L + 93,88 \pm 4,37$ , Intensidade (AU) =  $1336,00 \pm 12,55$  [fipronil]  $AU \mu g^{-1} L + 1078,49 \pm 141,07$  e Intensidade (AU) =  $2695,40 \pm 31,59$  [picoxistrobina]  $AU \mu g^{-1} L + 2555,29 \pm 60,77$  com  $R_{adj.} = 0,99$ . As variações entre os coeficientes angulares foram menores que 4,41%, demonstrando que a relação linear entre a intensidade de área de pico e a concentração dos analitos se estende até aos valores de LOQ.

**Tabela 11** – Linearidades, limites de detecção e quantificação, fatores de pré-concentração e porcentagens de extração do método de microextração de pesticidas por SUPRAS.

Parâmetros	Pesticidas		
	Carbendazim	Fipronil	Picoxistrobina
Linearidade ( $\mu g L^{-1}$ )	1,50-1000,00	1,14-400,00	0,78-400,00
LOD ( $\mu g L^{-1}$ )	0,45	0,34	0,23
LOQ ( $\mu g L^{-1}$ )	1,50	1,14	0,78
FP	21,43	71,10	71,36
PE (%)	21,45	84,47	83,00

LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; FP: fator de pré-concentração; PE: porcentagem de extração.

As precisões inter/intradia, exatidões e intervalos de confiança foram calculados para os pesticidas, como demonstrado na Tabela 12. Os resultados apresentaram DPR e ER menores que 7,00%, mostrando uma variação muito baixa entre as

medidas e boa concordância com a concentração nominal. Os intervalos de confiança mostraram que os valores obtidos estão apresentados dentro dos limites de confiança em um nível de confiança de 95%.

**Tabela 12** – Precisão, exatidão e intervalos de confiança do método para análise dos pesticidas.

Parâmetros	Pesticidas					
	Carbendazim		Fipronil		Picoxistrobrina	
Concentração nominal ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,00	900,00	2,00	300,00	2,00	300,00
Intradia ( $n^a = 10$ )						
Concentração analisada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,07	894,68	2,02	308,02	1,96	308,81
Precisão (DPR, %) <sup>b</sup>	5,63	1,65	3,25	4,22	3,09	4,00
Exatidão (ER, %) <sup>c</sup>	3,50	0,59	1,00	2,67	2,00	2,94
Intervalo de confiança ( $t_b$ , 95%)	0,08	10,60	0,05	9,29	0,04	8,84
Interdia ( $n^d = 3$ )						
Concentração analisada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,12	901,87	2,05	303,55	2,12	299,67
Precisão (DPR, %)	2,91	6,23	4,62	3,95	6,53	2,80
Exatidão (ER, %)	6,00	0,21	2,50	1,18	6,00	0,11
Intervalo de confiança ( $t_b$ , 95%)	0,19	18,96	0,29	12,01	0,34	20,81

<sup>a</sup> n: número de determinações;

<sup>b</sup> DPR (%): precisão expressa como porcentagem de DPR;

<sup>c</sup> ER (%): exatidão expressa como porcentagem do erro relativo;

<sup>d</sup> n: número de dias.

Uma comparação entre o presente método de pré-concentração de pesticidas utilizando SUPRAS e outros métodos de preparação de amostras do ponto de vista de linearidade, LOQ e LOD são mostrados na Tabela 13. Alguns dos métodos de pré-concentração desta tabela são baseados em extração em fase sólida, microextração em fase sólida, microextração líquido-líquido dispersiva, com detecção por HPLC-DAD ou outra técnica. A comparação sugere vantagens do método proposto utilizando microextração de SUPRAS, incluindo LOD e LOQ inferiores ou similares, tempo de extração curto e simplicidade em comparação com os métodos nos quais se utilizam materiais adsorventes, uma vez que não é

necessária síntese. Além disso, o método proposto apresenta ampla faixa linear e baixos valores de volumes de amostra e solvente.

**Tabela 13** – Comparação entre métodos presentes na literatura para a determinação de carbendazim, fipronil e/ou picoxistrobina com o método proposto.

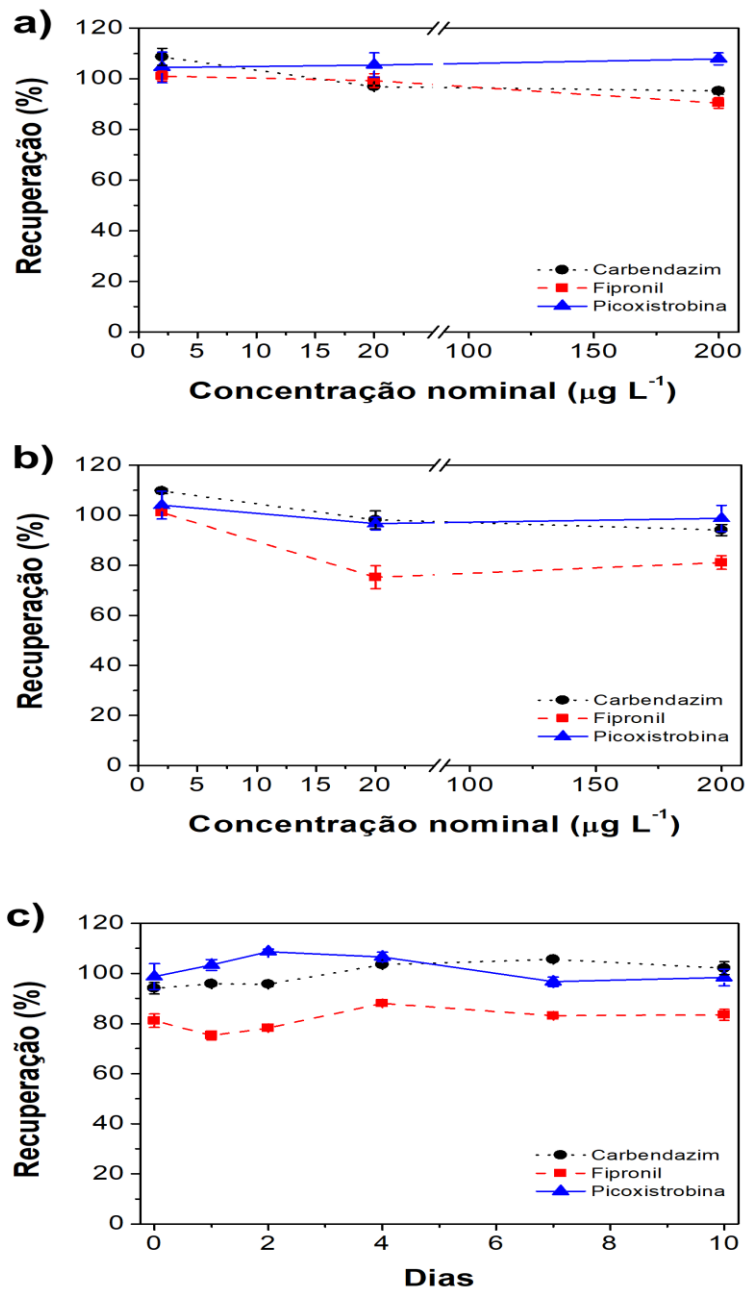
Analitos	Método de pré-concentração	Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Tipo de amostra	Técnica de detecção	Referência
Carbendazim	-	200,0-15000,0	225,0	67,0	Água	IC-hv-FD	[172]
Carbendazim	DLLME	5,0-600,0	4,0	1,2	Água e solo	UV-Vis	[173]
Fipronil	SPME	5,0-200,0	4,7	1,4	Água	HPLC-DAD	[174]
Fipronil	SPE (cartuchos comerciais de C <sub>18</sub> )	50,0-500,0	30,0	10,0	Água	HPLC-DAD	[38]
Picoxistrobina	SBSE	30,0-5000,0	35,0	10,0	Frutas	HPLC-DAD	[175]
Picoxistrobina	-	11,3-6979,2	11,3	8,4	Água e urina	Voltametria de redissolução anódica	[176]
Carbendazim	SPE (cartuchos contendo SDVB)	-	0,99	0,75	Água	HPLC-DAD	[177]
Fipronil	IL-DLLME	2,0-100,0	-	0,53	Água	HPLC-DAD	[178]
Carbendazim		1,50-1000,0	1,50	0,45			
Fipronil	SUPRAS	1,14-400,0	1,14	0,34	Água	HPLC-DAD	Este trabalho
Picoxistrobina		0,78-400,0	0,78	0,23			

IC-hv-FD: cromatografia iônica com detector de fluorescência e reator fotoquímico pós-coluna; DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva; UV-Vis: espectroscopia ultravioleta-visível; SPME: microextração em fase sólida; HPLC-DAD: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos; SPE: extração em fase sólida; SBSE: extração sortiva em barra magnética; SDVB: copolímero de estireno-divinilbenzeno; IL-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico; SUPRAS: microextração por solvente supramolecular.

#### 4.3. AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA

O carbono orgânico de ocorrência natural em águas naturais e artificiais pode causar interferências significativas por possíveis interações com os pesticidas [179, 180] e/ou com os constituintes do SUPRAS. Correspondendo a uma fração maior do carbono orgânico dissolvido, as substâncias húmicas aquáticas são substâncias orgânicas não voláteis normalmente constituídos de vários grupos funcionais (ácidos carboxílicos, grupos hidroxila fenólica, carbonila e hidroxila) e são divididos em ácidos fúlvicos e húmicos [181]. Os ácidos húmicos (AHs) podem fornecer múltiplas interações com vários compostos por quelação, interações de transferência de carga, interação dipolo-dipolo, reações de troca iônica, ligações  $\pi$ , ligação de van der

Waals e/ou ligação de hidrogênio devido à sua estrutura peculiar [179-181]. Portanto, duas concentrações de AH foram avaliadas como possíveis interferentes em soluções contendo diferentes concentrações dos pesticidas analisados e a interferência temporal foi avaliada em uma solução, conforme apresentado na Figura 14.



**Figura 14** - Percentuais de recuperação analítica para pré-concentração de carbendazim, fipronil e picoxistrobina (2, 20 e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na presença de ácido húmico nas concentrações de a) 5,0  $\text{mg L}^{-1}$ , b) 12,5  $\text{mg L}^{-1}$  e c) 12,5  $\text{mg L}^{-1}$  com variação no tempo. (n = 3)

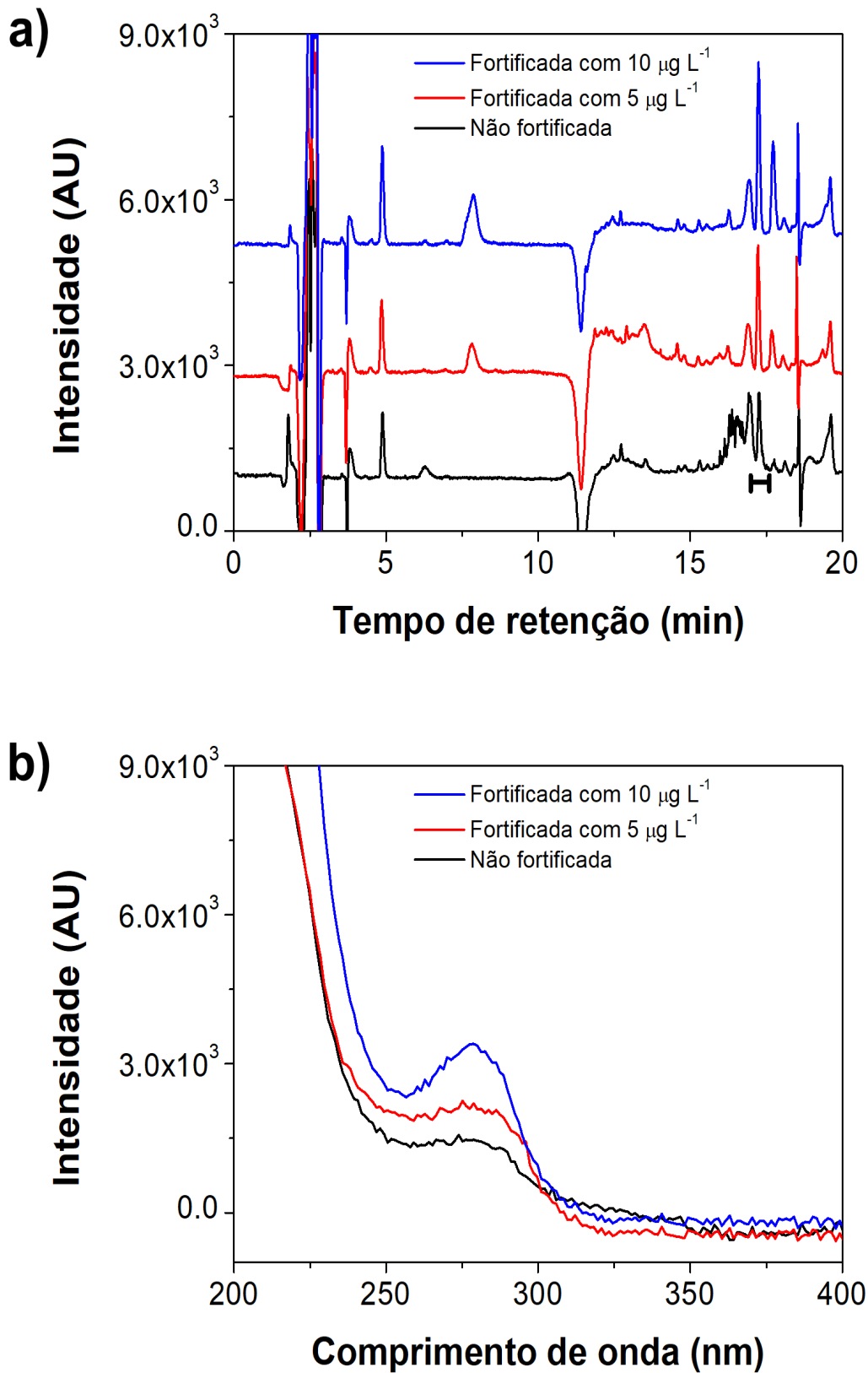
A concentração de AH de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ , carbendazim, fipronil e picoxistrobina, em todas as concentrações avaliadas, apresentaram valores de recuperação entre 90-110%, indicando tolerância satisfatória do método de microextração de SUPRAS. Na concentração de  $12,5 \text{ mg L}^{-1}$  de AH, os pesticidas nas menores concentrações também apresentaram recuperação satisfatória, porém, na concentração de  $200,0 \mu\text{g L}^{-1}$ , o fipronil apresentou interferência. As duas concentrações de AH reduziram visualmente o conteúdo de SUPRAS. Para investigar se o AH na concentração de avaliação mais alta interfere interagindo com o fipronil ou com os constituintes do SUPRAS, uma solução contendo  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de pesticidas foi mantida em dias com agitação orbital para mimetizar um fluxo de água, Figura 14c.

Como observado, os valores de recuperação para fipronil continuaram aleatoriamente abaixo do intervalo aceitável, enquanto para carbendazim e picoxistrobina permaneceram satisfatórios. Esses resultados corroboram com a especiação visual, indicando menor formação de micelas reversas induzidas pela água devido às interações entre os constituintes do AH e do SUPRAS e, conseqüentemente, forçando os pesticidas analisados a competirem consigo mesmos para ocupar os vacúolos micelares. Mesmo com a presença de interferência por AH na microextração da concentração mais alta de pesticidas, vale ressaltar que este valor de concentração de AH está contido na faixa de carbono orgânico dissolvido para pântanos e brejos. Outras águas naturais e artificiais contêm menores concentrações de carbono orgânico dissolvido e, conseqüentemente, menores concentrações de AH [181]. Além disso, a presença de HA nos cromatogramas não foi evidenciada, demonstrando as propriedades do SUPRAS como solvente de acesso restrito.

#### 4.4. ANÁLISE DE ÁGUAS NATURAIS E AMBIENTES ARTIFICIAIS

Com o objetivo de avaliar a viabilidade do método proposto para detectar e quantificar carbendazim, fipronil e picoxistrobina em águas, amostras não-fortificadas e fortificadas de dois poços artesianos (localizados nas cidades de Londrina e Quatá, três lagos artificiais (localizados nas cidade de Londrina, Apucarana e Belo Horizonte), um balneário (localizado na cidade de Quatá), duas águas de costas marítimas (localizadas nas cidades de Guaratuba e do Rio de Janeiro), um riacho (localizado na cidade de Londrina) e duas águas atmosféricas distintas (coletadas nas cidades de Londrina e Bom Jesus do Sul) foram submetidos à microextração de SUPRAS e listados na Tabela 14. As recuperações obtidas das amostras fortificadas com carbendazim, fipronil e picoxistrobina em duas concentrações (5,0 e 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) também estão listadas na tabela. Os valores de recuperação variaram de 93,5 a 110,0%, indicando a ausência de efeito matriz, de interferência e a viabilidade do método de determinar simultaneamente os pesticidas em baixos níveis de diferentes tipos de água.

Dentre todas as águas analisadas, apenas a água do mar de Guaratuba apresentou um pesticida: fipronil na concentração de  $4,51 \pm 0,30 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para ilustrar a presença de fipronil na água do mar de Guaratuba, cromatogramas e espectros DAD de amostras não-fortificadas e fortificadas são mostrados na Figura 15. A presença de fipronil nesta água pode ser justificada pela ampla utilização do pesticida em práticas não agrícolas, como exemplo: para a preservação de madeiras, produtos para cuidar de animais de uso tópico, termiticidas líquidos, iscas de gel, produtos granulares para grama e outros [182, 183]. O valor encontrado é bastante preocupante devido a ser maior do que o valor máximo permitido de concentração de fipronil para algumas legislações internacionais.



