

PARTE II

# AVALIAÇÃO DE IMPACTOS E GESTÃO AMBIENTAL DA AGRICULTURA

*"A melhor maneira de  
prever o futuro é criá-lo"*  
Peter Drucker

# MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS E CONTAMINANTES EM AMOSTRAS AMBIENTAIS E DE ALIMENTOS

*Vera Lúcia Ferracini, Sonia Cláudia do Nascimento de Queiroz, Cláudio Martín Jonsson, Marcia Regina Assalin, Robson Rolland Monticelli Barizon, Leticia Sayuri Shiroma, Jordana Alves Ferreira, Debora Renata Cassoli de Souza Dutra e Antonio Luiz Cerdeira*

## INTRODUÇÃO

Agrotóxicos têm sido utilizados na agricultura para controlar pragas e doenças, a fim de aumentar a produtividade. Entretanto, o uso abusivo destes produtos pode deixar resíduos no ambiente e causar efeitos adversos aos ecossistemas e aos seres humanos. Além dos agrotóxicos, a presença de resíduos de drogas veterinárias utilizadas na pecuária e contaminantes emergentes (fármacos, hormônios, nanopartículas, microplásticos, dentre outros) são também de grande preocupação e devem ser avaliados. Para determinar os níveis de resíduos e contaminantes em amostras ambientais, que são da ordem de  $\text{mg Kg}^{-1}$  (ou  $\text{mg L}^{-1}$ ) –  $\text{ng Kg}^{-1}$  (ou  $\text{ng L}^{-1}$ ), é necessário o desenvolvimento e a validação de métodos analíticos que sejam confiáveis e sensíveis. De forma geral, as análises de resíduos envolvem as seguintes etapas: extração dos analitos de interesse, remoção dos interferentes da matriz, pré-concentração do extrato, detecção e quantificação por técnicas instrumentais. Para que o método seja considerado confiável e adequado para a finalidade em que será utilizado, há a necessidade de realizar a sua validação utilizando guias fornecidos pelas agências reguladoras nacionais e internacionais, e atingir níveis, sempre que houver, abaixo dos Limites Máximos de Resíduos (LMR) permitidos. Assim, este capítulo descreve uma revisão sobre os principais métodos de extração e técnicas instrumentais (com ênfase nas cromatográficas) utilizadas na determinação de resíduos e contaminantes em amostras ambientais e de alimentos, bem como os protocolos de validação utilizados. Serão incluídas também aplicações dos métodos analíticos desenvolvidos e validados, tais como programas de monitoramento de qualidade de água, estudos de comportamento de xenobióticos no ambiente, estudos ecotoxicológicos (bioconcentração), segurança dos alimentos, dentre outras.

## RESÍDUOS E CONTAMINANTES NO AMBIENTE

### Agrotóxicos

Em geral, o controle de pragas e doenças pré e pós-colheita é feito pelo uso de agrotóxicos (pesticidas, agroquímicos, defensivos fitossanitários ou agrícolas), e está intimamente relacionado com a quantidade e qualidade de alimentos disponíveis para o crescimento da população mundial. A evolução da produção agrícola e a expansão da monocultura, associados ao clima tropical, predominante na agricultura brasileira (na qual o ciclo das pragas não é interrompido pelo frio), têm levado a uma intensificação do uso dos agrotóxicos, e, conseqüentemente, a uma intensa exposição humana a estes compostos, seja de forma ocupacional ou ambiental.

Fatores como os processos de degradação (fotodegradação, biodegradação e hidrólise) e volatilização que ocorrem com os pesticidas, o modo de aplicação e as condições climáticas corroboram não somente com o uso em larga escala, mas também com a disseminação dos pesticidas no ambiente.

O uso indiscriminado e incorreto dos agrotóxicos resulta em significativo impacto econômico, na existência de resíduos destas substâncias em alimentos acima dos limites máximos estabelecidos, na resistência aos pesticidas desenvolvida por insetos e micro-organismos fitopatogênicos, e na contaminação ambiental (ar, solo, águas superficiais e subterrâneas), fatores que podem comprometer a sustentabilidade da agricultura.

Uma vez no ambiente, os contaminantes estão sujeitos a uma combinação de processos que podem afetar seu destino e comportamento no ambiente. A transferência das moléculas de agrotóxicos dos compartimentos terrestres para os compartimentos aquáticos é uma dinâmica constante, principalmente em áreas agrícolas. O uso de diferentes moléculas em elevadas quantidades, a erosão do solo em áreas agrícolas e a adesão destas moléculas no solo são fatores que determinam a intensidade desta transferência. O conhecimento das propriedades químicas e físicas dos contaminantes orgânicos é necessário para prever onde possivelmente encontraremos as maiores concentrações dos agrotóxicos nos diferentes compartimentos ambientais, e assim avaliar os possíveis impactos no ecossistema de destino (Dellamatrice; Monteiro, 2014).

Uma ferramenta que auxilia no uso correto e seguro dos agrotóxicos é o Agrofit, Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Trata-se de um banco de dados que reúne informações de uso e aplicação de todos os agrotóxicos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Traz também informações do Ministério da Saúde (Anvisa) e do Ministério do Meio Ambiente (Ibama), e está disponível para consulta pública (<https://agrofit.agricultura.gov.br/>).

## Drogas veterinárias

Dentre os produtos de uso veterinário, os medicamentos ou drogas veterinárias são substâncias utilizadas tanto para a prevenção/tratamento de doenças, como para a promoção de crescimento de animais produtores de alimentos. Embora os benefícios do uso de medicamentos veterinários sejam importantes, os possíveis efeitos em organismos não alvo são extremamente preocupantes. Drogas veterinárias são potencialmente contaminantes por apresentarem efeitos biológicos em baixas concentrações, o que pode resultar em efeitos adversos à saúde humana, surgimento e propagação de parasitas e bactérias resistentes, em particular as de interesse à medicina humana, além de prejuízos ao meio ambiente. A pecuária intensiva representa a principal fonte de contaminação do solo por drogas veterinárias, enquanto atividades relacionadas à aquicultura destacam-se pela contaminação dos corpos aquáticos. Uma vez no ambiente, as drogas veterinárias podem afetar tanto os organismos vivos de vida aquática (bactérias marinhas, algas, crustáceos, peixes, e outros) como terrestres (microrganismos, insetos), além de plantas (Bartikova et al., 2016). Dependendo da espécie, as plantas podem apresentar, frente a drogas veterinárias, tanto fitotoxicidade como podem ser utilizadas na remoção destes contaminantes do ambiente (fitorremediação).

Outro importante aspecto sobre o uso excessivo e indevido de drogas veterinárias é a contaminação de alimentos de origem animal. Uma das maneiras de se garantir que a exposição da população a essas substâncias esteja dentro de níveis aceitáveis é pelo estabelecimento dos limites máximos de resíduos (LMR) de drogas veterinárias nesses alimentos, e, com isso, reduzir os riscos relacionados à saúde pública (Ji et al., 2021). No Brasil a Instrução Normativa nº 51, de 19 de dezembro de 2019, estabelece, entre outros, a lista de limites máximos de resíduos (LMR) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal.

## Contaminantes emergentes

Contaminantes emergentes, ou contaminantes de preocupação emergentes, são compostos químicos que têm sido detectados nos diferentes compartimentos ambientais, e que são predominantemente de origem antrópica, provenientes de efluentes domésticos (fármacos e produtos de higiene pessoal), industriais (bisfenol A, alquilfenóis, bifenilas policloradas, ftalatos, compostos perfluorados e retardantes de chama bromados), atividades agrícolas (pesticidas) e pecuárias (drogas veterinárias), sendo amplamente encontrados nos corpos aquáticos.