**Tabela 14** - Valores de adição e recuperação para amostras distintas de águas naturais e artificiais. (n = 3)

Local	Concentração adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			Concentração encontrada $\pm s$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			Recuperação $\pm s$ (%)		
	Carbendazim	Fipronil	Picoxistrobina	Carbendazim	Fipronil	Picoxistrobina	Carbendazim	Fipronil	Picoxistrobina
<i>Águas atmosféricas</i>									
Água da chuva <sup>a</sup>	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	4,96 $\pm$ 0,15	5,12 $\pm$ 0,16	5,19 $\pm$ 0,11	99,3 $\pm$ 2,9	102,3 $\pm$ 3,2	103,7 $\pm$ 2,2
	10,00	10,00	10,00	10,59 $\pm$ 0,31	10,68 $\pm$ 0,22	10,58 $\pm$ 0,30	105,9 $\pm$ 3,1	106,8 $\pm$ 2,2	105,8 $\pm$ 3,0
Granizo <sup>b</sup>	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	4,99 $\pm$ 0,26	5,50 $\pm$ 0,20	5,14 $\pm$ 0,29	99,7 $\pm$ 5,2	110,0 $\pm$ 4,0	102,8 $\pm$ 5,7
	10,00	10,00	10,00	9,60 $\pm$ 0,51	9,91 $\pm$ 0,01	10,46 $\pm$ 0,01	96,1 $\pm$ 5,1	99,1 $\pm$ 0,8	104,6 $\pm$ 1,0
<i>Águas superficiais</i>									
Guaratuba	0,00	0,00	0,00	ND	4,51 $\pm$ 0,30	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,49 $\pm$ 0,05	9,76 $\pm$ 0,08	5,34 $\pm$ 0,11	109,8 $\pm$ 1,0	102,7 $\pm$ 1,6	106,8 $\pm$ 2,2
	10,00	10,00	10,00	10,89 $\pm$ 0,16	14,40 $\pm$ 0,19	10,67 $\pm$ 0,33	108,9 $\pm$ 0,1	99,3 $\pm$ 0,1	106,8 $\pm$ 0,2
Rio de Janeiro	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,01 $\pm$ 0,22	5,49 $\pm$ 0,04	5,12 $\pm$ 0,01	100,1 $\pm$ 4,3	109,8 $\pm$ 0,9	102,4 $\pm$ 0,1
	10,00	10,00	10,00	10,83 $\pm$ 0,20	10,46 $\pm$ 0,38	10,41 $\pm$ 0,16	108,3 $\pm$ 2,0	104,6 $\pm$ 3,8	104,1 $\pm$ 1,6
Londrina	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	4,90 $\pm$ 0,06	4,75 $\pm$ 0,20	5,00 $\pm$ 0,18	98,08 $\pm$ 1,1	95,0 $\pm$ 4,0	100,0 $\pm$ 3,7
	10,00	10,00	10,00	10,21 $\pm$ 0,28	10,46 $\pm$ 0,13	10,57 $\pm$ 0,07	102,1 $\pm$ 2,8	104,6 $\pm$ 1,3	105,7 $\pm$ 0,7
<i>Poços artesianos</i>									
Quatá	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	4,97 $\pm$ 0,07	5,22 $\pm$ 0,27	5,22 $\pm$ 0,21	99,4 $\pm$ 1,3	104,4 $\pm$ 5,4	104,5 $\pm$ 4,2
	10,00	10,00	10,00	10,71 $\pm$ 0,20	10,59 $\pm$ 0,15	10,65 $\pm$ 0,19	107,1 $\pm$ 2,0	105,9 $\pm$ 1,5	106,5 $\pm$ 1,9
Londrina	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,00 $\pm$ 0,12	5,05 $\pm$ 0,12	5,52 $\pm$ 0,13	100,0 $\pm$ 2,4	101,1 $\pm$ 2,4	110,3 $\pm$ 2,6
	10,00	10,00	10,00	10,82 $\pm$ 0,15	10,47 $\pm$ 0,57	10,61 $\pm$ 0,15	108,3 $\pm$ 1,6	104,7 $\pm$ 5,6	106,1 $\pm$ 1,5
<i>Águas artificiais</i>									
Belo Horizonte	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	4,98 $\pm$ 0,25	5,03 $\pm$ 0,14	5,28 $\pm$ 0,11	99,6 $\pm$ 5,0	100,6 $\pm$ 2,8	105,5 $\pm$ 2,2
	10,00	10,00	10,00	10,38 $\pm$ 0,08	10,29 $\pm$ 0,22	10,70 $\pm$ 0,26	103,8 $\pm$ 0,0	102,9 $\pm$ 0,1	106,9 $\pm$ 0,1

Apucarana	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,19 ± 0,16	4,68 ± 0,06	5,13 ± 0,11	103,8 ± 3,1	93,5 ± 1,2	102,6 ± 2,2
	10,00	10,00	10,00	10,34 ± 0,18	10,58 ± 0,52	10,84 ± 0,06	103,4 ± 1,8	105,8 ± 5,2	108,4 ± 0,6
Quatá	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,13 ± 0,24	5,13 ± 0,04	5,19 ± 0,20	102,7 ± 4,7	102,6 ± 0,8	103,9 ± 4,8
	10,00	10,00	10,00	9,56 ± 0,42	10,12 ± 0,14	10,95 ± 0,20	95,7 ± 4,2	101,2 ± 1,4	109,5 ± 2,0
Londrina	0,00	0,00	0,00	ND	ND	ND			
	5,00	5,00	5,00	5,04 ± 0,12	5,06 ± 0,18	5,07 ± 0,07	100,9 ± 2,5	101,2 ± 3,6	101,5 ± 1,5
	10,00	10,00	10,00	9,81 ± 0,18	10,41 ± 0,09	10,97 ± 0,19	98,2 ± 1,9	104,1 ± 0,9	109,7 ± 1,9

<sup>a</sup>coletado em Londrina em 26 de dezembro de 2018, <sup>b</sup>coletado em Bom Jesus do Sul em 14 de julho de 2018, s: desvio padrão; ND: não detectado (abaixo do limite de detecção).

## 5. CONCLUSÃO

A microextração e pré-concentração de carbendazim, fipronil e picoxistrobina utilizando o SUPRAS induzido por água composta de micelas invertidas de 1-decanol arranjadas em meio THF/água, com determinação por HPLC-DAD, mostrou-se adequada para determinar concentrações de traços desses pesticidas em amostras de águas naturais e artificiais. Aliando procedimentos de otimização multivariada (planejamento fatorial fracionário e função de desejo de Derring-Suich), foi possível obter condições otimizadas mesmo com os analitos exibindo comportamentos moleculares distintos. Pelos parâmetros de validação, o método demonstrou eficiência e confiabilidade na determinação dos pesticidas analisados nas amostras de águas da atmosferas, águas superficiais, águas subterrâneas e águas artificiais. Por não exigir grandes quantidades de solvente orgânico (550,0 µL por amostra), por permitir a análise direta (o solvente de extração não precisa ser evaporado) e pela viabilidade de congelar várias amostras para análise posteriores, o método provou ser bastante simples, rápido e ambientalmente amigável. Além disso, a quantificação do fipronil em uma amostra de água natural, em valores superiores aos estabelecidos por algumas diretrizes internacionais, reafirma a importância de investigar e monitorar pesticidas em águas naturais e artificiais.

## REFERÊNCIAS

- [1] VERMA, J. P.; JAISWAL, D. K. Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art. **Rev. Environ. Sci. Biotechnol.** v.13, p.429-466, 2014.
- [2] AKTAR, W.; SENGUPTA, D.; CHOWDHURY, A. Impacts of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisc. Toxicol.**, v.2, p.1-12, 2009.
- [3] GAVRILESCU, M. Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation. **Eng. Life Sci.**, v. 5, p. 497-526, 2005.

[4] BERNARDES, M. F. F.; PAZIN, M.; PEREIRA, L. C.; DORTA D. J. Impact of Pesticides on Environmental and Human Health, In: ANDREZZA, A. C.; SCOLA, G. (Eds.), *Toxicology Studies: Cells, Drugs and Environment*, InTech, Londres, 2015, pp. 195-233.

[5] ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines for the Registration of Pesticides, Disponível em: <  
[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70293/WHO\\_HTM\\_NTD\\_WHOPES\\_2010.7\\_eng.pdf;jsessionid=B0CDEF6B0ED9AB85D58124393B2E5A47?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/70293/WHO_HTM_NTD_WHOPES_2010.7_eng.pdf;jsessionid=B0CDEF6B0ED9AB85D58124393B2E5A47?sequence=1)  
>. Acesso em: 04 jan 2020.

[6] YADAV, I. C.; DEVI, N. L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment, In: CHANDRA, R.; GURJAR, B. R.; GOVIL, J. N. (Eds.) *Environmental Science and Engineering Volume 6 : Toxicology*, Studium Press LLC, Nova Delhi, 2017, pp. 140-158.

[7] DORES, E. F. G. C.; LAMONOCA-FREIRE, E.M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas: vias de contaminação e dinâmica dos pesticidas no ambiente aquático. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v.9, p.1-18, 1999.

[8] DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO R. T. R., Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Rev. Bras. Eng. Agric. Ambient.**, v. 18, p.1296-1301, 2014.

[9] SCHÄFER, R. B.; BRINK, P. J.; LIESS, M. Impacts of Pesticides on Freshwater Ecosystems, In: SÁNCHEZ-BAYO, F.; BRIK, P. J.; MANN, R. M. (Eds.), *Ecological Impacts of Toxic Chemicals*, Bentham Science Publishers, Sharjah, 2011, pp. 111-137.

[10] MEREL, S.; BENZING, S.; GLEISER, C.; NAPOLI-DAVIS, G. D.; ZWIENER, C. Occurrence and overlooked sources of the biocide carbendazim in wastewater and surface water, **Environ. Pollut.**, v.239, p. 512-521, 2018.

[11] MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D.; JARDIM, W. F.; JARDIM, I. C. S. F.; UMBUZEIRO, G. A. Trace analysis of pesticides and an assessment of their occurrence in surface and drinking waters from the state of São Paulo (Brazil), **Anal. Methods**, v. 6, p. 6668-6677, 2014.

[12] TENNEKES, H. A. Fipronil in Surface Water: An Environmental Calamity Remaining Under Radar in the Netherlands, **J. Ecol. Toxicol.**, v. 2, p. 1-2, 2018.

[13] DAMALAS, C. A.; ELEFHERORINOS, I. G. Pesticide exposure, safety issues and risk assessment indicators. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v.8, p. 1402-1419, 2011.

[14] BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece condições e padrões de

lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459> >. Acesso em: 05 jul 2018.

[15] BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011: Dispõem sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: < [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html) >. Acesso em: 05 jul 2018.

[16] BRASIL. Ministério da Agricultura. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários AGROFIT. Disponível em: < [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) >. Acesso em: 05 jul 2018.

[17] MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D.; JARDIM, W. F.; JARDIM, I. C. S. F.; UMBUZEIRO, G. A. Trace analysis of pesticides and an assessment of their occurrence in surface and drinking waters from the state of São Paulo (Brazil). **Anal. Methods**, v.6, p. 6668-6677, 2014.

[18] HAMILTON, D. J., AMBRUS, A., DIETERLE, R. M., FELSOT, A. S., HARRIS, C. A., HOLLAND, P. T., KATAYAMA, A., KURIHARA, A. N., LINDERS, J., UNSWOTH, J. AND WONG, S. Regulatory limits for pesticides in water. IUPAC Technical Report. **Pure Appl. Chem.**, v.75, p.1123-1155, 2003.

[19] UNIÃO EUROPEIA. DIRECTIVA 98/83/CE DO CONSELHO de 3 de novembro de 1998 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. Disponível em: < <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A31998L0083> >. Acesso em: 05 jul 2018.

[20] ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Guideline for Drinking-water Quality. 4 ed., WHO Press, Geneva, 2017, 613 p.

[21] Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Drinking water standards and health advisories, U.S. Environment Protection Agency Office of Water 4304, 2000 (EPA 822-B-00-001). Disponível em: < <https://web.ics.purdue.edu/~peters/HTML/docs/drinking-water-standards.pdf> > Acesso em: 30 ago 2018.

[22] Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Drinking water standards and health advisories, U.S. Environment Protection Agency Office of Water 2012 (EPA 822-S-12-001). Disponível em: < [https://rais.ornl.gov/documents/2012\\_drinking\\_water.pdf](https://rais.ornl.gov/documents/2012_drinking_water.pdf) > Acesso em: 30 ago 2018.

[23] Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Picoxystrobin; Pesticide Tolerances. **Federal Register**, v.83, n.155, p.39605-39610, 2018.

[24] Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, Reregistration Eligibility Decision: Thipanate-Methyl. Disponível em: <

[https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/tm\\_red.pdf](https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/tm_red.pdf) > Acesso em: 30 ago 2018.

[25] National Health and Medical Research Council, Australian drinking water guidelines 6: versão 3.5 atualizada Agosto 2018. Disponível em: < <https://www.nhmrc.gov.au/guidelines-publications/eh52> >. Acesso em: 30 ago 2018.

[26] Ministry of Health, Drinking-water standards for New Zealand 2005 Revised 2008. Disponível em: < <https://www.health.govt.nz/publication/drinking-water-standards-new-zealand-2005-revised-2008> >. Acesso em: 30 ago 2018.

[27] Health Canada, Guidelines for Canadian Drinking Water Quality Summary Table. Disponível em: < [https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt\\_formats/pdf/pubs/water-eau/sum\\_guide-res\\_recom/sum\\_guide-res\\_recom-eng.pdf](https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-semt/alt_formats/pdf/pubs/water-eau/sum_guide-res_recom/sum_guide-res_recom-eng.pdf) >. Acesso em: 30 ago 2018.

[28] DUARTE, E. H.; CASARIN, J., SARTORI, E. R., TARLEY, C. R. T. Highly improved simultaneous herbicides determination in water samples by differential pulse voltammetry using boron-doped diamond electrode and solid phase extraction on cross-linked poly(vinylimidazole). **Sens. Actuator B-Chem.**, v.255, p.166-175, 2018.

[29] SAMSIDAR, A.; SIDDIQUEE, S.; SHAARANI, S. M. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. **Trends Food Sci. Technol.**, v.71, p.188-201, 2018.

[30] BARCELÓ, E. M. D.; GAULITZ, C. B. G.; ABUKNESHA, R. Immunosensors for pesticide determination in natural waters. **Trends Anal. Chem.**, v.20, p.124-132, 2001.

[31] SOUZA, D. F.; SOUZA, E. L.; BORGES, E. M. Determination of Pesticides in grape Juices by QuEChERS and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.27, p.1626-1635, 2016.

[32] BALINOVA, A. Multiresidue determination of pesticides in plants by high-performance liquid chromatography following gel permeation chromatographic clean-up. **J. Chromatogr. A**, v.823, p.11-16, 1998.

[33] WATANABE, E.; KOBARA, Y.; BABA, K.; EUN, H. Aqueous acetonitrile extraction for pesticide residue analysis in agricultural products with HPLC-DAD. **Food Chem.**, v.154, p.7-12, 2014.

[34] PARRILLA, P.; VIDAL, J. L. M.; GALERA, M. M.; FRENIEH, A. G. Simple and rapid screening procedure for pesticides in water using SPE and HPLC/DAD detection. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v.350, p.633-637, 1994.

[35] TANKIEWICZ, M.; FENIK, J.; BIZIUK, M. Solventless and solvent-minimized sample preparation techniques for determining currently used pesticides in water samples: A review. **Talanta**, v.86, p.8-22, 2011.

- [36] STOCKA, J.; TANKIEWICZ, M.; BIZIUK M.; NAMIESNIK J. Green Aspects of Techniques for the Determination of Currently Used Pesticides in Environmental Samples, **Int. J. Mol. Sci.**, v.12, p.7785-7805, 2011.
- [37] CHANG, P.-L.; HSIEH, M.-M.; CHIU, T.-C. Recent Advances in the Determination of Pesticides in Environmental Samples by Capillary Electrophoresis, **Int. J. Environ. Res. Public Health** ,v.13, p.1-20, 2016.
- [38] CAPPELINI, L. T. D.; CORDEIRO, D.; BRONDI, S. H. G.; PRIETO, K. R.; VIEIRA, E. M. Development of methodology for determination of pesticides residue in water by SPE/HPLC/DAD. **Environ. Tech.**, v. 33, n. 20, p. 2299-2304, 2012.
- [39] TUZIMSKI, T. Application of SPE-HPLC-DAD and SPE-TLC-DAD to the determination of pesticides in real water samples. **J. Sep. Sci.**, v. 31, p. 3537-3542, 2008.
- [40] BOUSSAHEL, R.; BOULAND, S.; MOUSSAOUI, K. M.; BAUDU, M.; MONTIEL, A. Determination of chlorinated pesticides in water by SPME/GC. **Water Res.**, v. 36, p. 1909-1911, 2002.
- [41] NATANGELO, M.; TAVAZZI, S.; FANELLI, R.; BENFENATI, E. Analysis of some pesticides in water samples using solid-phase microextraction-gas chromatography with different mass spectrometric techniques. **J. Chromatogr. A**, v. 859, p. 193 –201, 1999.
- [42] GIORDANO, A.; FERNÁNDEZ-FRAZÓN, M.; RUIZ, M. J. Pesticide residue determination in surface waters by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 393, p. 1733-1743, 2009.
- [43] MARGOUM, C.; GUILLEMAIN, C.; YANG, X.; COQUERY, M. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of pesticides in water samples: method validation and measurement uncertainty. **Talanta**, v. 116, p.1-7, 2013.
- [44] PURDEŠOVÁ, A. Determination of selected pesticide residues in river water using SBSE technique. **Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.**, v. 65, n. 5, p. 1595-1599, 2017.
- [45] BOLZAN, C. M.; CALDAS, S. S.; GUIMARÃES, B. S.; PRIMEL, E. G. Dispersive liquid-liquid microextraction with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of Triazine, Neonicotinoid, Triazole and Imidazolinone pesticides in mineral water samples. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, n. 9, p. 1902-1913, 2015.
- [46] HASSAN, J.; GHAFARI, M. MOZAFFARI, S.; FARAHANI, A. Determination polar pesticides in water samples using acetonitril/butylacetate dispersive solvent extraction combined with GC-MS determination. **Austin Chromatogr.**, v. 1, n. 4, p. 1-3, 2014.