Não se trata apenas de novos compostos, mas também de compostos que vêm sendo utilizados há tempo. Mas apenas com o advento de novas técnicas analíticas foi possível a quantificação de tais compostos em valores de  $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\text{ng L}^{-1}$ . As subs-

tâncias são potencialmente tóxicas, cujo efeito ou presença no meio ambiente ainda são pouco conhecidas, sendo ainda necessários estudos para avaliação de riscos à saúde humana. São compostos que geralmente não estão incluídos em programas de monitoramento da qualidade de rotina pelos órgãos de meio ambiente e saúde, e tampouco são legislados.

No Brasil, apesar do grande número de agrotóxicos registrados no Mapa, e considerando que os pesticidas configuram um importante grupo de contaminantes de preocupação emergente, aproximadamente 30 são incluídos em normativas: Portaria MS nº 2.914/2011, e/ou nas Resoluções CONAMA nº 357/2005 (água superficial) e nº 396/2008 (água subterrânea). Segundo Montagner e colaboradores (2017), inúmeros pesticidas são encontrados em águas superficiais, subterrâneas e tratadas, incluindo 5 dos 8 ingredientes ativos mais vendidos no Brasil durante o ano de 2016: glifosato, 2,4-D, atrazina, carbendazim e imidacloprido, sendo que a atrazina é incluída na lista de substâncias proibidas pela União Europeia. Assim, pesticidas configuram um importante grupo de contaminantes de preocupação emergente.

## MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO, LIMPEZA E/OU PRÉ-CONCENTRAÇÃO DOS ANALITOS EM DIFERENTES MATRIZES

### Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid Liquid Extraction*) é conhecida como extração por solvente ou partição, técnica empregada para separar um ou mais componentes de uma mistura heterogênea de líquidos, baseada em suas diferentes solubilidades em dois líquidos imiscíveis, normalmente água e um solvente orgânico. Os solventes mais utilizados são: hexano, éter dietílico, diclorometano e clorofórmio. O composto mais hidrofílico se desloca para a fase aquosa, e o mais hidrofóbico para a fase orgânica. A extração consiste em adicionar um solvente orgânico imiscível à amostra em um funil de separação e agitar. Após a separação das fases, recolhe-se o solvente contendo o analito, e o processo é repetido por mais vezes, a fim de aumentar a eficiência de extração (Borges et al., 2015). As vantagens da LLE são a simplicidade do método, baixo custo e possibilidade de utilizar vários tipos de solventes, com ampla faixa de polaridade. Porém possui desvantagens, como ser um processo longo, possibilidade de ter perda do analito durante a extração, formação de emulsões, uso de grandes volumes de amostras e de solventes tóxicos, e dificuldade na automação (Queiroz et al., 2001).

## Extração em fase sólida

A extração em fase sólida (SPE) é uma das técnicas de extração mais utilizadas hoje em dia. Nela, os analitos de interesse presentes em uma amostra aquosa são extraídos, com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo um material retido/empacotado, denominado sorvente, entre dois filtros. Um sorvente orgânico seletivo é geralmente utilizado para remover os interferentes, e outro sorvente é usado para lavar os analitos de interesse.

Esta técnica de extração foi desenvolvida em meados da década de 1970 (Lanças, 2004), baseando-se em uma técnica de separação líquido-sólido que utiliza mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão. Desta forma, a coluna contendo a fase sólida (sorvente) realiza a separação quando a solução colocada no cartucho é aspirada utilizando-se um pequeno vácuo. Após a drenagem do líquido da amostra, o analito retido no cartucho é extraído em sorvente submetido para posterior análise por técnicas cromatográficas instrumentais, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência ou Cromatografia Gasosa. É importante ressaltar que a SPE pode ser facilmente automatizada e tem a capacidade de extrair muitas amostras simultaneamente. As etapas envolvidas na SPE incluem: (1) ativação e condicionamento do cartucho, (2) adição da amostra, (3) remoção dos interferentes e (4) eluição do analito, que pode estar na concentração adequada para detecção ou quantificação, ou, se não estiver, deve se adicionar uma etapa de concentração. Os mecanismos envolvidos na separação podem ser: (a) adsorção; (b) partição (fase normal e fase reversa); (c) troca iônica; (d) exclusão por tamanho (Lanças, 2004).

## Micro extração em fase sólida

O sistema de micro extração em fase sólida (SPME) foi desenvolvido por Pawliszyn e Arthur (1990) no início da década de 1990, e baseia-se na adsorção dos analitos em uma fibra de sílica coberta com uma camada de sorvente. O dispositivo básico de SPME consiste em um bastão de fibra ótica de sílica fundida (FS) de 100 mm de diâmetro, com 10 mm de uma extremidade recoberta com um filme fino de um polímero, isto é, poli-dimetilsiloxano (PDMS) poliacrilato (PA), ou Carbowax, podendo também ser um sólido adsorvente, como o carvão ativo microparticulado (Carboxen) (Valente; Augusto, 2020). Esta fibra fica acondicionada em uma microseringa, que a protege quando não está em uso. Posteriormente, os analitos são dessorvidos termicamente, no injetor do cromatógrafo a gás (GC). A SPME preserva todas as vantagens da SPE, tais como simplicidade, baixo custo, fácil automação, e facilidade de amostragem em campo, e, ao mesmo tempo, elimina desvantagens da SPE, como o entupimento do cartucho e o uso de solventes.

A SPME envolve algumas etapas, como: (1) introdução da fibra; (2) exposição da fibra; (3) retração da fibra para dentro do dispositivo; (4) acomodação do dispositivo; e (5) exposição da fibra no injetor de um GC. Após todas essas etapas, por dessorção térmica, os analitos vão para o sistema cromatográfico quando a coluna é aquecida, conforme o programa de temperatura realizada para a separação destes. Observou-se que muitas variáveis influenciam no processo de extração, como o tempo de exposição da fibra na solução a ser analisada, a presença de interferentes, os parâmetros de validação, como seletividade, linearidade, reprodutibilidade, recuperação, entre outros. Os modos de operação em SPME são a extração via: (A) *headspace*: o recobrimento da fibra (fase sólida) não entra em contato direto com a amostra, e os analitos são volatilizados através de uma barreira de ar até atingirem a fibra; (B) extração direta: o recobrimento da fibra é inserido diretamente na amostra quando os analitos possuem características de volatilidade média e baixa; (C) extração indireta: recomendada apenas quando o modo direto ou *headspace* não são adequados, com analitos com características de volatilidade baixa. Utiliza-se uma membrana protetora sobre a fibra para proteção no caso de análise de amostras complexas e sujas, como os fluidos biológicos. Durante o desenvolvimento do método, é importante padronizar o controle de algumas variáveis experimentais, como temperatura e tempo de extração, escolha do revestimento da fibra, velocidade de agitação, pH e força iônica do meio, e tempo de dessorção (Lanças, 2004).

## QuEChERS e QuEChERSER

Em 2003, Anastassiades e colaboradores desenvolveram o método “rápido, fácil, barato, eficiente, robusto e seguro”, em inglês, “*quick, easy, cheap, effective, rugged and safe*”, que forma o acrônimo QuEChERS. O método foi desenvolvido para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentos e tornou-se o método oficial da European Committee for Standardization (CEN - EN 15662)<sup>1</sup>.

Basicamente, a extração é subdividida em três etapas: extração, partição e limpeza, e possui três principais versões: original, citrato e acetato (Anastassiades et al., 2003; Payá et al., 2007; Prestes et al., 2009). Nos últimos anos, o QuEChERS sofreu muitas modificações e tornou-se bem estabelecido em diversas aplicações analíticas, tais como: a) resíduos de agrotóxicos (Ferreira et al., 2016); b) resíduos de drogas veterinárias (Zao et al., 2021); e c) resíduos de pesticidas em solo argiloso (Dacal et al., 2021). Desde o seu desenvolvimento, o QuEChERS representou um grande avanço frente aos outros métodos tradicionais, que utilizam grandes quantidades de reagentes e solventes,

---

<sup>1</sup> Disponível em: <https://www.en-standard.eu/csn-en-15662-foods-of-plant-origin-multimethod-for-the-termination-of-pesticide-residues-using-gc-and-lc-based-analysis-following-acetonitrile-extraction-partitioning-and-clean-up-by-dispersive-spe-modular-quechers-method>

além de reduzir o tempo de análise e custos. Esse avanço vem propiciando análises com bons resultados quando realizadas usando a cromatografia líquida e gasosa (LC e GC) acopladas à espectrometria de massas (MS), que são sensíveis e seletivas (Hrynko et al., 2021). Recentemente, Monteiro e colaboradores (2014) desenvolveram um novo método baseado em QuEChERS, intitulado QuEChERSER Mega Método, cuja principal proposta foi simplificar a extração reduzindo algumas das etapas para amostras como carnes (Monteiro et al., 2021) e peixes (Ninga et al., 2021). QuEChERS foi reavaliado e otimizado em um protocolo de extração genérico, denominado QuEChERSER. Considerado “mega método”, o processo une diversos tipos de análises e é capaz de identificar, ao mesmo tempo, um grande número de compostos, de pesticidas a drogas veterinárias e contaminantes ambientais. A principal inovação é a automatização de parte destas etapas através do uso de robôs, além do aperfeiçoamento de todo processo. O método utiliza dois tipos de análises cromatográficas ao mesmo tempo, líquida e gasosa, os quais quantificam mais de 250 princípios ativos, por isso é chamado de “mega método”. QuEChERSER se mostrou eficaz para a análise de 85% dos 259 contaminantes testados, uma porcentagem significativa para metodologias do tipo multirresíduos. A tecnologia do QuEChERSER ainda não está disponível no Brasil (Almeida, 2021).

O QuEChERSER já tem se expandido para amostras como cânhamo (*Cannabis sativa*) e seus derivados (Michlig et al., 2021). Presume-se que o desenvolvimento de muitos outros trabalhos seja encorajado com o método QuEChERSER, pois são práticos e rápidos, com respostas satisfatórias.

## Técnicas miniaturizadas

Os métodos convencionais utilizam grande quantidade de reagentes, solventes e amostras, e demandam muito tempo de análise. Atualmente têm sido desenvolvidas técnicas miniaturizadas de extração, com consumo mínimo de reagentes e baixa geração de resíduos. Alguns exemplos de técnicas miniaturizadas comumente utilizadas são: a) microextração líquido-líquido dispersiva (*Dispersive liquid-liquid microextraction*, DLLME), b) extração sortiva em barra de agitação (*stir bar sorptive extraction*, SBSE), c) microextração em sorvente empacotado (*microextraction by packed sorbent*, MEPS), d) microextração em fase líquida (*liquid-phase microextraction*, LPME), e) microextração em gota suspensa (*single drop microextraction*, SDME), entre outras.

### **Microextração líquido-líquido dispersiva (*Dispersive liquid-liquid microextraction* - DLLME)**

A técnica foi proposta em 2006 (Rezaee et al., 2006) e consiste em uma extração baseada em um sistema ternário de solventes: dispersor, extrator (fase orgânica) e fase aquosa. Essa técnica apresenta como principais vantagens a miniaturização, baixo



custo, rapidez, alta eficiência de extração e pré-concentração, bem como potencial para aplicação direta em campo.

A extração ocorre pelo processo de partição dos analitos entre duas fases líquidas imiscíveis: o solvente extrator e a fase aquosa, sendo governada pela polaridade. O terceiro solvente é o dispersor, solúvel tanto na amostra aquosa quanto na fase orgânica, para favorecer a formação da dispersão. A extração consiste na injeção rápida de um jato do solvente extrator em uma mistura de solvente dispersor e da amostra aquosa contendo os analitos, formando uma dispersão de microgotas do solvente orgânico na fase aquosa. A extração dos analitos da fase aquosa para a fase orgânica é rápida devido à grande área superficial entre o solvente extrator e a amostra aquosa, favorecendo o processo de partição e a extração. Após a extração, a dispersão é centrifugada e a fase orgânica é transferida para a injeção no sistema cromatográfico para a quantificação dos analitos (Martins et al., 2012).

#### **Extração sortiva em barra de agitação (*stir bar sorptive extraction* – SBSE)**

É uma técnica que integra extração e concentração do soluto em etapa única e em um dispositivo extrator reutilizável, o qual pode ser introduzido no cromatógrafo a gás, reduzindo a perda do soluto e o tempo da análise. A barra de agitação magnética é um pequeno tubo magnético encapsulado por vidro (10 mm a 20 mm de comprimento), revestida com 25–125  $\mu\text{L}$  (0,3–1,0 mm espessura) de polidimetilsiloxano (PDMS). Esta fase polimérica caracteriza-se por apresentar propriedades apolares que promovem interações hidrofóbicas com os analitos alvo, no qual o mecanismo de retenção ocorre principalmente através de forças de “Van-der-Waals”, embora ligações de hidrogênio também possam ter lugar (Nogueira, 2012).

A SBSE, quando comparada aos métodos convencionais de extração, apresenta uma série de vantagens, tais como: não utiliza solvente orgânico; integra a extração e concentração do soluto em etapa única e em um dispositivo extrator reutilizável, e permite a introdução deste dispositivo no sistema analítico.

#### **Microextração em sorvente empacotado (*microextraction by packed sorbent* - MEPS)**

A técnica foi desenvolvida em 2004, e consiste na miniaturização dos volumes dos dispositivos sortivos da extração em fase sólida, na qual os volumes das amostras e dos solventes foram reduzidos de mililitros para microlitros. Na MEPS, uma microcoluna, contendo de 1 mg a 2 mg de sorvente de 50  $\mu\text{m}$  e porosidade 60  $\text{\AA}$ , é conectada à agulha de uma microseringa de 100  $\mu\text{L}$  a 250  $\mu\text{L}$ . A MEPS possui a vantagem de reutilizar de 50 a 100 vezes as microcolunas, não sendo necessário descartá-las, como na SPE. Porém, a desvantagem é que a extração é realizada manualmente, sendo de difícil automação. As etapas da extração por MEPS consistem em: 1) Adicionar o solvente para ativar a fase extratora para o condicionamento; 2) Adicionar o analito na

fase extratora da microcoluna por ciclos aspirar/dispensar a amostra (20–250  $\mu\text{L}$ ); 3) Lavar a fase sólida (*clean-up*) para a remoção de interferentes; e 4) Eluir o analito com alíquotas (20–50  $\mu\text{L}$ ) de solvente orgânico ou de fase móvel e injetar no sistema analítico (Queiroz, 2011).

#### **Microextração em fase líquida (*liquid-phase microextraction* - LPME)**

Trata-se de uma minituarização da extração líquido-líquido, que combina o conceito de extrações com membranas ao uso reduzido de razões solvente orgânico/fase aquosa, conservando os princípios observados na LLE convencional (Santos et al., 2018). A LPME não necessita de nenhum aparato específico para sua implantação, podendo ser empregada em duas configurações principais: configuração em “U”, que utiliza duas microseringas conectadas à fibra (mais empregada), e configuração tipo “haste” (“*rod-like*”), em que uma microseringa é utilizada para injetar e coletar a fase aceptor (Magalhães et al., 2009). A LPME pode ser utilizada de dois modos: em duas ou três fases, de acordo com as características do analito em estudo (Oliveira et al., 2008).