- [47] PEYROVI, M.; HADJMOHAMMADI, M. Alkanol-based supramolecular solvent microextraction of organophosphorus pesticides and their determination using high-performance liquid chromatography. **J. Iran. Chem. Soc.**, v. 14, n. 5, p. 995-1004, 2017.
- [48] FEIZI, N.; YAMINI, Y.; MORADI, M.; EBRAHIMPOUR, B. Nano-structured gemini-based supramolecular solvent for the microextraction of cyhalothrion and fenvalerate. **J. Sep. Sci.**, v. 39, p. 3400-3409, 2016.
- [49] ANDRADE-EIROA, A.; CANLE, M.; LEROY-CANCELLIERI, V.; CERDÀ, V. Solid-phase extraction of organic compounds: a critical review (part I). **Trends Anal. Chem.**, v. 80, p. 641-654, 2016.
- [50] BUSZEWSKI, B.; SZULTKA, M. Past, present, and future of solid phase extraction: a review. **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v. 42, p. 198-213, 2012.
- [51] ABD-TALIB, N.; MOHD-SETAPAR, S. H.; KHAMIS, A. K. The benefits and limitations of methods development in solid phase extraction: mini review. **Jurnal Teknologi (Sciences and Engineering)**, v.69, n.4, p.69-72, 2014.
- [52] ANDRADE-EIROA, A.; CANLE, M.; LEROY-CANCELLIERI, V.; CERDÀ, V. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (part II). **Trends Anal. Chem.**, v. 80, p. 655-667, 2016.
- [53] SÁNCHEZ-ROJAS, F.; BOSCH-OJEDA, C.; CANO-PAVÓN, J. M. A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. **Chromatographia**, v. 69, p.S79-S94, 2009.
- [54] LANÇAS, F. M.; QUEIROZ, M. E.; GROSSI, P.; OLIVARES, I. R. B. Recent developments and applications of stir bar sorptive extraction. **J. Sep. Sci.**, v. 32, p.813-824, 2009.
- [55] MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Determination of pesticides and related compounds in water by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Ana. Methods**, v. 6, p.5020-5027, 2014.
- [56] AHMAD, W.; AL-SIBAALI, A. A.; BASHAMMAKH, A. S.; ALWAEL, H.; EL-SHAHAWI, M. S. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction for pesticides analysis. **Trends Anal. Chem.**, v. 72, p. 181-192, 2015.
- [57] SILVA, A. S.; DORES, E. F. G. C.; VILLA, R. D. A multiclass analytical method for pesticides determination in water using DLLME and GC-MS. **Rev. Virtual Quim.**, v. 09, n. 02, p. 548-562, 2017.
- [58] QIN H.; QIU X.; ZAO J.; LIU M.; YANG Y. Supramolecular solvent-based vortex-mixed microextraction: Determination of glucocorticoids in water samples. **J. Chromatogr. A**, v. 1311, p. 11–20, 2013.

- [59] BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. **Anal. Chim. Acta**, v. 677, p. 108-130, 2010.
- [60] BALLESTEROS-GÓMEZ A.; RUBIO S., Environment-responsive alkanol-based supramolecular solvents: characterization and potential as restricted access property and mixed-mode extractants, **Anal. Chem.**, v. 84, p. 342–349, 2012.
- [61] COSTI E.M.; SICILIA M. D.; RUBIO S. Multiresidue analysis of sulfonamides in meat by supramolecular solvent microextraction liquid chromatography and fluorescence detection and method validation according to the 2002/657/EC decision, **J. Chromatogr. A**, v. 1217, p. 6250–6257, 2010.
- [62] KISLIK, V. S. Solvent extraction: classical and novel approaches. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012, 551 p.
- [63] LEBARON H. M.; MCFARLAND, J. E.; BURNSIDE O. C. The Triazine Herbicides. 1. ed., Elsevier: Amsterdam, 2008, 579 p.
- [64] TREBST, A. Inhibitors in electron flow: tools for the functional and structural localization of carriers and energy conservation sites. **Methods Enzymol.**, v.69, p. 675–715, 1980.
- [65] COBB, A.H.; READE, J.P.H. Herbicides that inhibit photosynthesis. In: COBB, A.H.; READE, J.P.H. Herbicides and Plant Physiology, Shropshire: Wiley-Blackwell, 2010, p. 87–114.
- [66] SPADOTTO, C.A. Screening method for assesing pesticide leaching potential. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v.12, p.69–78, 2002.
- [67] SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F. Pesticide leaching potential assessment in multi-layered soils. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v.12, p.1–12, 2002.
- [68] BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Boletins anuais de produção importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em> 03 set 2018.
- [69] PAZ, V. P. S.; TEODORO, R. E. F.; MENDONÇA, F. C. Recursos hídricos, agricultura irrigada e meio ambiente. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v. 4, p. 465-473, 2000.
- [70] SPERLING, E. Afinal, quanta água temos no planeta? **Rev. Bras. Recur. Hídricos**, v. 11, p. 189-199, 2006.
- [71] BITTENCOURT, V.; PEREIRA, D. E. S. A evolução legislativa brasileira frente à problemática da água. **Revista Brasileira de Direito**, v. 10, p. 95-105, 2014.

[72] OKAFOR, N. Environmental Microbiology of Aquatic and Waste Systems. 1. ed., Springer: South Carolina, 2011, 324p.

[73] AGRAWAL, A.; PANDEY, R. S.; SHARMA, B. Water pollution with special reference to pesticide contamination in India. **J. Water Resource and Prot.**, v. 2, p.432-448, 2010.

[74] OHE, P. C.; PRÜB, A.; SCHÄFER, R. B.; LIESS, M.; DECKERE, E.; BRACK, W. Water quality indices across Europe - a comparison of the good ecological status of five river basins. **J. Environ. Monit.**, v.9, p.970-978, 2007.

[75] SCHECTER, A.; COLACINO, J.; HAFFNER, D.; PATEL, K. OPEL, M.; PÄPKE, O.; BIRBAUM, L. Perfluorinated compounds, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticide contamination in composite food samples from Dallas, Texas, USA. **Environ. Health Perspect.**, v. 118, p.796-802, 2010.

[76] WANDIGA, S. O. Use and distribution of organochlorine pesticides. The future in Africa. **Pure Appl. Chem.**, v.73, p.1147-1155, 2001.

[77] KANNAN, K.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Geographical distribution and accumulation features of organochlorine residues in fish in tropical Asia and Oceania. **Environ. Sci. Technol.**, v.29, p.2673-2683, 1995.

[78] SARWAR, M. The dangers of pesticides associated with public health and preventing of the risks. **International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering**, v.1, p.130-136, 2015.

[79] ABDOLLAHI, M.; RANKBAR, A.; SHADNIA, S; NIKFAS, S.; REZAIIE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. **Med. Sci. Monit.**, v.10, p.141-147, 2004.

[80] HERNÁNDEZ, A. F.; PARRÓN, T.; TSATSAKIS, A. M.; REQUENA, M.; ALARCÓN, R.; LÓPEZ-GUARNIDO, O. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. **Toxicology**, v.307, p.136-145, 2013.

[81] SCHWARZENBACH, R. P.; EGLI, T.; HOFSTETTER, T. B.; GUNTEN, U.; WEHRLI, B. Global water pollution and human health. **Annu. Rev. Environ. Resour.**, v.35, p.109-136, 2010.

[82] AYDINALP, C.; PORCA, M. M. The effects of pesticides in water resources. **J. Cent. Eur. Agric.**, v.5, p.5-12, 2004.

[83] KERLE, E. A.; JENKINS, J. J.; VOGUE, P.A. Understanding pesticides persistence and mobility for groundwater and surface water protection, Report EM 8561, Oregon State University Extension Service, 2007.

[84] ROSE, S. C.; CARTES, A. D. Agrochemical leaching and water contamination, In: GARCIA-TORRES, L.; BENITES, J.; MARTÍNEZ-VILELA, A.; HOLGADO-CABRERA, A. (Eds.) Conservation Agriculture: environment, farmers experiences,

innovations, socio-economy, policy, Springer Science+Business Media, Dordrecht, 2003, pp. 417-424.

[85] SITEM A. D. Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. **J. Phys. Chem. Ref. Data**, v. 30, p.187-439, 2001.

[86] SOCORRO, J.; DURAND, A.; TEMIME-ROUSSEL, B.; GLIGOROVSKI, S.; WORTHAM, H.; QUIVET, E. The persistence of pesticides in atmospheric particulate phase: an emerging air quality issue. **Sci. Rep.**, v. 6, p. 1-7, 2016.

[87] DEGRENDELE, C.; OKONSKI, K.; MELYMUK, L.; LANDLOVÁ, L.; KUKUCKA, P.; AUDY, O.; KOHOUTEK, J.; CUPR, P.; KLÁNOVÁ, J. Pesticides in the atmosphere: a comparison of gas-particle partitioning and particle size distribution of legacy and current-use pesticides. **Atmos. Chem. Phys.**, v.16, p.1531–1544, 2016.

[88] Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos. Groundwater Contamination. Disponível em: < <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/mgwc-gwc1.pdf> >. Acesso em: 03 mai 2019.

[89] CHILTON, J. Groundwater, In: CHAPMAN, D. (Ed.) Water quality assessments - a guide to use of biota, sediments and water in environmental monitoring, UNESCO/WHO/UNEP Londres, 1996.

[90] EBERTS, S. M. If groundwater is contaminated, will water from the well be contaminated? **Groundwater**, v. 52, p. 1-7, 2014.

[91] SHAKERKHATIBI, M.; MOSAFERI, M.; JAFARABADI, M. A.; LOTFI, E.; BELVASI, M. Pesticide residue in drinking groundwater resources of rural areas in the northwest of Iran. **Health Promot. Perspect.**, v.4, p.195-205, 2014.

[92] ADAMA, Groundwater and pesticides. Disponível em: < [https://www.adama.com/documents/444852/445866/36268\\_ADAMA\\_Web\\_Maint\\_2014\\_GroundWater\\_tcm13-27145.pdf/025a7684-325e-47fb-80d4-0364911a2c11](https://www.adama.com/documents/444852/445866/36268_ADAMA_Web_Maint_2014_GroundWater_tcm13-27145.pdf/025a7684-325e-47fb-80d4-0364911a2c11) >. Acesso em: 25 jun 2019.

[93] GEYIKÇI, F. Pesticides and their movement surface water and ground water, In: STOYTCHIEVA, M. (Ed.) Pesticides in the modern world, IntechOpen, Londres, 2011, pp. 411-422.

[94] SASAKOVA, N.; GREGOVA, G.; TAKACOVA, D.; MOJZISOVA, J.; PAPAJOVA, I.; VENGLOVSKY, J.; SZABOOVA, T.; KOVACOVA, S. Pollution of surface and ground water by sources related to agricultural activities. **Front. Sustain. Food Syst.**, v.2, p.1-11, 2018.

[95] WATANABE, H.; TANAKA, H. A non-ionic surfactant as a new solvent for liquid—liquid extraction of zinc(II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. **Talanta**, v.25, p.585-589, 1978.

- [96] ACCIONI, F.; GARCÍA-GÓMEZ, D.; GIRELA, E.; RUBIO, S. SUPRAS extraction approach for matrix-independent determination of amphetamine-type stimulants by LC-MS/MS. **Talanta**, v.182, p.574-582, 2018.
- [97] SHAMSIPUR, M.; ZOHRABI, P.; HASHEMI, M. Application of a supramolecular solvent as the carrier for ferrofluid based liquid-phase microextraction for spectrofluorimetric determination of levofloxacin in biological samples. **Anal. Methods**, v.7, p.9609-9614, 2015.
- [98] MORADI, M.; KASHANAKI, R.; BORHANI, S.; BIGDELI, H.; ABBASI, N.; KAZEMZADEH, A. Optimization of supramolecular solvent microextraction prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry for total selenium determination in food and environmental samples. **J. Mol. Liq.**, v. 232, p.243-250, 2017.
- [99] YIGIT, S.; TUZEN, M.; SOYLAK, M.; DOGAN, M. Supramolecular solvent microextraction of Sudan blue II in environmental samples prior to its spectrophotometric determination. **Int. J. Environ. An. Ch.**, v. 96, p. 1-8, 2016.
- [100] CABALLO, C.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents for green chemistry. In: PENA-PEREIRA, F.; TOBISZEWSKI, M. The application of green solvents in separation process. Elsevier: Amsterdam, 2017, pp. 111-137.
- [101] MEDINA, D. A. V.; CABAL, L. F. R.; SARTORE, D. M.; LIMA, A. M.; SANTOS-NETO, A. J. Solventes supramoleculares: uma alternativa na microextração em fase líquida para análises cromatográficas. **Scientia Chromatographica**, v.9, p.83-100, 2017.
- [102] LÓPEZ-JIMÉNEZ, F. J.; LUNAR, M. L.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents in the analytical process. **Eng. Life Sci.**, v.5, p.497-526, 2005.
- [103] LEE, Y. S. Self-Assembly and Nanotechnology - A Force Balance Approach. 1. ed., John Wiley & Sons Inc.: Nova Jersey, 2008, 344 p.
- [104] ISRAELACHVILI, J. N.; MITCHELL, D. J.; NINHAM, B. W. Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. **J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2**, v.72, p. 1525-1568, 1976.
- [105] LOMBARDO, D.; KISELEV, M. A.; MAGAZÙ, S.; CALANDRA, P. Amphiphiles self-assembly: basic concepts and future perspectives of supramolecular approaches. **Adv. Cond. Matter. Phys.**, v.2015, p.1-22, 2015.
- [106] GISSAWONG, N.; BOONCHIANGMA, S.; MUKDASAI, S.; SRIJARANAI, S. Vesicular supramolecular-based microextraction followed by high performance liquid chromatographic analysis of tetracyclines. **Talanta**, v.200, p.203-211, 2019.
- [107] SHOKOUHIFAR, M.; HOOSSEINI, S. M.; JAMALI, M. R. Decanoic acid reverse micelle-based coacervates for microextraction of silver in natural waters prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.27, p.2114-2119, 2016.

[108] WANG, M.; WANG, Y. Development of surfactant coacervation in aqueous solution. **Soft Matter**, v.10, p.7909-7919, 2014.

[109] JAVIER-RUIZ, F.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO D. Water-induced coacervation of alkyl carboxylic acid reverse micelles: phenomenon description and potential for the extraction of organic compounds. **Anal. Chem.**, v.79, p.7473-7484, 2007.

[110] AMJADI, M.; MANZOORI, J. L.; TALEB, Z. Reverse micelle coacervate-based extraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of arsenic in water and oyster tissue samples. **Microchim. Acta**, v. 169, p. 187-193, 2010.

[111] EZODDIN, M.; ADLNASAB, L.; KAVEH, A. A.; KARIMI, M. A. Ultrasonically formation of supramolecular based ultrasound energy assisted solidification of floating organic drop microextraction for preconcentration of methadone in human plasma and saliva samples prior to gas chromatography–mass spectrometry. **Ultrason. Sonochem.**, v.50, p.182-187, 2019.

[112] SANTALAD, A.; SRIJARANAI, S.; BURAKHAM, R.; GLENNON, J. D.; DEMING, R. L. Cloud-point extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography for the determination of carbamate insecticide residues in fruits. **Anal. Bioanal. Chem.**, v.394, p.1307-1317, 2009.

[113] JIA, G. F.; LV, C. G.; ZHU, W. T.; QIU, J.; WANG, X. Q.; ZHOU, Z. Q. Applicability of cloud point extraction coupled with microwave-assisted back-extraction to the determination of organophosphorous pesticides in human urine by gas chromatography with flame photometry detection. **J. Hazard. Mater.**, v.159, p.300-305, 2008.

[114] CHEN, J.-B.; ZHAO, W.-J.; LIU, W.; ZHOU, Z.-M.; YANG, M.-M. Cloud point extraction coupled with derivative of carbofuran as a preconcentration step prior to HPLC. **Food Chem.**, v.115, p.1038-1041, 2009.

[115] ZAREI, A. R. Cloud point formation based on mixed micelle in the presence of electrolyte for extraction, preconcentration, and spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in water and biological samples. **Anal. Biochem.**, v.369, p.161-167, 2007..

[116] ZHOU, J.; CHEN, J.; CHENG, Y.; LI, D.; HU, F.; LI, H. Determination of prometryne in water and soil by HPLC-UV using cloud-point extraction. **Talanta**, v.79, p.189-193, 2009.

[117] ZHOU, Z.; CHEN, J.; ZHAO, D.; YANG, M. Determination of four carbamate pesticides in corn by cloud point extraction and high-performance liquid chromatography in the visible region based on their derivatization reaction. **J. Agr. Food Chem.**, v.57, p.8722-8727, 2009.

[118] MORAL, A.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvent-based extraction of benzimidazole fungicides from natural waters prior to their liquid

chromatographic/fluorimetric determination. **J. Chromatogr. A**, v.1216, p.3740-3745, 2009.

[119] ZOHRABI, P.; SHAMSIPUR, M.; HASHEMI, M.; HASHEMI, B. Liquid-phase microextraction organophosphorus pesticides using supramolecular solvent as a carrier for ferrofluid. **Talanta**, v.160, p.340-346, 2016.

[120] AMIR, S.; JAN, M. R.; SHAH, J. Efficient environment friendly method for microextraction of dinitroaniline herbicides using supramolecular solvent. **Int. J. Environ. An. Ch.**, 2019. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03067319.2019.1683550>>. Acesso em: 03 jan 2020.

[121] PEYROVI, M.; HADJMOHMMADI, M. Alkanol-base supramolecular solvent microextraction of organophosphorus pesticides and their determination using high-performance liquid chromatography. **J. Iran. Chem. Soc.**, v.14, p.995-1004, 2017.

[122] SOUZA, J. M. O.; TARLEY, C. R. T. Sorbent separation and enrichment method for cobalt ions determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry in water and urine samples using multiwall carbon nanotubes. **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 89, p. 489–502, 2009.

[123] CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Anal. Chim. Acta**, v. 391, p. 105-126, 1999.

[124] BORMAN, P.; ELDER, D. Q2(R1) Validation of Analytical Procedures. In: TEASDALE, A.; ELDER, D.; NIMS, R. W. ICH Quality Guidelines: An Implementation Guide. Nova Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2018, p. 127-166.

[125] SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chron. Young Sci.**, v. 2, p.21-25, 2011.

[126] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017: Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>. Acesso em: 30 ago 2018.

[127] BIENIEK, D. D.; BESSEGATO, T. C.; SANSONE, P. E. S.; DALLA COSTA, T.; GUTERRES, S.S.; CONRADO, D. J.; HAAS, S. E. Validação de metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência para doseamento de clozapina em nanopartículas poliméricas. **Perspectiva**, v.35, p.17-26, 2011.