#### **Microextração em gota suspensa (*single drop microextraction* – SDME)**

Foi introduzida em 1996, por Jeannot e Cantwell (1996), e consiste em utilizar uma microgota de solvente orgânico imiscível em água (~50  $\mu\text{L}$ ) imersa na solução da amostra através de um dispositivo de politetrafluoretileno (PTFE). Após a extração sob agitação, o dispositivo era retirado da amostra, e a fase orgânica injetada no cromatógrafo a gás. Os analitos de alto coeficiente de partição podem atingir altas concentrações, já que são transferidos por difusão de um volume alto de amostra (1–5 mL) para um microextrato (5–50  $\mu\text{L}$ ). Como desvantagem, a SDME não é tão robusta, pois pode ocorrer perda de solvente durante a extração, durante a etapa de agitação, e amostras viscosas ou particuladas precisam passar por pré-tratamento (Pedersen-Bjergaard et al., 2005).

#### **Extração em ponteira**

A técnica de extração em ponteira descartável (DPX) veio de uma patente (nº US6566145 B2), desenvolvida pelo Dr. William Brewer, da Universidade da Carolina do Sul, Estados Unidos, em 2003 (Pinto, 2015), e surgiu como alternativa de extração em fase sólida. A técnica DPX é uma técnica baseada no equilíbrio de sorção do analito com o sorvente, e utiliza uma ponteira (1 mL ou 5 mL) em que uma pequena quantidade de sorvente está contido livremente entre dois filtros, posicionados nas extremidades superior e inferior. O filtro inferior é permeável, para permitir a passagem de fluido na aspiração e dispensação, e o filtro superior é impermeável, para

impedir a passagem da amostra para o interior da pipeta. As etapas da extração por DPX consistem em: 1) Condicionar a fase extratora com um solvente apropriado para ativação dos sítios de ligações; 2) Aspirar a amostra para o interior da ponteira e misturá-la à fase extratora por meio da aspiração de ar, o qual promove a retenção do analito no sorvente, formando uma suspensão e permitindo uma extração rápida e eficiente; 3) Dispensar a amostra e aspirar um solvente para a remoção dos interferentes; 4) Aspirar o solvente de eluição, seguido da aspiração de ar, várias vezes, para uma completa dessorção dos analitos. O eluato pode ser injetado no sistema cromatográfico ou evaporado e reconstituído. As vantagens da DPX são a rapidez, simplicidade, volume reduzido de amostra, de solvente orgânico e uma menor massa de sorvente, sem necessidade de utilizar o vácuo, como na SPE (Pinto, 2015).

## MÉTODOS INSTRUMENTAIS

### Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS)

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas é, atualmente, a técnica que possibilita a análises de diversas substâncias com ampla caracterização de polaridade e massa molecular. Na cromatografia é feita a separação dos componentes de uma mistura entre duas fases: uma fixa e de grande área superficial, denominada fase estacionária, e um fluido que interage com a fase fixa, chamado fase móvel. As partes principais de um cromatógrafo são a bomba, o injetor, a coluna e o detector. O acoplamento da cromatografia líquida LC à espectrometria de massas MS foi um processo muito complexo, porque a LC é utilizada para compostos não voláteis, sendo a fase móvel um líquido e, neste estado da matéria, era impossível introduzir os compostos em um analisador MS, que funciona à base de íons na fase gasosa.

LC-MS/MS combina o poder de separação do sistema HPLC, e, no ponto de fases líquidas móveis que saem da coluna, a amostra líquida é pulverizada para produzir microgotas. Estas evaporam rapidamente, liberando as moléculas de analito ionizadas, que podem, então, ser separadas via MS. Sprays de fluxo de grandes dimensões podem se beneficiar de atomização adicional ou nebulização usando alto fluxo de um gás inerte como o nitrogênio. As principais aplicações são na pesquisa farmacêutica, análise ambiental, análise de alimentos e medicina forense (Bustillos, 2020).

A espectrometria de massas vem sendo largamente utilizada nas áreas biológica e alimentícia devido a algumas características da técnica, tais como alta detectabilidade, que permite que concentrações baixas de substâncias sejam detectadas e analisadas, baixo volume de amostras e uso de interfaces apropriadas para pequenos volumes, possibilitando a utilização de quantidade muito pequena de amostras, pos-

sibilidade de associação com técnicas de separação, e a utilização de misturas água/solvente na ionização, que faz com que a técnica seja ideal para o acoplamento de sistemas de separação como HPLC.

A espectrometria de massas é uma técnica para análise à nível de traços, especialmente dos compostos orgânicos. Entretanto, os analitos devem ser previamente ionizados. Portanto, este analisador possui, basicamente, uma fonte de ionização, um analisador, detector e sistema de dados.

Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são convertidos em íons. Pela ação de um agente ionizante, os íons positivos ou negativos são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massa, cuja função é separar tais íons de acordo com a sua relação massa-carga ( $m/z$ ).

No sistema LC-MS/MS, é necessário utilizar uma interface, pois as vazões utilizadas em HPLC são altas (cerca de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ), e não podem ser bombeadas diretamente ao interior do espectrômetro, que opera a baixas pressões ( $1,3 \cdot 10^{-4} \text{ Pa}$ ). Essa interface é uma fonte de ionização, que deve remover grande parte da fase móvel e realizar a ionização do analito.

## Fontes de Ionização

### a. Ionização por eletronebulização (ESI)

Na ESI, é emitido um feixe de elétrons de alta energia a partir de um filamento aquecido, que atinge o fluxo das moléculas. Estas moléculas interagem com os elétrons emitidos por um filamento de W ou Re, aquecidos e acelerados por meio de um potencial de 70 V entre o filamento e o anodo. A colisão causa uma fragmentação significativa de íons moleculares. O padrão de fragmentação de um composto é reproduzível, e estão disponíveis muitas bibliotecas de dados. Isso permite que se compare o espectro de massa de um composto da amostra com milhares de dados em uma biblioteca espectral em questão de segundos, o que simplifica o processo de determinação ou confirmação de um composto. Uma desvantagem é que a amostra deve ser relativamente volátil, e isso dificulta a análise de compostos de peso molecular alto e da maioria das biomoléculas (Chiaradia et al., 2008).

### b. Ionização Química (CI)

Na CI-MS, as moléculas da amostra são combinadas com um fluxo de gás reagente ionizado, presente em grande excesso quando comparado com a amostra. Quando ocorre a colisão, algumas moléculas são ionizadas por vários mecanismos, como transferências de prótons, transferências de elétrons e formação de adutos. Os gases mais utilizados são metano, amônia, isobutano e metanol. A escolha do gás deve ser feita com cuidado, para adequar melhor a afinidade protônica do gás

à da amostra, a fim de garantir uma ionização eficiente sem fragmentação excessiva. A principal vantagem é a produção seletiva de íons quase moleculares  $[M+H]^+$  intactos. Como a amostra deve ser rapidamente vaporizada, impede a análise de compostos de peso molecular alto e de muitas biomoléculas (Bustillos, 2020).

### c. Ionização por eletrospray (ESI)

A ionização por electro spray é uma técnica usada em espectrometria de massa para produzir íons usando um electro spray, no qual uma alta voltagem é aplicada a um líquido para criar um aerossol. Embora seja normalmente considerado uma fonte de ionização, o electro spray é, na realidade, um processo de transferência de íons pré-existentes em solução para a fase gasosa. De qualquer forma, é fácil entender porquê uma técnica que permite a transferência de íons de uma solução para a fase gasosa para análise por espectrometria de massas teve, em tão pouco tempo, um impulso tão grande: isto se deve ao fato de a maioria dos processos químicos e bioquímicos ocorrerem em fase líquida, envolvendo, muitas vezes, espécies pouco voláteis (Chiaradia et al., 2008).