[128] CHRISTOFFOLETI, P. J.; OVEJERO, R. F. L.; DAMIN, V.; CARVALHO, S. J. P.; NICOLAI, M. Comportamento dos herbicidas aplicados ao solo na cultura da cana-de-açúcar. 1. ed., ESALQ: Piracicaba, 2008, 73p.

[129] MONACO, T. J.; WELLER, S. C.; ASHTON, F. M. Weed science: principles & practices, 4. ed., John Wiley & Sons, Inc.: Nova Iorque, 2002, 671p

- [130] REDDY K. N.; LOCKE M. A. Molecular Properties as Descriptors of Octanol-Water Partition Coefficients of Herbicides. **Water Air Soil Pollut.**, v. 86, p. 389-405, 1996.
- [131] HORNSBY A. G.; WAUCHOPE R. D.; HERNER A. E. Pesticide Properties in the Environment. 1. ed., Springer-Verlag: Nova Iorque, 1996, 227 p.
- [132] PRATA F.; LAVORENTI A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Rev. Biociên.**, v. 6, p. 17-22, 2000.
- [133] WONG, A.; OLIVEIRA, F. M.; TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Study on the cross-linked molecularly imprinted poly(methacrylic acid) and poly(acrylic acid) towards selective adsorption of diuron. **React. Func. Polym.**, v. 100, p. 06-36, 2016.
- [134] Environment and Climate Change Canada. Screening Assessment for the Challenge Urea, N'-(3,4-dichlorophenyl)-N,N-dimethyl-(Diuron). Disponível em: <<https://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=6BC4E5D3-1>>, Acesso em: 05 jul 2018.
- [135] CHANG, S. S.; STRITZKE, J. F. Sorption, Movement, and Dissipation of Tebuthiuron in Soil. **Weed Sci.**, v. 25, p. 184-187, 1977.
- [136] FONSECA, R. J.; SEGATELLI, M. G.; BORGES, K. B.; TARLEY, C. R. T. Synthesis and evaluation of different adsorbents based on poly (methacrylic acid-trimethylolpropane trimethacrylate) and poly (vinylimidazole-trimethylolpropane trimethacrylate) for the adsorption of tebuthiuron from aqueous medium. **React. Func. Polym.**, v. 03, p. 01-09, 2015.
- [137] SHOKROLLAHI, A.; PILI, H. B. Supramolecular based-ligandless ultrasonic assisted-dispersion solidification liquid-liquid microextraction of uranyl ion prior to spectrophotometric determination with dibenzoylmethane. **RSC Adv.**, v. 06, p. 2394-2401, 2016.
- [138] BEZERRA, M. A.; FERREIRA, S. L. C. Extração em ponto nuvem: princípios e aplicações em química analítica. 1. ed., Edições UESB: Vitória da Conquista, 2006, 168 p.
- [139] GODOY, N. V.; SOMERA B. F.; BARRETO W. J.; BARRETO, S. R. G.; TARLEY, C. R. T. Evaluation of DMIT [4,5-Dimercapto-1,3-Dithiol-2-Thionate as chelating agent in a cloud point extraction procedure for Pb<sup>2+</sup> determination in water samples. **Acta Sci. Technol.**, v. 35, p. 379-385, 2013.
- [140] WANG, S.; REN, L.; LIU, C.; GE, J.; LIU F. Determination of five polar herbicides in water samples by ionic dispersive liquid-phase microextraction. **Anal. Bioanal. Chem.**, v.397, p. 3089-3095, 2010.

- [141] HURLE, K. B.; FREED, V. H. Effect of electrolytes on the solubility of some 1,3,5-triazines and substituted ureas and their adsorption on soil. **Weed Res.**, v.12, p. 1-10, 1972.
- [142] ZHOU Q.; BAI H.; XIE G.; XIAO J. Temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase micro-extraction. **J. Chromatogr. A**, v.1177, p. 43–49, 2008.
- [143] NORONHA, L. M. S.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; OLIVEIRA, A. F. Evaluation of the effects of Hofmeister series on salting out in the determination of organophosphorous pesticides and pyrethroids by LDS/DLLME. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.26, p. 1897-1901, 2015.
- [144] PORTUGAL, F. C. M.; PINTO, M. L.; NOGUEIRA, J. M. F. Optimization of polyurethane foams for enhanced stir bar sorptive extraction of triazinic herbicides in water matrices. **Talanta**, v.77, p. 765-773, 2008.
- [145] TRAN A. T. K.; HYNE, R. V.; DOBLE, P. Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage water in Australia by HPLC. **Chemosphere**, v.67, p. 944-953, 2007.
- [146] BRONDI, S. H. G.; RODRIGUES DA SILVA, J. C.; LANÇAS, F. M. Development and validation of a methodology for the determination of pesticides in water by SPME-LC/DAD. **J. Liq. Chromatogr. Related Technol.**, v.28, p. 2909-2919, 2005.
- [147] CARBO, L.; SOUZA, V.; DORES, E. F. G. C.; RIBEIRO, M. L. Determination of pesticides multiresidues on shallow groundwater in a cotton-growing region of Mato Grosso, Brazil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.19, n.06, p. 1111-1117, 2008.
- [148] SARAJI M.; TANSAZAN N. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of phenylurea herbicides in water samples by HPLC-diode array detection. **J. Sep. Sci.**, v.32, p. 4186-4192, 2009.
- [149] TUZIMSKI T. Determination of analytes in medical herbs extracts by SPE coupled with two-dimensional planar chromatography in combination with diode array scanning densitometry and HPLC-diode array detector. **J. Sep. Sci.**, v.34, p. 27-36, 2010.
- [150] FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. N.; GOMES, M. A. F.; SANTOS, G. L. Método para a determinação de hexazinone e tebuthiuron em água. **Quim. Nova**, v.28, p.380-382, 2005.
- [151] BRONDI, S. H. G.; LANÇAS, F. M. Development and validation of a multi-residue analytical methodology to determine the presence of selected pesticides in water through liquid chromatography, **J. Braz. Chem. Soc.**, v.16, n.3B, p.650–653, 2005.
- [152] MILLERO, F. J. *Chemical Oceanography*, 4. ed. CRC Press: Boca Raton, 2013, 571 p.

- [153] EL MAATAOUI, Y.; M'RABET, M.; MAAROUFI, A.; OUDDA, H. DAHCHOUR, A. Adsorption isotherm modeling of carbendazim and flumetsulam onto homoionic-montmorillonite clays: comparison of linear and nonlinear models. **Turk. J. Chem.**, v.41, p.514-524, 2017;
- [154] CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. **Quím. Nova**, v.31, n.8, 1982-1986, 2008.
- [155] DO, J. A.; LEE, M. H., PARK, H.; KANG, I. H.; KWON, K.; OH, J. H. Development and Validation of Analytical Methods for Picoxystrobin Determination in Agricultural Products by GC-ECD and GC-MS. **J. Fd Hyg. Safety**, v.27, n.4, p.332-338, 2012.
- [156] PESQUEIRA, A. S.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Associação de fungicidas no controle da antracnose da soja no Mato Grosso do Sul. **Rev. Ciên. Agron.**, v. 47, n. 01, p. 203-212, 2016.
- [157] GOMES, Y. C. B.; DALCHIAVON, F. C.; VALADÃO, F. C. A. Joint use of fungicides, insecticides and inoculants in the treatment of soybean seeds. **Rev. Ceres**, v. 64, n. 03, p. 258-265, 2017.
- [158] BARROS, R. G.; BARRIGOSI, J. A. F.; COSTA, J. L. S. Efeito do armazenamento na compatibilidade de fungicidas e inseticidas, associados ou não a um polímero no tratamento de sementes de feijão. **Bragantia**, v. 64, n. 03, p. 459-465, 2005.
- [159] ANDRADE, A. S.; QUEIROZ, V. T.; LIMA, D. T.; DRUMOND, L. C. D.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES A. A. Análise de risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas em município do alto paranaíba - MG. **Quim. Nova**, v.34, p.1129-1135, 2011.
- [160] SILVA, D. R. O.; AVILA, L. A.; AGOSTINETTO, D.; BUNDT, A. D. C. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. **Quim. Nova**, v.34, p.748-752, 2011.
- [161] SUBHANI, Q.; HUNANG, Z.; ZHU, Z. ZHU, Y. Simultaneous determination of imidacloprid and carbendazim in water samples by ion chromatography with fluorescence detector and post-column photochemical reactor. **Talanta**, v.116, p.127-132, 2013.
- [162] POURREZA, N.; RASTEGARZADEH, S.; LARKI, A. Determination of fungicide carbendazim in water and soil samples using dispersive liquid-liquid microextraction and microvolume UV-vis spectrometry. **Talanta**, v. 134, p.24-29, 2015.
- [163] ROBERTS, T.; HUSTON, D. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part II: Insecticides and Fungicides. 1. ed. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1999, 1475 p.

- [164] GUNASEKARA, A. S.; TRUONG, T.; GOH, K. S.; SPURLOK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **J. Pestic. Sci.**, v. 32, n.03, p. 189-199, 2007.
- [165] DORNELLAS, R. M.; FRANCHINI, R. A. A.; AUCELIO, R. Q. Determination of the fungicide picoxystrobin using anodic stripping voltammetry on a metal film modified glassy carbon electrode. **Electrochim. Acta**, v. 97, p. 202-209, 2013.
- [166] BARTLETT, D. W.; CLOUGH, J. M.; GODWIN, J. R.; HALL, A. A.; HAMER, M.; PARR-DOBZANSKI, B. The strobilurin fungicides. **Pest. Manag. Sci.**, v.58, p. 649-662, 2002.
- [167] TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Quim. Nova**, v. 29, n. 02, p. 338-350, 2006.
- [168] DERRINGER G.; SUICH R. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. **J. Qual. Technol.**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.
- [169] NETO B. B.; SCARMINIO I. S.; BRUNS, R. E. Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. 4. ed. Bookman Editora: Porto Alegre, 2010, 414 p.
- [170] SCHEEL, G. L.; OLIVEIRA, F. M.; OLIVEIRA, L. L. G.; MEDEIROS, R. A.; NASCENTES, C. C.; TARLEY, C. R. T. Feasibility study of ethylone determination in seized samples using boron-doped diamond electrode associated with solid phase extraction. **Sens. Actuators B Chem.**, v. 259, p. 1113-1122, 2018.
- [171] ENDO, S.; PFENNIGSDORFF, A.; GOSS, K. U. Salting-out effect in aqueous NaCl solutions: trends with size and polarity of solute molecules. **Environ. Sci. Technol.**, v. 46, p. 1496-1503, 2012.
- [172] SUBHANI, Q.; HUANG, Z.; ZHU, Z.; ZHU, Y. Simultaneous determination of imidacloprid and carbendazim in water samples by ion chromatography with fluorescence detector and post-column photochemical reactor. **Talanta**, v.116, p.127-132, 2013.
- [173] POURREZA, N.; RASTEGARZADEH, S.; LARKI, A. Determination of fungicide carbendazim in water and soil samples using dispersive liquid-liquid microextraction and microvolume UV-Vis spectrophotometry. **Talanta**, v. 134, p.24-29, 2015.
- [174] MA, J.; YAO, Z.; HOU, L.; LU, W.; YANG, Q; LI, J.; CHHEN, L. Metal organic frameworks (MOFs) for magnetic solid-phase extraction of pyrazole/pyrrole pesticides in environmental water samples followed by HPLC-DAD determination. **Talanta**, v. 161, p. 686-692, 2016.
- [175] CAMPILLO, N.; VIÑAS, P.; AGUINAGA, N.; FÉREZ, G.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of strobilurin fungicides in fruit samples. **J. Chromatogr. A**, v. 1217, p. 4529-4534, 2010.

- [176] DORNELLAS, R. M.; FRANCHIHNI, R. A. A.; AUCELIO, R. Q. Determination of the fungicide picoxystrobin using anodic stripping voltammetry on a metal film modified glassy carbon electrode. **Electrochim. Acta**, v. 97, p. 202-209, 2013.
- [177] RIBEIRO, A. C. A.; DORES, E. F. G. C.; AMORIM, R. S. S.; LOURENCETTI, C. Resíduos de pesticidas em águas superficiais de área de nascente do rio São Lourenço-MT: validação de método por extração em fase sólida e cromatografia líquida. **Quim. Nova**, v. 36, p.284-290, 2013.
- [178] LUI, Y.; ZHAO, E.; ZHU, W.; GAO, H.; ZHOU, Z. Determination of four heterocyclic insecticides by ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction in water samples. **J. Chromatogr. A**, v. 1216, p. 885-891, 2009.
- [179] HELAL, A. A.; IMAM, D. M.; KHALIFA, S. M.; ALY, H. F. Interaction of pesticides with humic compounds and their metal complexes. **Radiochemistry**, v.48, p.419-425, 2006.
- [180] PENG, X.-T.; LI, Y.-N.; XIA, H.; PENG, L.-J. Rapid and sensitive detection of fipronil and its metabolites in edible oils by solid-phase extraction based on humic acid bonded silic combined with gas chromatography with electron capture detection. **J. Sep. Sci.**, v.39, p.2196-2203, 2016.
- [181] THURMAN, E. M. Organic geochemistry of natural waters. 1. ed., Martinus Nijhoff/Dr. W Junk Publishers, Dordrecht, 1985, 497p.
- [182] KURZ, M. H. S.; MARTEL, S.; GONÇALVES, F. F.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B. Development of a fast method for the determination of the insecticide fipronil and its metabolites in environmental waters by SPE and GC-ECD. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.24, p.631-638, 2013.
- [183] MAHLER, B. J.; METRE, P. C.; WILSON, J. T.; MUSGROVE, M. Fipronil and its degradates in indoor and outdoor dust. **Environ. Sci. Technol.**, v.43, p.5665-5670, 2009.

## ANEXO A – ARTIGO PUBLICADO

Microchemical Journal 133 (2017) 650–657



Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/microc](http://www.elsevier.com/locate/microc)

## Feasibility of supramolecular solvent-based microextraction for simultaneous preconcentration of herbicides from natural waters with posterior determination by HPLC-DAD

Guilherme Luiz Scheel<sup>a</sup>, César Ricardo Teixeira Tarley<sup>a,b,\*</sup><sup>a</sup> Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rod. Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, Londrina, PR CEP 86051-990, Brazil<sup>b</sup> Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) de Bioanalítica, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Cidade Universitária Zeferino Vaz s/n, Campinas, SP CEP 13083-970, Brazil

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 13 November 2016

Received in revised form 5 March 2017

Accepted 7 March 2017

Available online 9 March 2017

## Keywords:

Microextraction

Supramolecular based-solvent

1-decanol reverse micelles

Sugarcane herbicides

Water matrices

Liquid chromatography

## ABSTRACT

A supramolecular solvent-based microextraction procedure for preconcentration of four most common sugarcane herbicides (diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron) from groundwater and surface water samples with further determination by High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array detector (HPLC-DAD) is proposed. The proposed method involves the use of a supramolecular solvent in which reverse micelles of 1-decanol are dispersed in tetrahydrofuran/water. The extraction of four herbicides performed at pH 4.0 requires low sample volume (10.0 mL), low extraction time (30 s of extraction and 10 min of centrifugation), low amount of organic solvents (50  $\mu\text{L}$  of 1-decanol and 100  $\mu\text{L}$  of THF) and provides high preconcentration factors (48.5 to diuron, 15.1 to hexazinone, 47.4 to ametryn and 21.0 to tebuthiuron). The limits of detection (LOD), quantification (LOQ), the precision (RSD) and the accuracy (RE) of the developed method ranged between 0.13 and 1.45  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 0.43–4.85  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 2.4–6.8% and 0.6–6.2%, respectively. Recovery values obtained by applying the proposed method in spiked groundwater and surface water samples at  $\mu\text{g L}^{-1}$  levels varied in the range of 95–111%. The quantification of some analyzed herbicides in natural waters showed clearly the importance of investigates herbicides concentrations in regions of sugarcane cultivation predominance.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron are herbicides widely utilized worldwide and in Brazil they represent 70% of all herbicides applied in sugarcane crops [1]. They are highly efficient in electron transport inhibition in photosynthesis and persistent (low degradation rate) in the environment without undergoing any change [2–5]. Due to persistence in the environment and mobility, traces are often detected on water surfaces and, in some cases, groundwater [6–9]. The frequent detection in natural water is a major concern to the public, authorities and all those involved in production of drinking water, wastewater treatment and water reuse applications due to the potentially adverse effects to health associated with these compounds even in slight concentrations [10].

Several regulations and international standards define maximum concentrations of these herbicides [11]. European Union establishes the maximum value in drinking water at a concentration of 0.1  $\mu\text{g L}^{-1}$  for any individual pesticide or 0.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  for total pesticide levels [12]. Maximum allowed levels in drinking water for ametryn, hexazinone,

diuron and tebuthiuron to no lifetime harm established by United States Environmental Protection Agency (USEPA) have been 0.06, 0.4, 0.01 and 0.5  $\text{mg L}^{-1}$ , respectively [13,14]. The maximum acceptable values, according to regulation in New Zealand in drinking water are 20.0  $\mu\text{g L}^{-1}$  to diuron and 400  $\mu\text{g L}^{-1}$  to hexazinone [15]. Drinking water guidelines in Australia established health values to ametryn, diuron and hexazinone of 70.0, 20.0 and 400.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively [16]. Canadian guidelines of tebuthiuron levels in irrigation water, livestock water and freshwater are limited in 0.27, 130.0 and 1.6  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively [17,18]. For drinking water quality, Canadian guidelines maximum accepted concentration for diuron is 150  $\mu\text{g L}^{-1}$  [19]. According with those strict regulations, technologies development to analyze water polluted by herbicides are extremely essential.

Currently, herbicides are mainly determined by chromatographic methods. High performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HPLC-MS) and photodiode array detection (HPLC-DAD) are widely used for herbicides monitoring. Tandem mass spectrometry (MS/MS) is usually used to confirm identification of selected herbicides, while photodiode array detection (DAD) can be utilized for simultaneous screening by being particularly simple, rapid and specific [20, 21]. However, due to concentration at trace levels and the possible presence of interfering compounds in water samples, the reliable analysis

\* Corresponding author.

E-mail address: [tarley@uel.br](mailto:tarley@uel.br) (C.R.T. Tarley).

and detection of herbicides became a challenge. Sample pretreatments efficiently economic and miniaturized have been developed and applied for extraction and preconcentration of herbicides in aqueous samples to improve detection [20–24]. Among them, pretreatment with supramolecular solvents (SUPRASs) is distinguished by the capability to extract analytes such as herbicides, through the formation of mixed aggregates with the amphiphiles making up ordered aggregates. SUPRASs are also advantageous due to low consumption of chemical solvents; enable polar interactions (reverse micelles) and present high solubilization ability with low solvent volumes [25,26].

SUPRASs are water-immiscible liquids composed by a sequential self-assembly of amphiphilic molecules at the molecular and nanoscales. Self-assembly of amphiphilic molecules occurs in the solution at a critical aggregation concentration. The unique capability of change polarity at different zones allows SUPRASs to dissolve, concentrate, compartmentalize, organize and localize analytes in a very wide range of polarities, creating a specific media to isolate target compounds [25–28]. In tetrahydrofuran (THF)/water solution, reverse micelle-based SUPRASs aggregate of alkanols spontaneously forms aqueous cavities surrounded by the polar groups of alkanols with the hydrocarbon chains dissolved in THF. Forces driving extraction are hydrogen bonding and hydrophobic, the former being an extremely effective solubilization mechanism for polar compounds. This nanostructured liquid provides an excellent reaction media for extraction process of organic compounds as well as metallic complex [27–30].

In this report, a new method was developed which advances in extracting efficiency and promotes highly improved sensitivity of HPLC-DAD for simultaneous determination diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron in water samples utilizing a tailored supramolecular solvent. To produce the reverse micelle-based SUPRASs aggregates of alkanols, the solvent 1-decanol was utilized in THF/water solutions. The main results obtained in optimization studies, analytical features evaluation and analysis of real water samples are presented and discussed.

## 2. Experimental

### 2.1. Reagents and standards

All reagents utilized were of analytical or HPLC grade and all working solutions were prepared in ultrapure water (18.2 M $\Omega$  cm) from a Millipore® purification system (Bedford, MA, USA). HPLC-grade acetonitrile, THF and 1-decanol were acquired from Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, USA) while methanol (99.9%) from Panreac® (Barcelona, Spain). The herbicides standards for diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron were all acquired from Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, USA). Individual herbicides solutions containing 1000 mg L<sup>-1</sup> were prepared in methanol and stored in dark glass bottles in refrigerator. Under these conditions, they were stable for at least 1 month. Working solutions containing the herbicides were prepared daily from the stock solutions by dilution with ultrapure water. Analytical grade sodium chloride was provided by Fmaia® (Cotia, SP, Brazil).

### 2.2. Apparatus

Solutions pH values were measured with a Metrohm® pH 827 lab digital pH meter (Herisau, Switzerland). A vortex oscillator SCIOGEX® MX-S (Rocky Hill, CT, USA) was utilized to assist the supramolecular solvent-based microextraction procedure and a centrifuge QUIMIS® 0222T2 (Diadema, SP, Brazil) was used to phase separation process. The chromatographic measurements were performed on a Shimadzu® High Performance Liquid Chromatograph LC – 20AD/T LPGE KIT (Tokyo, Japan) operating in gradient elution equipped with a stationary phase constituted by a Gemini C<sub>8</sub> column (5  $\mu$ m  $\times$  250 mm  $\times$  4.6 mm) from Phenomenex® (Torrance, California, EUA), a diode array detector in 254 nm, injection volume of 20  $\mu$ L and oven temperature of 30 °C.

The flow rate of mobile phase at 1.0 mL min<sup>-1</sup> consisted in a binary linear gradient of acetonitrile and water (ACN:H<sub>2</sub>O, v/v). The gradient consisted of: ACN:H<sub>2</sub>O (30:70, v/v), 0.00–11.00 min; ACN:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), 11.00–11.01 min; ACN:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), 11.01–24.00 min. To stabilize the column for subsequent analysis, the initial gradient was percolated by six minutes. The herbicides retention times were 9.56, 10.57, 19.57 and 21.87 min to tebuthiuron, hexazinone, diuron and ametryn, respectively.

### 2.3. Supramolecular solvent microextraction procedure

Volumes of 50  $\mu$ L of 1-decanol and 100  $\mu$ L of THF were added into 10.0 mL aqueous herbicide solution at pH 4.0 and containing 5% NaCl (w/v). Afterwards, the mixture was stirred by a vortex oscillator during 30 s, which is sufficient to spontaneously form supramolecular solvent into the bulk solution. Then, the mixture was centrifuged at 2000 rpm for 10 min to complete the supramolecular solvent separation due being less dense than water. With a Hamilton® 50  $\mu$ L fixed needle syringe model 1705 N (Reno, NV, USA) the solvent was withdrawn and transferred to microtubes, diluted in methanol (1:1 v/v) to homogenize and analyzed.

### 2.4. Optimization procedures

The effect of experimental variables on the extraction efficiency of herbicides in water was investigated by changing each variable in turn while keeping the others previously fixed. The concentration of herbicides and the preconcentration volume were set as 200.0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> and 10.0 mL, respectively. Measurements were made in duplicate. Selection of the optimal conditions was based on chromatographic areas values. The influence of pH range (3.00–8.00), salting out effect (1.0–10.0% NaCl, m/v), salt type (NaCl, NaNO<sub>3</sub> and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1-decanol/THF volume and vortex stirring time (0.5–5.0 min) were investigated in the respective order.

### 2.5. Figures of merit procedure

The figures of merit were determined under optimized condition, using preconcentration volume of 10.0 mL. The PF (preconcentration factor) values were calculated by ratio of slopes of analytical curve with and without preconcentration step [31]. Linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), inter/intraday precision, accuracy and confidence interval were also obtained upon applying the developed method in accordance with international regulations [32, 33]. LOD and LOQ were determined by using chromatographic area values of blank solutions. The LOD and LOQ were determined as 3SD/S and 10SD/S, respectively, where SD is the standard deviation of ten blank measurements, and S is the slope of the calibration curve with preconcentration. Inter/intraday precision, accuracy and confidence intervals were calculated with two standard solutions containing 5.0 and 400.0  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. The relative standard deviations (RSD, %) were calculated to determine the precision. Accuracy was determined by the calculation of relative error percentage (RE, %) [32,33].

### 2.6. Sample collection and preservation

Surface water samples were taken from three different streams located in Assis and Taramã cities from São Paulo State and Araçatuba city from Paraná State, Brazil. Groundwater samples were collected in one well located in Assis city. All samples were collected in dark glass containers and adjusted to pH 2.00 by the addition of concentrated sulfuric acid. Then, they were filtered through 0.45  $\mu$ m Nylon® filters (GVS Filter Technology, Morecambe, UK) in order to remove suspended particles and stored in refrigerator under light protection until analysis.

## 2.7. Computation programs

All chromatographic area values were processed utilizing the software LabSolutions® LC solution version 1.25 (Shimadzu, Tokyo, Japan). Graphical representation and statistical analysis were made by the software Origin® Pro 8 SR0 v8.0724(B724) (Origin Lab Corporation, MA, USA).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Supramolecular solvent-based microextraction of herbicides

#### 3.1.1. Solvent binding capability and herbicides properties

Understand interactions between solvent and analytes are important to assemble an efficient extraction scheme. By being an n-alkanol, 1-decanol does not dissociate ( $pK_a \sim 15$ ) and retains its ordered structure throughout the pH range. Reverse micelles of 1-decanol may solubilize solutes based on hydrophobic interactions in the hydrocarbons tails, and hydrogen bonds in the alcohol polar groups [25–27]. These solvent-analyte associations should permit the development of robust and efficient microextraction methods. On the other hand, the analyzed herbicides have their own particularities, which in turn may affect microextraction, as exemplified in Table 1 and further discussed.

The ametryn herbicide has hydrophilic and hydrophobic functionalities which confers a double solubility behavior and assists the microextraction. The nitrogens electron pairs in  $sp^3$  configuration, contained in the aromatic ring, readily form hydrogen bonds with water molecules conferring hydrophilic character and considerable solubility, while the lateral alkylamino chains present hydrophobic character corroborating with the highest  $\text{Log } K_{ow}$  value of all analyzed herbicides. By being one weak base ( $pK_a = 4.1$ ) and depending on the pH of the aqueous system, ametryn may exist on its neutral or protonated form. The most basic nitrogen of the aromatic ring located between the alkylamino chains is the most likely protonation site [1,34,35]. Hexazinone, an asymmetric triazine which belongs to the triazinone group, is the most soluble of the analyzed herbicides and, consequently, presents the lowest  $\text{Log } K_{ow}$  value [35]. Bearing in mind these characteristics, hexazinone exhibits a pronounced hydrophilic character and interacts more with water, hindering interactions with the supramolecular solvent. Moreover, hexazinone is a weak base ( $pK_a =$

2.2) with protonation in the triazine ring and thus above pH 3.0 it mainly exists in its molecular form [1].

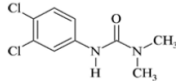
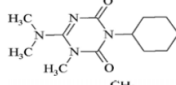
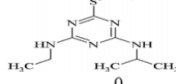
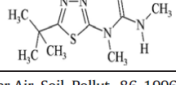
Despite being of the same group, the substituted urea herbicides diuron and tebuthiuron have different behaviors. Diuron is slightly soluble in water and presents higher  $\text{Log } K_{ow}$  value, thus suggesting higher hydrophobic character [34–36]. Such feature is responsible for maintaining its high persistence in the environment [36] and allows interactions with the supramolecular solvent. Taking into account the  $pK_a$  values ( $pK_{a1} = 13.55$ ,  $pK_{a2} = -1.09$  and  $pK_{a3} = -2.08$ ), it is possible to infer that diuron exists only in its molecular form under a wide pH range [38,39].

Tebuthiuron differs from most of other substituted urea herbicides by having a thiadiazol group substituted in place of the phenyl group. Also, tebuthiuron is more water soluble than substituted urea herbicides and presents low  $\text{Log } K_{ow}$  value [34,35,40]. Therefore, due to its high hydrophilic characteristic, the interaction of tebuthiuron with supramolecular solvent may be less effective. Additionally, by being considered a weak base ( $pK_a = 1.2$ ), above pH 2.0 this compound exists mainly in its molecular form [37].

#### 3.1.2. Optimization

The sample pH plays an important role on the supramolecular solvent microextraction because exerts influence on the supramolecular solvent formation as well as on the dissociation of target analytes with acid-base character [41,42]. As shown in Fig. 1a the decrease of pH increase the extraction efficiency, except by ametryn in which at pH 3.0 the extraction was decreased, which may be explained most likely due to its protonated form. Molecular ionic forms created by the weak base protonation (or weak acid deprotonation) usually interacts weakly with the micellar aggregate than its neutral form, resulting in a smaller extracted amount [42]. Regarding the others herbicides and ametryn until pH 4.00, the continuous increase of analytical signal under acid region may be justified by stabilization of micellar environment. Reverse micelles should be thermodynamically stable between the repulsive forces from the polar head groups and the attractive hydrophobic force. Hence, acid medium favors the stabilization of the repulsive forces from the polar head groups, favoring/increasing the reverse micellar formation and, as consequence, the analytes extraction [43]. Therefore, pH 4.00 was chosen for further experiments due to satisfactory extraction efficiency for all herbicides.

**Table 1**  
Physical and chemical properties of analyzed herbicides.

Herbicides	Chemical structure	$\text{Log } K_{ow}^{a,c}$	Solubility in water ( $\text{mg L}^{-1}$ , 20–25 °C) <sup>a,b</sup>	$pK_a$
Diuron		2.68	42	13.55 <sup>d,e</sup> –1.09 <sup>e</sup> –2.48 <sup>e</sup>
Hexazinone		1.05	33,000	2.2 <sup>c</sup>
Ametryn		2.98	185	4.1 <sup>c</sup>
Tebuthiuron		1.79	2500	1.2 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> K. N. Reddy, M. A. Locke, Water Air, Soil. Pollut., 86, 1996.

<sup>b</sup> H. M. Lebaron et al., The Triazine Herbicides, first ed., Elsevier, Amsterdam, 2008.

<sup>c</sup> A. G. Hornsby et al., Pesticide Properties in the Environment, first ed., Springer-Verlag, New York, 1996.

<sup>d</sup> A. Wong et al., React. Func. Polym., 100, 2016.

<sup>e</sup> Environment and Climate Change Canada, Screening Assessment for the Challenge Urea, N'-(3,4-dichlorophenyl)-N,N-dimethyl-(Diuron), 2011.

<sup>f</sup> R. J. Da Fonseca et al. React. Func. Polym., 03, 2015.

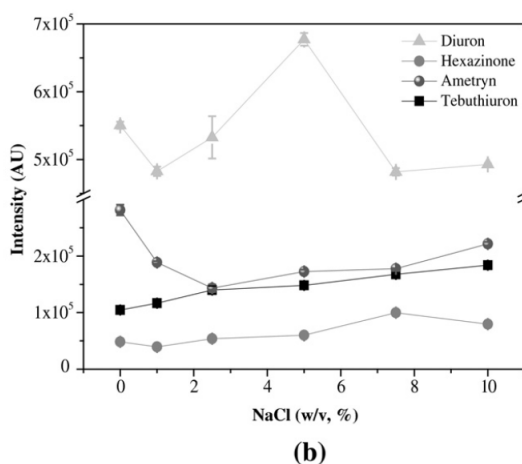
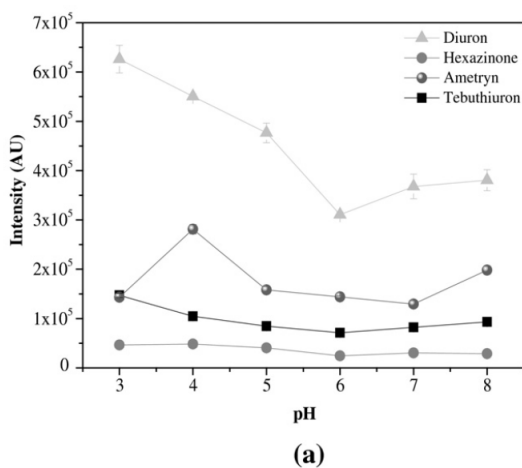


Fig. 1. Effect of a) pH and b) NaCl concentration (at pH 4.00) on the supramolecular microextraction of herbicides. Experimental conditions: herbicides concentration, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; amount of 1-decanol, 150  $\mu\text{L}$ ; amount of THF, 600  $\mu\text{L}$ ; stirring time, 2 min ( $n = 2$ ).

In most sample pretreatment techniques, the addition of salt often increases the extraction performance due to the salting out effect [44, 45]. In general, the salting out effect decreases the solubility of herbicides in aqueous medium, thus making them more available to interact with the supramolecular solvent [46]. The effect of salting out on the method was investigated over a sodium chloride concentration range of 1.0–10.0% NaCl (w/v), and the experimental results are shown in Fig. 1b. It was found that the use of 5.0% NaCl (w/v) provides a slight analytical gain for the most herbicides. However, for ametryn, the salt addition provided decreases on analytical response due to the interaction between the protonated molecule with the added anions in solution. A slight decrease is evidenced to diuron and hexazinone when 1.0% NaCl (w/v) was added. In general, a small amount of salt can promote the dissolving of analytes in aqueous solution and salting out occurs when the salt amount surpasses a determined limit [47]. Regarding tebuthiuron, it was observed a slight gradual increase on analytical signal with the salt addition. For diuron, an interesting behavior was observed whose the optimum NaCl content was found to be 5.0% (w/v). This behavior may be attributed most likely due to its intermediate polarity, in which for a lower salt content, there exist an initial decrease in the solvation, thus providing a more amenable extraction. However, for higher salt

content (8 and 10%, w/v), the interaction between the salt ions and diuron predominates, thus reducing the capacity of herbicide to interact with the supramolecular solvent [48]. Bearing in mind these observed results, 5.0% (w/v) as optimum concentration of NaCl was chosen for further experiments.

The addition of electrolytes is important to induce salting out effect, however ions-specific effects may also exert an important influence on the efficiency of analytes extraction [49]. Thus, the study of different sodium salts (NaCl, NaNO<sub>3</sub> and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) at 5.0% (w/v) concentration on herbicides extraction was investigated. The results for diuron showed higher analytical signal using NaCl as compared to the others electrolytes (Fig. 2a). From the achieved results for ametryn, the addition of any type of salt decreases the extraction due to the presence of protonated ametryn. In regards to tebuthiuron and hexazinone, similar analytical signals were obtained with NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. According to obtained results and taking into account the application of method for multiresidue analysis, NaCl at 0.5% (w/v) concentration was chosen for further experiments.

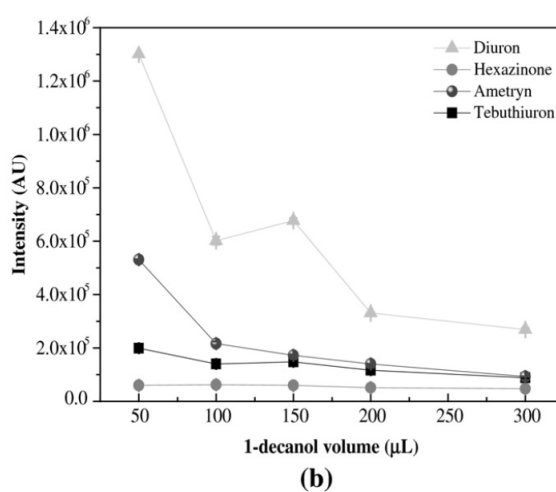
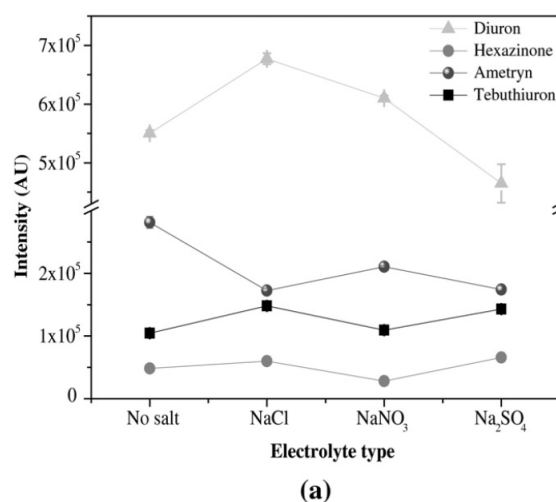


Fig. 2. Effect of a) salt type (with 150  $\mu\text{L}$  of 1-decanol) and b) 1-decanol volume (with 5% (w/v) NaCl) on the supramolecular microextraction of herbicides. Experimental conditions: herbicides concentration, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4.00; amount of THF, 600  $\mu\text{L}$ ; stirring time, 2 min ( $n = 2$ ).