A principal vantagem do electro spray sobre estas outras técnicas é que a dessolvatação ocorre gradualmente em temperaturas relativamente baixas (tipicamente, em temperatura ambiente até 80 °C), de forma a não gerar fragmentos e moléculas ionizadas. Assim, muitos dos íons gerados na fase gasosa mantêm exatamente a mesma estrutura e carga das espécies em solução, o que é perfeito para análise de espécies não voláteis e para estudos de especificação (Crotti et al., 2006).

A técnica de electro spray permite a análise de compostos com peso molecular de até 200.000 Da em equipamentos com pequeno alcance de massas (30 u a 3000 u). Isto porque, no electro spray, moléculas com alto peso molecular podem ter múltiplas cargas, que podem ser adquiridas pela ionização da macromolécula em diversos pontos da cadeia, ou, mais comumente, pela incorporação de espécies iônicas pequenas que estejam presentes na solução. Este é o caso, por exemplo, da incorporação de  $NH_4^+$  ou  $Na^+$  no modo íons positivos, ou de  $HCOO^-$  ou  $OH^-$  no modo íons negativos. Obviamente, com a incorporação destas espécies, além do aumento de carga, há também o aumento de massa. Espectrometria de massas com ionização por electro spray é aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas (Moraes; Lago, 2003).

### d. Ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI)

Na APCI, o eluente da coluna cromatográfica passa por um nebulizador pneumático, no qual gotas são geradas e dessolvatadas. O spray formado passa por uma região aquecida na qual o vapor é seco, formando espécies neutras que passam através de uma corona de descarga. Um campo suficiente para gerar ionização é aplicado na corona. Como o solvente encontra-se em maior concentração no

spray do que o analito, este é ionizado, preferencialmente, e passam a ocorrer reações entre estes íons em fase gasosa e as moléculas neutras do analito, o que dá origem aos íons do analito (Chiaradia et al., 2008). APCI-MS é muito utilizado nas análises químicas de macromoléculas, além de ser a primeira seção do espectrômetro de massas a ser liberada da dependência de um sistema de vácuo.

Após a ionização, os íons são analisados pelo analisador de massas de acordo com sua razão massa/carga (ESI-MS). Vários tipos de amostras podem ser analisadas: Substâncias de polaridade e massa molecular mediana, tais como Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAH), Bifenilas Policlorados (PCBs), ácidos graxos, esteroides e ftalatos, substâncias sem sítios ácidos ou básicos, ureias e carbamatos. As substâncias a serem evitadas são as instáveis a temperaturas mais altas e massa molecular elevada.

### Analísadores

Alguns espectrômetros de massas combinam vários tipos de analisadores. Os mais comuns incluem dois ou mais dos seguintes: Quadrupolos, TOF (time of flight), e Íon trap. Em geral, o primeiro analisador separa os íons, e uma célula de colisão é usada para os íons do fragmento, separados do fragmento por um segundo analisador.

#### a. Analisador Quadrupolo

Um analisador de quadrupolo consiste em quatro barras paralelas, arrançadas em dois pares opostos, com potencial elétrico aplicado. Com a aplicação de voltagens, a trajetória centralizada dos íons é afetada, e somente íons com uma razão  $m/z$  determinada irão atravessar no centro do quadrupolo, enquanto os outros serão desviados da trajetória central. O espectro de massas é obtido a partir da realização da variação das voltagens do quadrupolo, de maneira a se realizar uma varredura em toda a faixa de  $m/z$  desejada.

No sistema LC-MS/MS, o triplo quadrupolo é o mais utilizado nas análises de resíduos e contaminantes. A amostra é introduzida e retida inicialmente na coluna, pela qual a fase móvel é bombeada, fazendo com que o analito migre de acordo com as interações entre as fases móvel e estacionária. Na coluna, estes compostos são separados e eluídos com determinados tempos de retenção (TR). Após a eluição, eles são introduzidos no espectrômetro de massas na fonte de ionização, onde ocorre a ionização e evaporação do solvente. Formados os íons, estes seguem para o primeiro analisador, em que os íons precursores,  $[M+H]^+$  ou  $[M-H]^-$ , são determinados segundo a razão massa/carga ( $m/z$ ). Após a determinação da  $m/z$  dos íons precursores, estes são encaminhados para uma célula de colisão, onde se localiza o segundo quadrupolo, que, através da colisão com o gás argônio (mais utilizado), forma fragmentos que são determinados no segundo analisador, o terceiro

quadrupolo. Este processo é chamado de *Multiple Reaction Monitoring* (MRM), que permite o monitoramento entre os íons precursores e íons produtos selecionados, aumentando a sensibilidade nas análises (Bustillos, 2020).

Esse analisador de massas apresenta três principais vantagens: ele tolera pressões relativamente altas, os quadrupolos têm uma significativa escala de massa, com a capacidade de se analisar uma taxa  $m/z$  de 4000, que é útil porque a ionização por electrospray de proteínas e outras biomoléculas comumente produz distribuições de carga a partir de taxas de  $m/z$  de 1000 e 3500. Finalmente, espectrômetros de massas de quadrupolos são instrumentos de relativamente baixo custo.

#### **b. Analisador de tempo de voo - TOF**

O TOF-MS baseia-se na medida do tempo que um íon leva para atravessar a fonte de íons até chegar no detector. Ao entrar no TOF, todos os íons recebem um pulso de energia e são acelerados de maneira diferente, em função de suas  $m/z$ . Assim, os íons chegam ao detector em tempos diferentes. Os íons com menor  $m/z$  possuem maior velocidade e chegarão primeiro ao detector. Pode-se analisar compostos de massa baixa e até macromoléculas. TOF é mais sensível do que o quadrupolo, pois tudo que entra no analisador chega ao detector. No quadrupolo, apenas 25% dos íons conseguem atingir o detector.

#### **c. Analisadores de captura de íons (íon trap)**

É uma combinação de campos elétricos ou magnéticos que captura íons em uma região de um sistema de vácuo ou tubo de vácuo. Existem dois tipos de espectrômetros de massas de captura de íons: captura de íons por quadrupolos tridimensionais (também chamada de captura dinâmica), e de ressonância em ciclotron (captura estática). Ambas funcionam acumulando íons no seu interior, manipulando correntes alternada e de radiofrequência simultaneamente. A captura permite a liberação controlada de íons, o que permite analisar sua separação controlada, com uma resolução muito grande. A possibilidade de capturar íons por períodos que variam de milissegundos a dias permite a análise de reações de fragmentação extremamente incomuns, dando origem a espectros de massas que não podem ser obtidos através de nenhuma outra técnica.

Vantagens desse analisador: alta sensibilidade, na qual os íons são pré-concentrados e sucessivamente analisados; permite a realização de EM em multietapas, baixo custo, simplicidade, robustez e dimensão pequena ( $\sim 5 \times 5 \times 5$  cm). As desvantagens são: ineficiente para se medir abundância relativa dos íons; sujeito à interferência por espécies carregadas e reações intermoleculares; necessidade de otimização simultânea de vários parâmetros para a obtenção de dados de boa qualidade; e baixa resolução (resolução “unitária”).