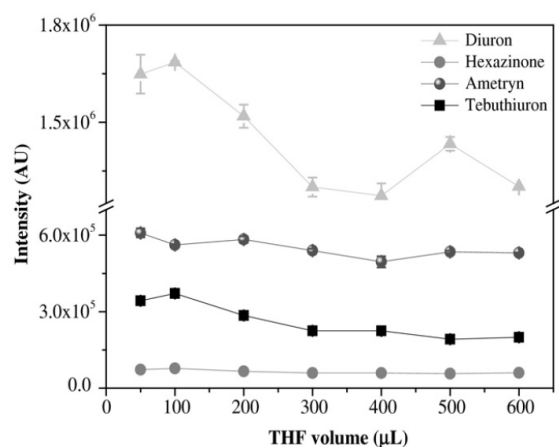
The composition and volume of the supramolecular solvent play an important role greatly affecting its extraction capability [50]. The supramolecular solvent used was based on 1-decanol reverse micelles dispersed in a THF:water continuous phase. Therefore, the volume of 1-decanol was studied in the range of 50–300  $\mu\text{L}$ . It is noticeable in Fig. 2b the high improvement in analytical signal values to diuron and ametryn when the smallest volume of 1-decanol was used. Tebuthiuron, at the same condition, had a slightly increase and hexazinone remained practically with the same value. It is well known that the greater the volume of extraction solvent the greater the efficiency of extraction. However, as a collateral effect, the use of larger volume of extraction solvent makes the rich phase more diluted, and as consequence, decreasing the chromatographic area values. Hence, 50  $\mu\text{L}$  of 1-decanol was chosen as the optimum volume to microextraction of the analyzed herbicides. The influence of THF volume was investigated in a wide range (50–600  $\mu\text{L}$ ). From the results depicted in Fig. 3a, it was observed only slight changes on the

analytical signal to hexazinone and ametryn; however to tebuthiuron and diuron, 100  $\mu\text{L}$  of THF has shown better analytical gain. Therefore, 100  $\mu\text{L}$  of THF was chosen as optimum condition, giving rise to a ratio of 0.5 of 1-decanol/THF.

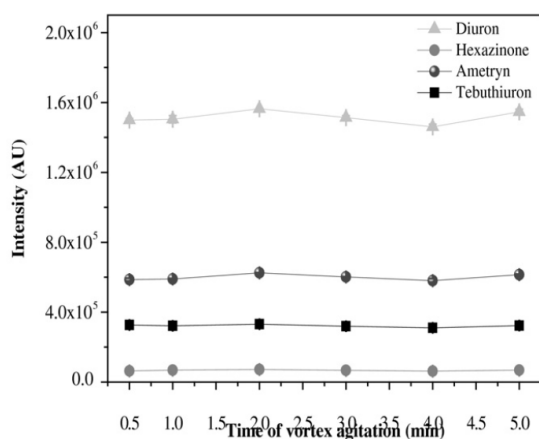
Vortex-assisted microextraction accelerates the spontaneously formation of the supramolecular solvent in the solution. After optimized the 1-decanol/THF ratio, the influence of time extraction by vortex mixer was varied from 0.5–5.0 min. As evidenced in Fig. 3b, the results suggest no significant variation on the analytical signal values, thus being adopted the minimal stirring time (0.5 min) for the further experiments.

### 3.2. Analytical features

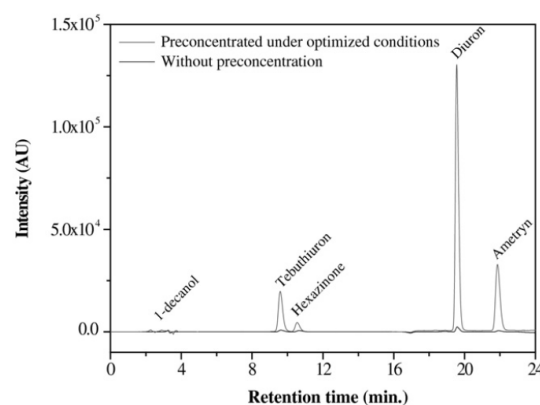
Fig. 4a depicts the chromatograms profile of herbicides before and after preconcentration method under optimized condition, which clearly demonstrates the highly improved detectability of HPLC-DAD for simultaneous determination diuron, hexazinone, ametryn and



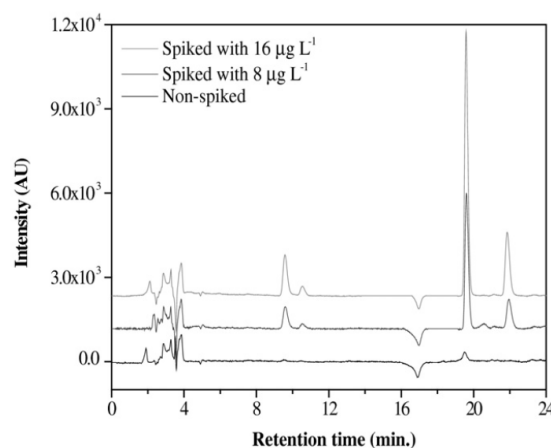
(a)



(b)



(a)



(b)

Fig. 3. Effect of a) THF volume (2 min of stirring time) and b) vortex agitation (with 100  $\mu\text{L}$  of THF) on the supramolecular microextraction of herbicides. Experimental conditions: herbicides concentration, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4.00; salt concentration: 5% (w/v) NaCl; amount of 1-decanol, 50  $\mu\text{L}$ . (n = 2).

Fig. 4. HPLC-DAD chromatograms obtained from a) optimized conditions and initial solutions at pH 4.00 with 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  of herbicides and b) non-spiked and spiked samples of Arapongas' stream.

**Table 2**  
Parameters of linear regression equations and one-way ANOVA for each herbicide. (n = 3).

Herbicides	Linear regression equation				One-way ANOVA						
	Intercept (AU)	Error	Slope ( $\mu\text{g}^{-1}\text{L}$ )	Error	DF	Sum of squares	Mean square	F value	p-value	R-adj.	
Diuron	3038	44	6846	65	Model	1	11,013.31	11,013.31	1790.78	$0.10 \cdot 10^{-9}$	0.99
					Residual	8	49.17	6.15			
					Total	9	11,062.48				
Hexazinone	55	62	350	5	Model	1	4687.96	4687.96	494.51	$0.94 \cdot 10^{-7}$	0.99
					Residual	7	66.37	9.48			
					Total	8	4754.33				
Ametryn	532	154	2737	18	Model	1	23,544.38	23,544.38	1686.56	$0.14 \cdot 10^{-9}$	0.99
					Residual	8	111.70	13.96			
					Total	9	23,656.08				
Tebuthiuron	728	80	1542	11	Model	1	20,326.11	20,326.11	1511.23	$0.21 \cdot 10^{-9}$	0.99
					Residual	8	107.56	13.45			
					Total	9	20,433.67				

DF: degrees of freedom; p-value: significant F value; R-adj.: adjusted correlation coefficient.

tebuthiuron using the supramolecular solvent-based microextraction. The extraction percentages (EP) of diuron, hexazinone, ametryn, and tebuthiuron, under optimized condition were found to be 80, 9, 80 and 32%, respectively.

The obtained linear regressions to herbicides were statistically evaluated by one-way ANOVA, Table 2. At 95% confidence level to all herbicides, the ratio values between the mean square of model and residual (F values) were higher than the tabulated values, indicating good model fit to the experimental data. In addition, the values of adjusted correlation coefficients (R-adj.) were equal to 0.99. The small significance F values (p-values) obtained were also satisfactory. These values indicate the impossibility of the result occurring by chance, indicating the strong relationship between intensity and concentration values.

The acquired linearity, PF, LOD and LOQ were determined, as shown in Table 3. The linearity values demonstrated a wide working range for all herbicides. PF values showed a substantial potential to preconcentration even for very soluble herbicides, such as hexazinone. The lower LOD and LOQ obtained also indicate a sensitivity gain by preconcentration when compared to only HPLC-DAD. Inter/intraday precision, accuracy and confidence intervals were calculated values are depicted in Table 4. The results presented RSD and RE lower than 7.00%, showing very low variation between measurements and good agreement with the nominal concentration, respectively. Confidence intervals showed that the obtained values are presented within the confidence limits in a 95% confidence level.

A comparison of the proposed method with other analytical methods previously reported in literature for the determination of diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron by HPLC-DAD is shown in Table 5. Most of the compared methods involve high values of sample volume, solvent volume and extraction time while some of them exhibit high values of LOQ and LOD. The proposed method shows low values of sample volume, solvent volume and extraction time while shows good values for linearity, LOQ and LOD which assists on quantification of those herbicides in small concentrations.

**Table 3**  
Preconcentration factors, limits of detection and quantification of the method for herbicides analysis.

Parameters	Herbicides			
	Diuron	Hexazinone	Ametryn	Tebuthiuron
Linearity ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0.43–400.0	4.85–400.0	0.86–400.0	0.79–400.0
LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0.13	1.45	0.26	0.24
LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0.43	4.85	0.86	0.79
PF	48.5	15.1	47.4	21.0

LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification; PF: preconcentration factor.

### 3.3. Analysis of natural waters

In order to determine the proposed method feasibility in detection and quantification of herbicides in natural water, non-spiked and spiked samples from three streams (located in Assis, Arapongas and Tarumã cities) and one well (located in Assis city) were collected and listed in Table 6. Tebuthiuron and ametryn were detected and quantified in Assis' well with concentrations of  $0.81 \pm 0.02 \mu\text{g L}^{-1}$  and  $1.56 \pm 0.04 \mu\text{g L}^{-1}$  respectively. In Arapongas' stream, diuron was detected and quantified in  $0.49 \pm 0.03 \mu\text{g L}^{-1}$ . The herbicides were not detected at Assis and Tarumã streams. The recoveries obtained from samples fortified with herbicides at two concentrations ( $8.0$  and  $16.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ) are also listed in Table 6. Recovery values ranged from 95 to 111% were obtained, thus indicating the absence of matrix effect and the feasibility of method for simultaneous interference-free determination of herbicides at low levels. Fig. 4b shows the chromatograms obtained from spiked and non-spiked samples from Arapongas' stream.

## 4. Conclusion

The supramolecular solvent-based extraction method based on the formation of reverse micelles of 1-decanol dispersed in THF/water proved to be a good extractant of sugarcane common herbicides from natural water using HPLC-DAD. Through the validation parameters, the method proved to be efficient and reliable for determining the

**Table 4**  
Precision, accuracy and confidence intervals of the method for herbicides analysis.

Parameters	Herbicides							
	Diuron		Hexazinone		Ametryn		Tebuthiuron	
Nominal concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	5.0	400.0	5.0	400.0	5.0	400.0	5.0	400.0
Within day ( $n^a = 10$ )								
Analyzed concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4.9	397.8	5.2	385.9	4.9	404.0	5.2	392.8
Precision (RSD, %) <sup>b</sup>	5.4	4.5	4.6	5.2	5.5	3.3	4.5	2.6
Accuracy (RE, %) <sup>c</sup>	2.8	0.6	3.0	3.5	1.4	1.0	3.8	1.8
Confidence interval ( $t_{\alpha}$ , 95%)	0.2	12.8	0.2	14.2	0.2	9.7	0.2	7.4
Between day ( $n^d = 3$ )								
Analyzed concentration ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	4.9	387.2	5.3	378.6	5.1	391.8	5.3	376.7
Precision (RSD, %) <sup>b</sup>	6.2	2.4	5.7	4.9	6.8	2.8	6.8	3.6
Accuracy (RE, %) <sup>c</sup>	2.0	3.2	5.6	5.4	1.2	2.1	6.2	5.8
Confidence interval ( $t_{\alpha}$ , 95%)	0.8	22.9	0.8	46.5	0.9	27.2	0.9	33.8

<sup>a</sup> n: number of determinations.

<sup>b</sup> RSD (%): precision expressed as RSD percentage.

<sup>c</sup> RE (%): accuracy expressed as relative error percentage.

<sup>d</sup> n: number of days.

**Table 5**  
Comparison of literature methods and the present method for diuron, hexazinone, ametryn and tebuthiuron determination utilizing HPLC-DAD.

Analytes	Preconcentration technique	Sample volume (mL)	Solvent volume (mL)	Overall time of extraction (min.)	Linear range ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Sample type	Reference
Ametryn	SBSE (polyurethane foams)	25.0	5.0	20.0	0.9–16.4	0.2	0.5	Water matrices	[51]
Diuron	SPE ( $\text{C}_{18}$ commercial disks)	500.0	34.0	25.0–50.0	0.2–17.8 0.2–32.0	–	0.2	Water matrices	[52]
Diuron	SPME (fiber coated with polyacrylate)	5.0	–	65.0	10.0–100.0	30.0	10.0	Water matrices	[53]
Tebuthiuron	SPE (SDVB cartridges)	500.0	11.0	100.0	50.0–500.0	160.0	50.0	Water matrices	[54]
Ametryn	SPE ( $\text{C}_{18}$ commercial cartridges)	50.0	21.0	–	30.0–250.0	70.0	20.0	Water matrices	[55]
Diuron	DLLME	5.0	$\approx 2.15$	4.08	50.0–500.0	10.0	30.0	Water matrices	[56]
Tebuthiuron	SPE ( $\text{C}_{18}$ commercial cartridges)	100.0	26.5	15.0	0.2–200.0	–	0.7	Water matrices	[57]
Hexazinone	SPE ( $\text{C}_{18}$ commercial cartridges)	100.0	26.5	15.0	300.0–5000.0	150.0	50.0	Plant matrix	[57]
Diuron	IL-DLLME	10.0	0.16	45.0	5.0–200.0	–	0.66	Water matrices	[45]
Diuron	SPE ( $\text{C}_{18}$ commercial cartridges),	–	–	–	100.0–1000.0	65.0	20.0	Water matrices	[22]
Hexazinone	LLE and SFE	–	–	–	100.0–1000.0	50.0	15.0	Water matrices	
Ametryn		–	–	–	100.0–1000.0	100.0	30.0		
Tebuthiuron		–	–	–	100.0–1000.0	35.0	10.0		
Hexazinone	LLE	250.0	150.0	–	–300.0	0.07	0.02	Water matrices	[58]
Tebuthiuron		–	–	–	–	0.09	0.03	Water matrices	
Diuron	SUPRASs	10.0	0.15	10.5	1.0–400.0	0.43	0.13	Water matrices	This work
Hexazinone		–	–	–	5.0–400.0	1.45	4.85		
Ametryn		–	–	–	1.0–400.0	0.86	0.26		
Tebuthiuron		–	–	–	1.0–400.0	0.79	0.24		

LOQ: limit of quantification; LOD: limit of detection; SBSE: stir bar sorptive extraction; SPE: solid-phase extraction; SPME: solid-phase microextraction; SDVB: styrene-divinylbenzene copolymer; DLLME: dispersive liquid-liquid microextraction; IL-DLLME: ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction; SFE: supercritical fluid extraction; LLE: liquid-liquid extraction; SUPRASs: supramolecular solvent-based microextraction.

analyzed herbicides in groundwater and surface water samples. The proposed method application is quite simple, rapid and environmentally friendly by not require high amounts of organic solvent. It also enables the direct analysis since the extraction solvent does not need to be evaporated. The presence of some analyzed herbicides in natural waters shows clearly the importance of investigate herbicides concentrations in regions of sugarcane cultivation predominance.

#### Acknowledgements

This work was financially supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [Project No. 481669/2013-2, 305552/2013-9, 472670/2012-3], PRÓ-FORENSES (CAPES) [25/2014] Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação Araucária do Paraná [163/2014] and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanálítica (INCT) [Project No. 573672/2008-3].

#### References

- [1] H.M. Lebaron, J.E. McFarland, O.C. Burnside, *The Triazine Herbicides*, first ed. Elsevier, Amsterdam, 2008.
- [2] A. Trebst, inhibitors in electron flow: tools for the functional and structural localization of carriers and energy conservation sites, *Methods Enzymol.* 69 (1980) 675–715.
- [3] A.H. Cobb, J.P.H. Reade, *Herbicides that inhibit photosynthesis*, in: A.H. Cobb, J.P.H. Reade (Eds.), *Herbicides and Plant Physiology*, Wiley-Blackwell, Shropshire 2010, pp. 87–114.
- [4] C.A. Spadotto, Screening method for assessing pesticide leaching potential, *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e MeioAmbiente* 12 (2002) 69–78.
- [5] C.A. Spadotto, M.A.F. Gomes, Pesticide leaching potential assessment in multi-layered soils, *Pesticidas: R.Ecotoxicol. e MeioAmbiente* 12 (2002) 1–12.
- [6] P.J. Phillips, R.W. Bode, Pesticides in surface water runoff in south-eastern New York State, USA: seasonal and stormflow effects on concentrations, *Pest Manag. Sci.* 60 (2004) 531–543.
- [7] E.A. Santos, N.M. Correia, J.R.M. Silva, E.D. Velini, A.B.R.J. Passos, J.C. Durigan, Herbicide detection in groundwater in Córrego Rico-SP watershed, *Planta Daninha* 33 (2015) 147–155.
- [8] A.D.B. Dantas, C.F.R. Paschoalato, M.S. Martinez, R.R. Ballejo, L. Di Bernardo, Removal of diuron and hexazinone from guarany aquifer groundwater, *Braz. J. Chem. Eng.* 28 (2011) 415–424.