Na Embrapa Meio Ambiente foram realizados diversos trabalhos relacionados ao desenvolvimento e validação de metodologia para análise de resíduos de pesticidas utilizando a LC-MS/MS em vários tipos de matrizes: peixes (Ferracini et al., 2014; Hashimoto et al., 2012; Shiroma et al., 2019; Nunes et al., 2018), solo (Assalin et al., 2014), cebola (Silva et al., 2017), água (Monteiro et al., 2014), efluentes (Assalin et al., 2016), soro de cordeiro (Batista et al., 2017), frutas e legumes (Queiroz et al., 2012), manga (Ferracini et al., 2011), água de coco e albúmen (Ferreira; Queiroz, 2021), forrageiras (Assalin et al., 2020), feijão (Concenço et al., 2020), papinha de bebê (Petrarca et al., 2017), vinho (Miele et al., 2016) e suco de uva (Miele et al., 2015).

### Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em série (GC-MS/MS)

A técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em série tem permitido uma maior confiabilidade e seletividade nas análises de resíduos de pesticidas em diferentes matrizes. Para seu uso, o pesticida tem que ser volátil e termicamente estável. Apesar de hoje ser muito utilizada a técnica LC-MS/MS, alguns pesticidas, como os organoclorados e piretróides, são mais sensíveis à GC-MS, e um número significativo de pesticidas é detectado em baixas concentrações em ambas as técnicas (Pico et al., 2020). A espectrometria de massas com uso de triplo quadrupolo (QqQ) garante uma maior sensibilidade, utilizando monitoramento de reações múltiplas (MRM). Geralmente são monitoradas duas transições: uma para quantificação, e outra para confirmação. A combinação do tempo de retenção e transições MRM (2 íons produtos) são excelentes parâmetros para correta identificação e confirmação do pesticida em estudo. A introdução do extrato da amostra ocorre, geralmente, em injetores SPL (*split/splitless*), ou vaporização por temperatura programada (*Programmable Temperature Vaporizing* - PTV), em que são injetados volumes maiores. A separação cromatográfica ocorre em uma coluna que está inserida em um forno com programação de temperatura.

As fontes de ionização por elétrons (*Electron ionization* - EI) e a ionização por pressão atmosférica (*Atmospheric-pressure chemical ionization* - APCI) são utilizadas na maioria das análises de pesticidas, sendo a segunda, para GC, utilizada mais recentemente (Saito-Shida et al., 2020). No entanto, o uso da EI permite a fragmentação uniforme e reprodutível em qualquer equipamento de GC-MS que utilize essa fonte com energia de ionização padrão de 70 eV, permitindo a comparação dos espectros com as bibliotecas existentes, como a NIST (*National Institute of Standards and Technology*). Outras técnicas são combinadas com essa, como microextração em fase sólida (SPME), *headspace* (HS) (Li et al., 2018), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) (Carro et al., 2012), as quais trazem vantagens dependendo do pesticida e da matriz analisada.



Apesar de serem técnicas em conformidade com o princípio da química verde, com redução do uso de solvente, a metodologia de extração QuEChERS, que também inovou com a redução de uso de grandes volumes de solventes na extração, desenvolvida por Anastassiades et al. (2003), tem sido amplamente utilizada em conjunto com a técnica GC-MS/MS, na qual foi possível, em uma única análise, detectar e quantificar diferentes classes de pesticidas, e, assim, otimizar e validar os métodos multiresíduos. Na GC-MS/MS, ocorre em muitos casos o uso da metodologia QuEChERS, o efeito matriz. Esse efeito ocasiona um aumento de resposta do sinal quando constituintes da matriz criam sítios ativos no sistema cromatográfico, causando um aumento de eficiência de transferência do analito, aumentando, assim, a resposta do sinal na presença da matriz. Isso pode ser resolvido com o uso de curva de calibração na matriz (*matrix-matched*) (Lehotay et al., 2010).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos de desenvolvimento e validação de metodologia para análise de resíduos de pesticidas utilizando GC-MS/MS em amostras diversas: frutas (Tankiewicz, 2019), sedimento (Dutra et al., 2019), água (Barizon et al., 2019), solo (Paraíba et al., 2011), cebola (Silva et al., 2017), água de coco e albúmen (Ferreira; Queiroz, 2021), grãos de soja (Queiroz et al., 2017), e por GC-MS/MS (detector tipo Íon Trap) em pólen apícola (Oliveira et al., 2016).

## LIMITES MÁXIMOS DE RESÍDUOS (LMR) ESTABELECIDOS PELAS AGÊNCIAS REGULADORAS

O Limite Máximo de Resíduos (LMR) é a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afins oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada em uma fase específica, desde sua produção até o consumo. LMR são expressos em miligrama de resíduo por quilograma de alimento ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ), estipulados pelos órgãos reguladores nacionais e internacionais. A extrapolação desses limites nos alimentos pode gerar litígios comerciais entre países exportadores e importadores, levando à criação de Barreiras Técnicas Comerciais.

O *Codex Alimentarius* é um Programa Conjunto da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS). Este documento se tornou um ponto de referência mundial para os consumidores, produtores e elaboradores de alimentos, para os organismos internacionais de controle e comércio de alimentos. Sua influência se estende a todos os continentes, e sua contribuição à proteção da saúde dos consumidores e à garantia de práticas equitativas no comércio de alimentos é incalculável. O *Codex Alimentarius* determina Limites Máximos de Resíduos (LMR) de agrotóxicos nos produtos de origem animal ou vegetal destinados ao consumo. No entanto, suas decisões têm apenas um caráter consultivo, e não deliberativo, o que permite a possibilidade de interpretações divergentes dos critérios de análise adotados pelas partes interessadas.

O *Codex Alimentarius* segue recomendações de institutos de pesquisas e grupos de peritos em agrotóxicos da FAO, da OMS e da *Joint Meeting on Pesticides Residues* (JMPR). A legislação internacional determina LMR para diversos ingredientes ativos (IA) em diferentes commodities, servindo de referência para substâncias não contempladas pelas legislações nacionais, e contestações são levadas à Organização Mundial do Comércio.

No caso do Brasil, o estabelecimento de LMR está previsto na legislação de agrotóxicos, mais especificamente no Decreto nº 4.074/2002, sendo esta uma atribuição do Ministério da Agricultura e Ministério da saúde. A determinação de LMR por parte do *Codex* interessa aos países exportadores, mas nem sempre são adotadas, especialmente pelos países importadores que possuem órgãos reguladores consolidados e regras restritivas para o controle de agrotóxicos. Estes consideram que os padrões estabelecidos pelo *Codex* nem sempre são apropriados para todos os países (OMC, 2012). Os limites estabelecidos levam em consideração estudos de resíduos em culturas tratadas e a Ingestão Diária Aceitável (IDA), que é a quantidade máxima de agrotóxico que um determinado indivíduo pode ingerir por dia, durante toda a vida, sem que sofra danos à saúde por tal ingestão.

Dentre as limitações dos LMR estabelecidos pelo *Codex* estão as diferenças edafoclimáticas regionais, que podem refletir nos resultados dos estudos de resíduos, as diferenças das condições na geração e análise dos estudos de resíduos (como práticas agrícolas na condução do experimento, metodologia e equipamentos laboratoriais para análise dos resíduos), assim como os hábitos alimentares de cada país, os quais podem significar maior ingestão diária de determinados alimentos. Para superar essas limitações, a comissão do JMPR adota fatores de correção e fatores de incerteza (ambos discricionários), o que deixa espaço para que países importadores argumentem pela necessidade de maior proteção para os consumidores, enquanto os países exportadores podem alegar a necessidade de atender às práticas agronômicas de produção (Codex, 2005; 2013).