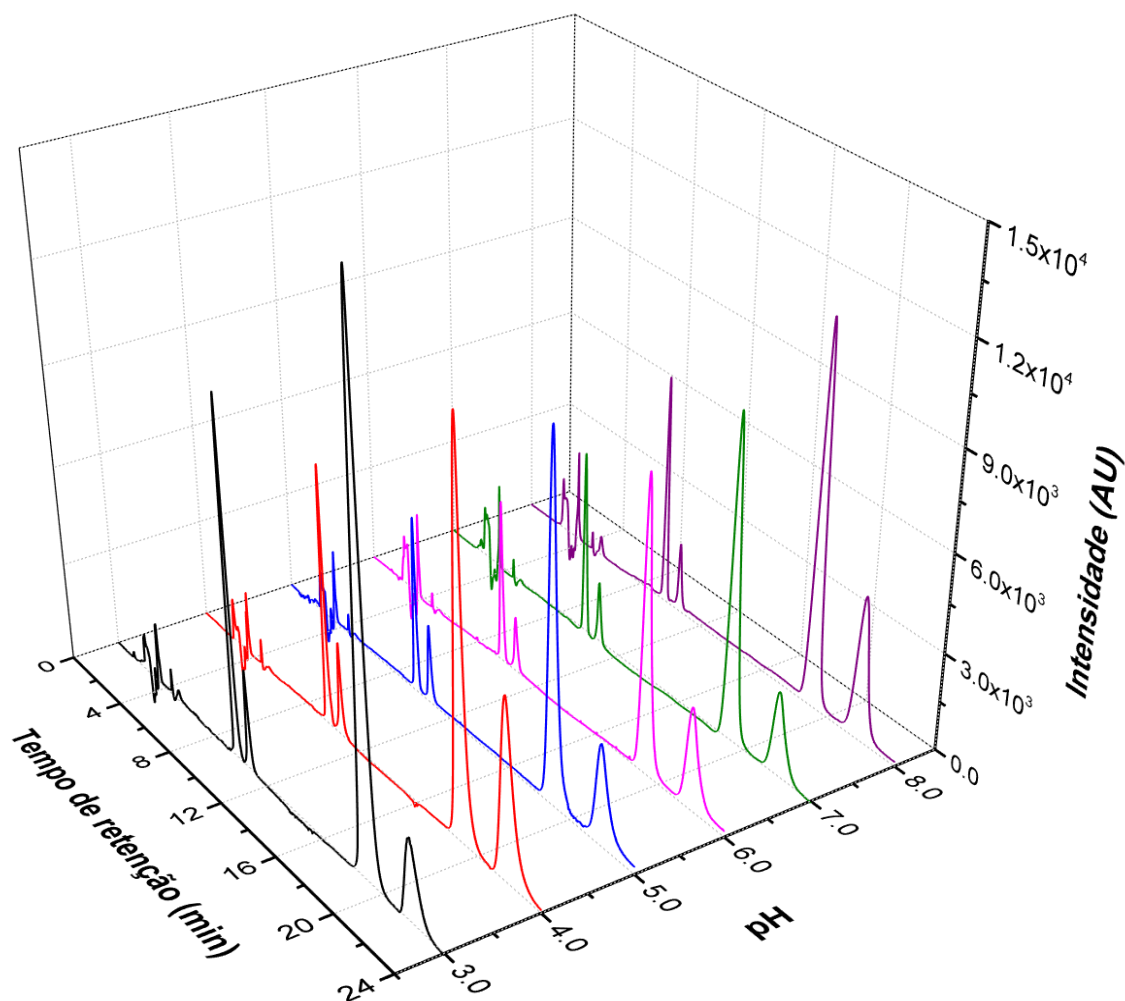
**Table 6**  
Addition/recoveries test for environmental water samples. (n = 3).

Sample location	Concentration added ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				Concentration found $\pm s$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				Recovery $\pm s$ (%)			
	Diuron	Hexazinone	Ametryn	Tebuthiuron	Diuron	Hexazinone	Ametryn	Tebuthiuron	Diuron	Hexazinone	Ametryn	Tebuthiuron
Groundwater												
Assis	0.0	0.0	0.0	0.0	ND	ND	1.6 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.0				
	8.0	8.0	8.0	8.0	7.7 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.2	9.5 $\pm$ 0.0	8.7 $\pm$ 0.1	97 $\pm$ 1	105 $\pm$ 2	99 $\pm$ 1	99 $\pm$ 1
	16.0	16.0	16.0	16.0	16.1 $\pm$ 0.1	15.4 $\pm$ 0.3	16.7 $\pm$ 0.1	15.8 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 1	96 $\pm$ 2	95 $\pm$ 1	94 $\pm$ 0
Surface water												
Assis	0.0	0.0	0.0	0.0	ND	ND	ND	ND				
	8.0	8.0	8.0	8.0	7.6 $\pm$ 0.3	8.1 $\pm$ 0.3	8.9 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.2	95 $\pm$ 3	101 $\pm$ 3	111 $\pm$ 1	105 $\pm$ 2
	16.0	16.0	16.0	16.0	15.9 $\pm$ 0.4	16.0 $\pm$ 0.2	16.3 $\pm$ 0.2	15.8 $\pm$ 0.7	99 $\pm$ 2	100 $\pm$ 1	101 $\pm$ 1	99 $\pm$ 4
Tarumã	0.0	0.0	0.0	0.0	ND	ND	ND	ND				
	8.0	8.0	8.0	8.0	7.9 $\pm$ 0.1	8.3 $\pm$ 0.3	8.59 $\pm$ 0.11	7.7 $\pm$ 0.0	99 $\pm$ 1	104 $\pm$ 4	107 $\pm$ 1	96 $\pm$ 0
	16.0	16.0	16.0	16.0	16.2 $\pm$ 0.1	16.4 $\pm$ 0.4	16.5 $\pm$ 0.2	15.8 $\pm$ 0.2	101 $\pm$ 1	102 $\pm$ 3	103 $\pm$ 1	99 $\pm$ 2
Arapongas	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5 $\pm$ 0.0	ND	ND	ND				
	8.0	8.0	8.0	8.0	8.8 $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 0.2	7.9 $\pm$ 0.3	8.5 $\pm$ 0.1	104 $\pm$ 5	103 $\pm$ 2	99 $\pm$ 3	107 $\pm$ 1
	16.0	16.0	16.0	16.0	16.7 $\pm$ 0.3	16.4 $\pm$ 0.5	15.8 $\pm$ 0.6	16.1 $\pm$ 0.7	101 $\pm$ 2	102 $\pm$ 3	99 $\pm$ 4	101 $\pm$ 5

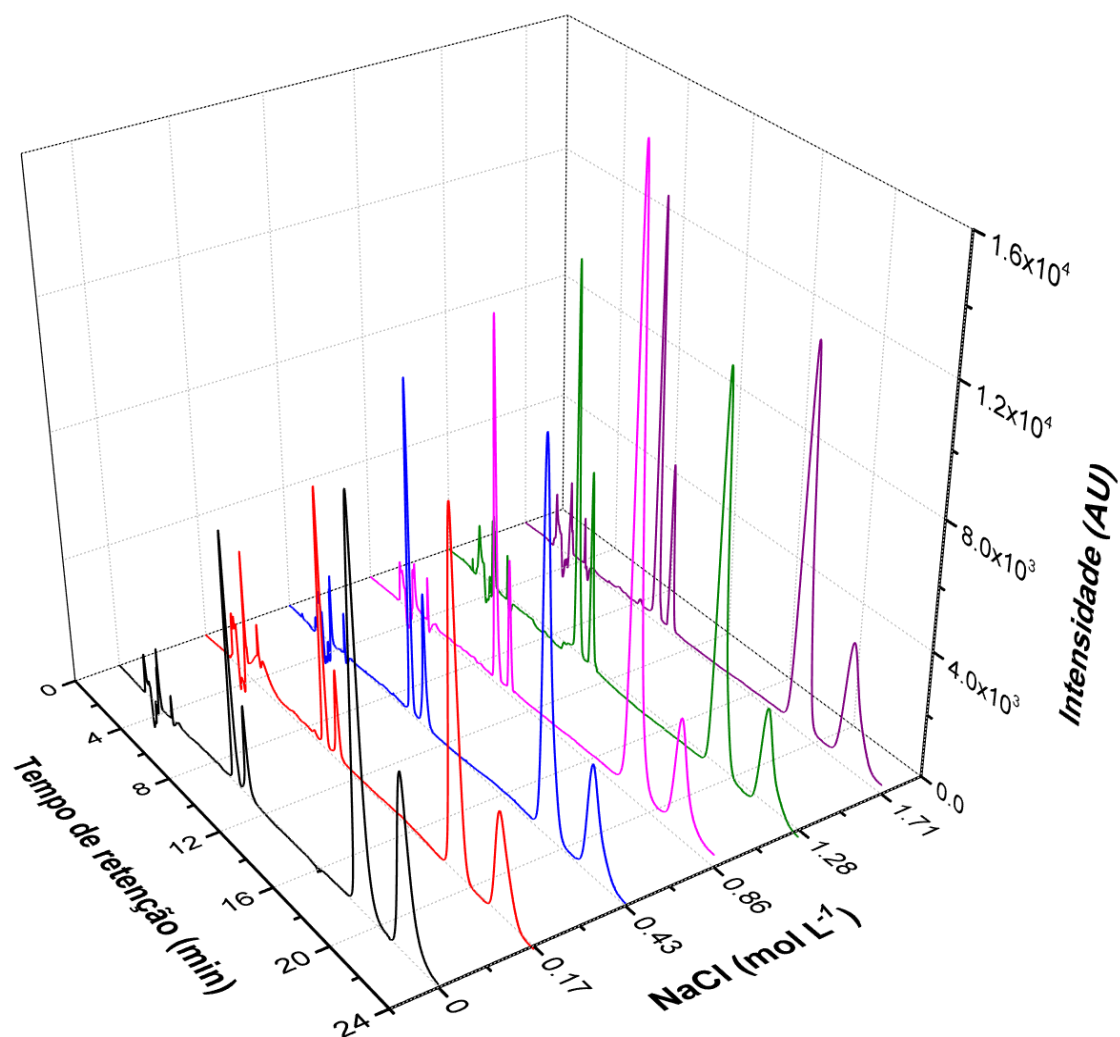
ND: not detected (below of limit of detection).

- [9] W.J. Hunter, D.L. Shaner, Removing hexazinone from groundwater with microbial, *Curr. Microbiol.* 64 (2012) 405–411.
- [10] P.M. Dellamatrice, R.T.R. Monteiro, Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas, *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* 18 (2014) 1296–1301.
- [11] D.J. Hamilton, Á. Ambruns, R.M. Dieterle, A.S. Felsot, C.A. Harris, P.T. Holland, A. Katayama, N. Kurihara, J. Linders, J. Unsworth, S.-S. Wong, Regulatory limits for pesticide residues in water (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.* 75 (2003) 1123–1155.
- [12] EU, Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the Quality of Water Intended for Human Consumption OJ L 330, 5.12.1998, European Commission, 2015.
- [13] EPA, Drinking water standards and health advisories, U.S. Environment Protection Agency Office of Water 4304, 2000 (EPA 822-B-00-001).
- [14] EPA, Drinking water standards and health advisories, U.S. Environment Protection Agency Office of Water 2012 (EPA 822-S-12-001).
- [15] Ministry of Health, Drinking-water standards for New Zealand 2005 Revised 2008 <http://www.health.govt.nz/water/2008> (accessed 02.08.16).
- [16] National Health and Medical Research Council, Australian drinking water guidelines 6: version 3.2 updated February 2016, <https://www.nhmrc.gov.au/guidelines-publications/eh52> 2016 (accessed 02.08.16).
- [17] Canadian Council of Ministers of the Environment, Canadian Environmental Quality Guidelines. Water Quality Guidelines for the Protection of Agriculture, <http://st-ts.cmec.ca/en/index.html> 2016 (accessed 02.08.16).
- [18] Canadian Council of Ministers of the Environment, Canadian environmental quality guidelines. Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, <http://st-ts.cmec.ca/en/index.html> 2016 (accessed 02.08.16).
- [19] Health Canada, Guidelines for Canadian Drinking Water Quality—Summary Table Prepared by Federal-provincial-territorial Committee on Drinking Water of the Federal-provincial-territorial Committee on Health and the Environment [www.healthcanada.gc.ca/waterquality](http://www.healthcanada.gc.ca/waterquality) 2014 (accessed 02.08.16).
- [20] K. Pyrzyńska, Solid-Phase Extraction for enrichment and separation of herbicides, in: S. Soloneski, M.L. Larramendy (Eds.), *Herbicides, Theory and Applications*, Intech, Rijeka 2011, pp. 325–344.
- [21] P. Parrilla, J.L. Martínez Vidal, M. Martínez Galera, A.G. Frenieh, Simple and rapid screening procedure for pesticides in water using SPE and HPLC/DAD detection, *Fresenius J. Anal. Chem.* 350 (1994) 633–637.
- [22] S.H.G. Brondi, F.M. Lanças, Development and validation of a multi-residue analytical methodology to determine the presence of selected pesticides in water through liquid chromatography, *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (2005) 650–653.
- [23] C. Federico, M. Pappalardo, G. Leotta, Z. Minniti, V. Librando, S. Saccone, Phenylurea herbicides: chemical properties and genotoxic effects, in: D. Kobayashi, E. Watanabe (Eds.), *Handbook on Herbicides: Biological Activity*, Nova Publishers, New York, Classification and Health and Environmental Implications 2014, pp. 111–132.
- [24] S.S. Caldas, F.F. Gonçalves, E.G. Primel, O.D. Prestes, M.L. Martins, R. Zanella, Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas, *Quím. Nova* 34 (2011) 1604–1617.
- [25] A. Ballesteros-Gómez, M.D. Sicilia, S. Rubio, Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review, *Anal. Chim. Acta* 677 (2010) 108–130.
- [26] A. Ballesteros-Gómez, S. Rubio, Environment-responsive alkanol-based supramolecular solvents: characterization and potential as restricted access property and mixed-mode extractants, *Anal. Chem.* 84 (2012) 342–349.
- [27] E.M. Costi, M.D. Sicilia, S. Rubio, Multiresidue analysis of sulfonamides in meat by supramolecular solvent microextraction liquid chromatography and fluorescence detection and method validation according to the 2002/657/EC decision, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 6250–6257.
- [28] H. Qin, X. Qiu, J. Zhao, M. Liu, Y. Yang, Supramolecular solvent-based vortex-mixed microextraction: determination of glucocorticoids in water samples, *J. Chromatogr. A* 1311 (2013) 11–20.
- [29] F. Aydin, E. Yilmaz, M. Soyulak, Supramolecular solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction of copper from water and hair samples, *RSC Adv.* (2015) 40422–40428.
- [30] Z. Li, J. Chen, M. Liu, Y. Yang, Supramolecular solvent-based microextraction of copper and lead in water samples prior to reacting with synthesized Schiff base by flame atomic absorption spectrometry determination, *Anal. Methods* 6 (2014) 2294–2298.
- [31] J.M.O. Souza, C.R.T. Tarley, Sorbent separation and enrichment method for cobalt ions determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry in water and urine samples using multiwall carbon nanotubes, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 89 (2009) 489–502.
- [32] L.A. Currie, Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC recommendations 1995), *Anal. Chim. Acta* 391 (1999) 105–126.
- [33] ICH, ICH Harmonised Tripartite Guideline - Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005.
- [34] K.N. Reddy, M.A. Locke, Molecular properties as descriptors of octanol-water partition Coefficients of herbicides, *Water Air Soil Pollut.* 86 (1996) 389–405.
- [35] A.G. Hornsby, R.D. Wauchoppe, A.E. Herner, *Pesticide Properties in the Environment*, first ed. Springer-Verlag, New York, 1996.
- [36] F. Prata, A. Lavoretti, Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica, *RevistaBiotécnicas* 6 (2000) 17–22.
- [37] R.J. Da Fonseca, M.G. Segatelli, K.B. Borges, C.R.T. Tarley, Synthesis and evaluation of different adsorbents based on poly (methacrylic acid-trimethylolpropane trimethacrylate) and poly (vinylimidazole-trimethylolpropane trimethacrylate) for the adsorption of tebutiuron from aqueous medium, *React. Funct. Polym.* 03 (2015) 1–9.
- [38] A. Wong, F.M. De Oliveira, C.R.T. Tarley, M.D.P.T. Sotomayor, Study on the cross-linked molecularly imprinted poly(methacrylic acid) and poly(acrylic acid) towards selective adsorption of diuron, *React. Funct. Polym.* 100 (2016) 6–36.
- [39] Environment and Climate Change Canada, Screening assessment for the challenge urea, N'-(3,4-dichlorophenyl)-N,N-dimethyl-(Diuron), <https://www.ec.gc.ca/esees/default.asp?lang=En&n=6BC4E5D3-1> 2011 (accessed 17.01.17).
- [40] S.S. Chang, J.F. Stritzke, Sorption, movement, and dissipation of Tebutiuron in soil, *Weed Sci.* 25 (1977) 184–187.
- [41] A. Shokrollahi, H.B. Pili, Supramolecular based-ligandless ultrasonic assisted-dispersion solidification liquid-liquid microextraction of uranyl ion prior to spectrophotometric determination with dibenzoylmethane, *RSC Adv.* 6 (2016) 2394–2401.
- [42] M.A. Bezerra, S.L.C. Ferreira, Extração em ponto nuvem: princípios e aplicações em química analítica, first ed. Edições UESB, Vitória da Conquista, 2006.
- [43] Y.S. Lee, Self-Assembly and Nanotechnology - A Force Balance Approach, first ed. John Wiley & Sons Inc., New Jersey, 2008.
- [44] N.V. Godoy, B.F. Somera, W.J. Barreto, S.R.G. Barreto, C.R.T. Tarley, Evaluation of DMIT [4,5-dimercapto-1,3-dithiyl-2-thione] as chelating agent in a cloud point extraction procedure for Pb<sup>2+</sup> determination in water samples, *Acta Sci.-Technol.* 35 (2013) 379–385.
- [45] S. Wang, L. Ren, C. Liu, J. Ge, F. Liu, Determination of five polar herbicides in water samples by ionic dispersive liquid-phase microextraction, *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (2010) 3089–3095.
- [46] K.B. Hurl, V.H. Freed, Effect of electrolytes on the solubility of some 1,3,5-triazines and substituted ureas and their adsorption on soil, *Weed Res.* 12 (1972) 1–10.
- [47] Q. Zhou, H. Bai, G. Xie, J. Xiao, Temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase micro-extraction, *J. Chromatogr. A* 1177 (2008) 43–49.
- [48] R. Carabias-Martínez, C. García-Hermida, E. Rodríguez-Gonzalo, F.E. Soriano-Bravo, J. Hernández-Méndez, Determination of herbicides, including thermally labile phenylureas by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1002 (2003) 1–12.
- [49] L.M.S. Noronha, A.A. Neves, M.E.L.R. Queiroz, A.F. Oliveira, Evaluation of the effects of Hofmeister series on salting out in the determination of organophosphorous pesticides and pyrethroids by LDS/DLME, *J. Braz. Chem. Soc.* 26 (2015) 1897–1901.
- [50] M. Soyulak, E. Yilmaz, Development of a novel supramolecular solvent microextraction procedure for copper in environmental samples and its determination by microsampling flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 126 (2014) 191–195.
- [51] F.C.M. Portugal, M.L. Pinto, J.M.F. Nogueira, Optimization of polyurethane foams for enhanced stir bar sorptive extraction of triazinic herbicides in water matrices, *Talanta* 77 (2008) 765–773.
- [52] A.T.K. Tran, R.V. Hyne, P. Doble, Determination of commonly used polar herbicides in agricultural drainage water in Australia by HPLC, *Chemosphere* 67 (2007) 944–953.
- [53] S.H.G. Brondi, J.C. Rodrigues da Silva, F.M. Lanças, Development and validation of a methodology for the determination of pesticides in water by SPME-LC/DAD, *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* 28 (2005) 2909–2919.
- [54] L. Carbo, V. Souza, E.F.G.C. Dores, M.L. Ribeiro, Determination of pesticides multiresidues on shallow groundwater in a cotton-growing region of Mato Grosso, Brazil, *J. Braz. Chem. Soc.* 00 (2008) 1111–1117.
- [55] L.T.D. Cappellini, D. Cordeiro, S.H.G. Brondi, K.R. Prieto, E.M. Vieira, Development of methodology for determination of pesticides residue in water by SPE/HPLC/DAD, *Environ. Technol.* 33 (2012) 2299–2304.
- [56] M. Saraji, N. Tansazan, Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of phenylurea herbicides in water samples by HPLC-diode array detection, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 4186–4192.
- [57] T. Tuzimski, Determination of analytes in medical herbs extracts by SPE coupled with two-dimensional planar chromatography in combination with diode array scanning densitometry and HPLC-diode array detector, *J. Sep. Sci.* 34 (2010) 27–36.
- [58] V.L. Ferracini, S.C.N. Queiroz, M.A.F. Gomes, G.L. Santos, Método para a determinação de hexazinone e tebutiuron em água, *Quim Nova* 28 (2005) 380–382.