A Comissão do *Codex* é composta por vários comitês com diferentes finalidades. Um deles, o Comitê sobre Resíduos de Pesticidas, é responsável por: estabelecer e publicar uma lista dos LMR para cada cultura agrícola/agrotóxico; elaborar as listas prioritárias de agrotóxicos a serem avaliados/reavaliados pelo JMPR (grupo de peritos da FAO/OMS que presta aconselhamento científico ao Comitê); e determinar métodos de amostragem e análise de resíduos de agrotóxicos (Hermida et al., 2015).

No Brasil, os padrões de qualidade para os corpos superficiais de água são preconizados pela Resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA (Brasil, 2005), que dispõe sobre as diretrizes ambientais para o enquadramento de qualidade de rios e córregos (Ferraz; Andreola, 2019). Nesta resolução são estabelecidas concentrações máximas permissíveis de metais e alguns compostos orgânicos para águas doces, salinas e salobras, classificadas segundo seu destino de uso e preservação das comunidades aquáticas (Brasil, 2005).

Com relação às águas destinadas ao consumo humano, quanto à sua ingestão, valores máximos permissíveis devem estar de acordo com a Portaria de Consolidação nº 05/2017, do Ministério da Saúde, e com a resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), RDC nº 275/2005 (Brasil, 2017; Brasil, 2005; Ferraz; Andreola, 2019).

## PROTOCOLOS PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Para que um método analítico seja confiável e adequado ao uso pretendido, há necessidade de validá-lo por meio de avaliação de diversos parâmetros, conforme descritos abaixo. Os parâmetros, bem como modelos de calibração, são elaborados, otimizados e validados visando uma análise livre de interferências nas amostras, a fim de atingir os LMR estabelecidos pelos órgãos normalizadores nacionais e internacionais (Inmetro, 2007; European Commission, 2002; EURACHEM, 2012; European Commission, 2017, CODEX, 2013).

### Seletividade

É a capacidade do método analítico de distinguir o analito (substância de interesse) dos demais componentes da amostra. Desta forma, certifica-se que a resposta do analito seja capaz de ser determinada independentemente de todos os componentes presentes nas amostras, sem quaisquer interferências (Ribani et al., 2004).

### Efeito matriz

Trata-se de um parâmetro que permite avaliar se a curva analítica deve ser construída a partir da amostra (matriz ou extrato) ou no solvente. O fenômeno de supressão, ou aumento de íons, ocorre quando se emprega a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS), ou a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas sequencial (GC-MS/MS), e podem influenciar e conduzir a erros na quantificação dos analitos, bem como a detecção, a exatidão e a precisão do método. Algumas estratégias, como a diluição da amostra, são utilizadas para reduzir o efeito matriz. Quando o efeito matriz indica um aumento ou supressão de sinal significativamente alto, sugere-se que a determinação do analito seja realizada na curva a partir da amostra (Ferrer et al., 2011).

## Linearidade (faixa linear)

A linearidade é determinada a partir de uma faixa de concentração do analito, dada pela variável (x) estabelecida em uma curva analítica, e a capacidade de obtenção de resposta do equipamento, dada pela variável (y), quando produz uma equação de regressão linear, a partir dos coeficientes de inclinação da curva, (a) e (b), de interseção da curva com eixo y, quando  $x=0$ , dada pela equação:  $y=ax+b$ . Além disso, a linearidade pode ser calculada utilizando o coeficiente de correlação (r), bem como através do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), e os ajustes são considerados satisfatórios quando estão iguais ou acima de 0,99 (European Commission, 2017).

## Exatidão

A exatidão corresponde aos resultados de um valor de referência comparados ao de um determinado ensaio, mostrando a existência de erros sistemáticos e o grau de concordância. Existem alguns procedimentos que podem avaliar a exatidão, como: materiais de referência, adição padrão, comparação de métodos, e, um dos mais utilizados, os ensaios de recuperação. Os valores aceitáveis de recuperação podem variar de 50-150%, com precisão de até  $\pm 20\%$  (European Commission, 2017; Lanças, 2004).

## Precisão

A repetitividade ou precisão intra-dia avalia a proximidade dos resultados partindo de uma mesma amostra, bem como a concordância entre sucessivas medições sob as mesmas condições de um mesmo método como repetições, procedimento, instrumento, local, mesmo analista e mesmo dia. Pode ser calculada utilizando a estimativa do desvio-padrão relativo, expressa em RSD, e coeficiente de variação (CV), com valores aceitos de até 20%. Já a precisão intermediária, ou intra-dia, avalia se a mesma amostra corresponde aos mesmos resultados, utilizando o mesmo laboratório, e variando condições como tempo, analistas e equipamentos (Ribani et al., 2004).

## Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) determina a menor concentração do analito que pode ser detectada pelo equipamento, enquanto o limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor concentração que pode ser quantificada e obtida experimentalmente utilizando o método, desempenhado com veracidade e precisão. O LOD e LOQ podem ser calculados considerando três métodos: parâmetros da curva analítica, visual ou relação sinal ruído (European Commission, 2017; Ribani et al., 2004).

## Limite de decisão ( $CC\alpha$ ) e capacidade de detecção ( $CC\beta$ )

São parâmetros definidos que medem o desempenho do procedimento analítico considerando a incerteza da medição no nível de concentração no qual se toma alguma decisão, o chamado nível de interesse (CE 657, 2002). O  $CC\alpha$  é o limite a partir do qual se pode concluir que uma amostra não é conforme, com uma probabilidade de erro de  $\alpha$ . O erro  $\alpha$  é a probabilidade de uma amostra analisada ser conforme apesar de se ter obtido um resultado não conforme (falsa decisão não conforme). O  $CC\beta$  é o teor mais baixo de substância que pode ser detectado, identificado e/ou quantificado em uma amostra com uma probabilidade de erro de  $\beta$ . Esses parâmetros são utilizados para reportar os dados sobre resíduos em produtos de origem animal. Em caso de substâncias em que não está definido um limite permitido, a capacidade de detecção é a concentração mais baixa a que o método é capaz de detectar nas amostras realmente contaminadas com uma certeza estatística de  $1 - \beta$ . No caso de substâncias com um limite permitido estabelecido, a capacidade de detecção é a concentração a que o método é capaz de detectar concentrações nele com uma certeza estatística de  $1 - \beta$ .

Para obter o  $CC\alpha$  e o  $CC\beta$ , são realizadas análises de 20 amostras da matriz branco fortificada com o analito no valor do LMR. De acordo com a Comunidade Europeia, para o cálculo do  $CC\beta$  deveriam ser fortificadas 20 amostras da matriz branco no valor de  $CC\alpha$ . Porém, para simplificar o método, o Mapa adotou calcular os dois parâmetros com a fortificação de 20 amostras da matriz branco também no LMR, visto que os valores de LMR e  $CC\alpha$  são muito próximos. Os parâmetros são calculados com as Equações 1 e 2:

$$CC\alpha = LMR + 1,64 \sigma \quad (1)$$

$$CC\beta = CC\alpha + 1,64 \sigma \quad (2)$$

em que:  $\sigma$  = Desvio-padrão das 20 medidas.

Esses dois parâmetros foram introduzidos pela Comunidade Europeia, sendo que o  $CC\beta$  é mais utilizado para triagem, quando se quer processar muitas amostras em pouco tempo para detectar a presença do composto e eger amostras não conformes. Nos métodos de confirmação, são exigidos tanto o  $CC\alpha$  quanto o  $CC\beta$ . O  $CC\alpha$  é mais importante, pois determina a concentração a partir da qual se considera uma amostra como não conforme, com uma probabilidade de erro de  $\alpha$ . O erro  $\alpha$  é a probabilidade de uma amostra analisada ser conforme apesar de se ter obtido um resultado não conforme (falsa decisão não conforme). Os erros  $\alpha$  e  $\beta$  estão apresentados na Tabela 15.1.