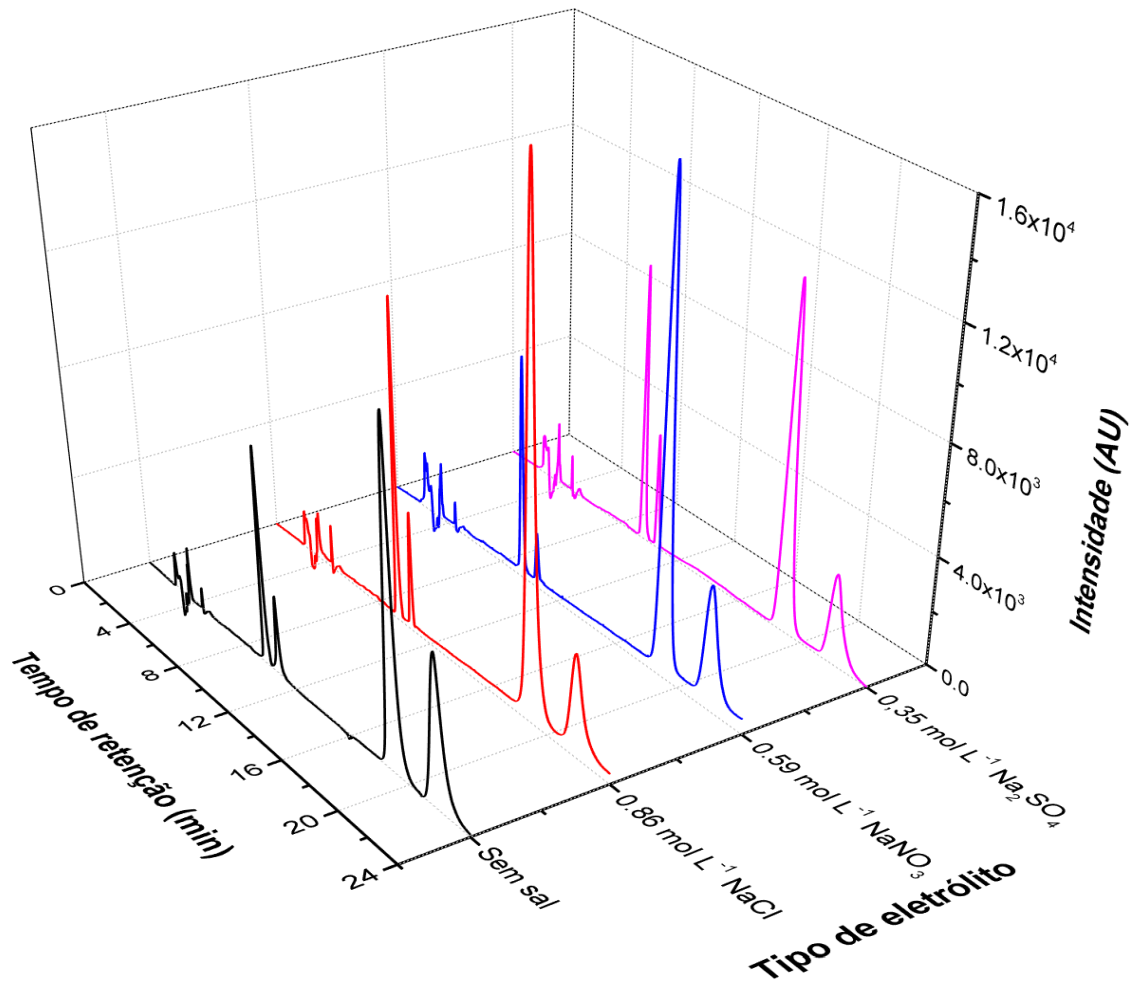
## ANEXO B – EXEMPLOS DE CROMATOGRAMAS



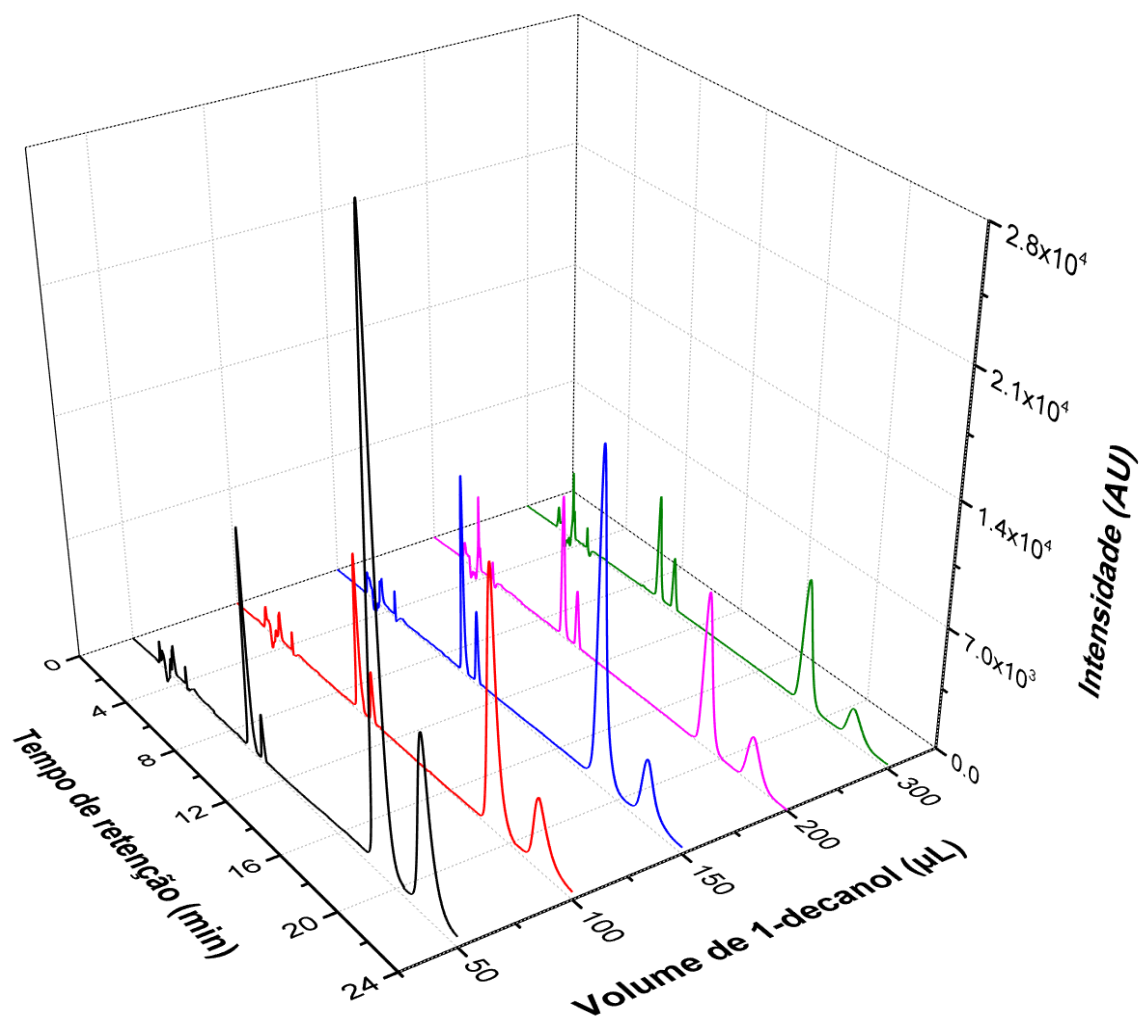
**Figura B1** - Cromatogramas do efeito do pH na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; quantidade de 1-decanol, 150  $\mu\text{L}$ ; quantidade de THF, 600  $\mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min.



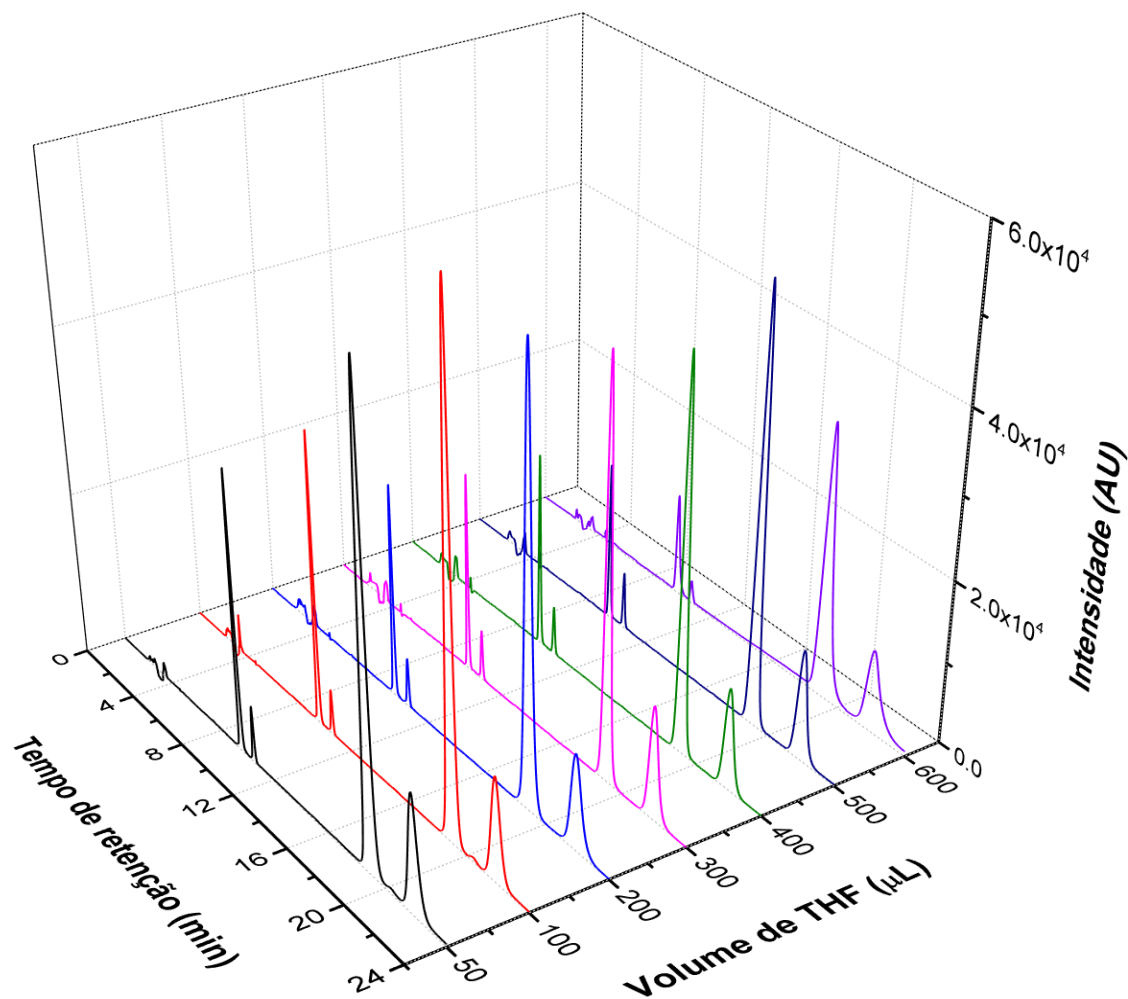
**Figura B2** – Cromatogramas do efeito da concentração de NaCl na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas,  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; quantidade de 1-decanol,  $150 \mu\text{L}$ ; quantidade de THF,  $600 \mu\text{L}$ ; tempo de agitação, 2 min.



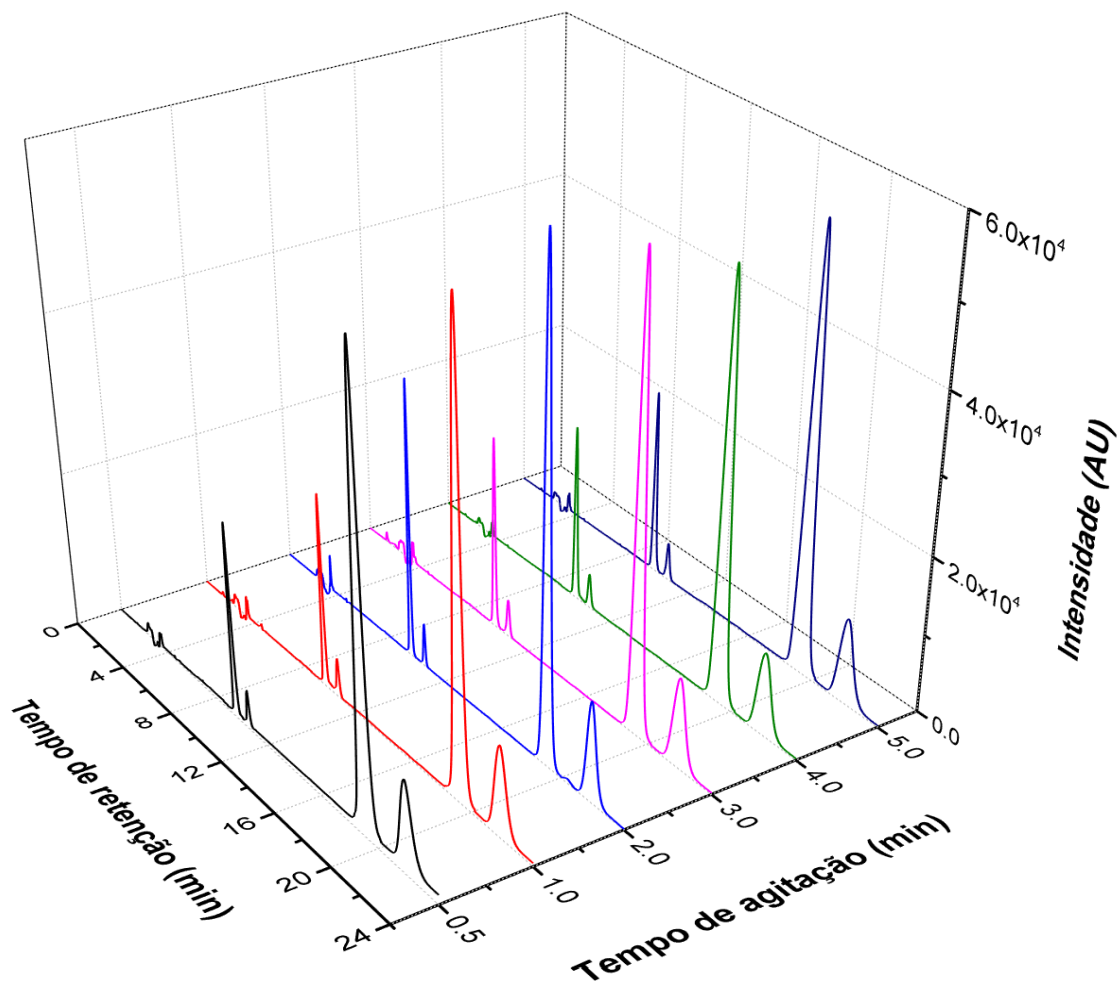
**Figura B3** - Cromatogramas do efeito do tipo de sal na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas,  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal, 5% (m/v); quantidade de 1-decanol,  $150 \mu\text{L}$ ; quantidade de THF,  $600 \mu\text{L}$ ; Tempo de agitação, 2 min.



**Figura B4** - Cromatogramas do efeito de volume 1-decanol na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 µg L<sup>-1</sup>; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/ v); quantidade de THF, 600 µL.



**Figura B5** - Cromatogramas do efeito de volume THF na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas, 200 µg L<sup>-1</sup>; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/ v); quantidade de 1-decanol, 50 µL.



**Figura B6** - Cromatogramas do efeito da agitação por vórtice na microextração supramolecular de herbicidas. Condições experimentais: concentração de herbicidas,  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ; pH 4,00; concentração de sal: NaCl a 5% (m/v); quantidade de 1-decanol,  $50 \mu\text{L}$ ; quantidade de THF,  $100 \mu\text{L}$ .