Tabela 15.1. Teste de hipótese para resíduos e contaminantes e a presença de falsos positivo e negativo.

Teste de Hipótese		Resíduos e Contaminantes	
		Ausente	Presente
Resultado do Teste	Negativo	Verdadeiro negativo	Falso negativo (Erro $\beta$ )
	Positivo	Falso positivo (Erro $\alpha$ )	Verdadeiro positivo

## APLICAÇÕES DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS E CONTAMINANTES

### Comportamento dos xenobióticos no ambiente

Xenobióticos são produtos estranhos ao ambiente. Contêm anéis aromáticos e alicíclicos, ou seja, produtos derivados de benzeno ou do petróleo, incluindo os pesticidas e, destes, os cloroaromáticos, como cloroanilinas, cloroacetamidas e triazinas representam classes de pesticidas mais utilizadas mundialmente, estando em um extremo de persistência no ambiente. Dentre as cloroanilinas, citam-se os seguintes pesticidas: linuron, diuron, propanil, alachlor, procimidone, que têm como metabólitos comuns 3,4 ou 3,5-dicloroanilina (Melo, 2021).

Pesticidas são substâncias biologicamente ativas projetadas para interferir nos processos metabólicos e controlar pragas, doenças e plantas daninhas. Como geralmente possuem algum grau de toxicidade, é importante compreender o destino ambiental destes compostos, e avaliar sua exposição potencial e riscos associados para a saúde humana e o meio ambiente. A aplicação de pesticidas em áreas agrícolas pode levar ao transporte de uma fração destas substâncias para outros compartimentos ambientais. A compreensão dos processos químicos, físicos e biológicos que controlam os comportamentos dos pesticidas no ambiente é fundamental para identificar e desenvolver estratégias capazes de reduzir possíveis impactos adversos a ele e à saúde humana (Rice et al., 2007).

O destino e o comportamento de um pesticida no solo e água são governados por uma variedade de fatores físicos, químicos e biológicos, muitas vezes complexos e dinâmicos. Estes incluem sorção-dessorção, volatilização, degradação química e biológica, absorção pela planta, escoamento superficial e lixiviação. O transporte de pesticidas do solo para a água, ar ou alimentos é controlado diretamente por esses processos. A sorção/dessorção e degradação (biótica e abiótica) são considerados os mais relevantes, já que a maior parte dos pesticidas aplicados é retida por constituintes do solo, orgânicos e inorgânicos, e/ou degradada por processos químicos ou microbiológicos (Arias-Estévez et al., 2008; Wauchope et al., 2002).

A sorção é um processo importante que regula a acessibilidade de pesticidas a organismos-alvo e seu potencial para atingir organismos não-alvo, por exemplo, por

meio da contaminação da água. Por sorção, nos referimos ao processo físico-químico pelo qual um pesticida presente na solução do solo se liga às partículas deste. A matéria orgânica e os minerais de argila são os principais constituintes do solo envolvidos na sorção dos pesticidas. No entanto, diferentes mecanismos de sorção, incluindo troca iônica, ponte catiônica, transferência de carga, ligação de hidrogênio e interações de Van der Waals, podem ocorrer em solos, dependendo das propriedades de superfície dos sorventes e das características de carga dos pesticidas (Weber, 2018).

A transformação e degradação dos pesticidas é fundamental para atenuar os seus níveis de resíduos no solo. Este processo é influenciado por fatores abióticos e bióticos, e pode seguir caminhos complexos, envolvendo uma variedade de interações entre microrganismos, constituintes do solo e a molécula. Assim, as taxas de degradação dependem de muitas propriedades microbiológicas, físicas e químicas do solo, bem como das propriedades do pesticida (Arias-Estévez et al., 2008; Fenner et al., 2013).

Estudos cinéticos revelaram várias interações entre sorção e degradação. É comumente aceito que os produtos químicos sorvidos são menos acessíveis aos microrganismos, e que a sorção conseqüentemente limita sua degradação, bem como seu transporte. No entanto, embora mais lenta do que em solução, a degradação dos produtos químicos sorvidos não é necessariamente desprezível, e um aumento na sorção não necessariamente acarreta uma redução proporcional na degradação (Lewis et al., 2016).

Os pesticidas aplicados no solo podem mover-se para as águas superficiais por meio do escoamento e da erosão do solo, para as águas subterrâneas por lixiviação, e para a atmosfera por volatilização e deriva. O transporte de pesticidas pelo escoamento superficial e seu impacto na qualidade da água é uma das principais preocupações relacionadas ao uso destas substâncias (Yang et al., 2016).

A Embrapa Meio Ambiente tem participado de pesquisas com o objetivo de compreender os fatores que impactam o transporte de pesticida das áreas agrícolas para outros compartimentos ambientais, com especial atenção para os processos mais relevantes em ambientes tropicais. A manutenção da palhada na superfície do solo, pelo plantio direto de grãos ou colheita mecânica da cana de açúcar, além de trazer inúmeros benefícios para a conservação do solo e da água, também tem grande influência no escoamento superficial dos agrotóxicos. Trovato et al. (2020) demonstraram que a influência da palhada sobre o transporte em superfície de pesticidas depende das características físico-químicas das moléculas. A fração de pesticidas transportada via escoamento superficial foi maior na presença de palhada para moléculas com alta solubilidade em água. Já para moléculas com menor solubilidade, a palhada auxiliou na redução das perdas pelo transporte na superfície do solo.

Pesquisa semelhante foi conduzida por Vaz et al. (2021), que concluiu que os resíduos vegetais mantidos na superfície do solo com o advento da colheita mecanizada na cultura de cana-de-açúcar não foram capazes de reduzir as perdas por escoamento

superficial de moléculas com alta solubilidade em água. Por outro lado, a partir da manutenção de 50% da quantidade de palhada na superfície do solo ( $7 \text{ t ha}^{-1}$ ), foi possível reduzir substancialmente as perdas das moléculas com menor solubilidade em água. Tal resultado é de grande relevância para o setor sucroenergético, pois indica a quantidade de palhada que pode ser removida do campo para geração de energia sem comprometer os benefícios ambientais oriundos de sua manutenção na superfície do solo.

## Programas de monitoramento da qualidade de água

Os agrotóxicos são substâncias utilizadas no controle de pragas na agricultura, e por esta razão são considerados de grande importância para a obtenção dos elevados níveis de produtividade observados nesta atividade nas últimas décadas. No entanto, o uso dos agrotóxicos tem levado a uma série de questionamentos relacionados à saúde humana e ao meio ambiente (Gerónimo et al., 2014; Dellamatrice; Monteiro, 2014; Hunt et al., 2016; Laabs et al., 2007; Ogbeide et al., 2015).

A contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos tem sido registrada em diferentes países e regiões no mundo (Iturburu et al., 2019; Papadakis et al. 2015; Zhou et al., 2020). O transporte dos agrotóxicos das áreas de agricultura até os corpos d' água se dá principalmente pelo escoamento superficial (Vaz et al., 2021), fluxo subsuperficial no perfil do solo, deriva e fontes pontuais de contaminação (Tang et al., 2012).

Diante deste cenário, é fundamental que se monitorem os níveis destes compostos químicos nas águas, possibilitando o estabelecimento de tendências espaço-temporais que, por sua vez, possam subsidiar ações e políticas públicas que visam mitigar eventuais situações de risco à população e ao meio ambiente.

No Brasil, os agrotóxicos têm sido detectados principalmente em águas superficiais. No entanto, os estudos disponíveis são escassos e concentrados em poucas regiões de relevância agrícola. Na maioria destes estudos, os herbicidas são a classe de agrotóxicos com maior frequência de detecção, seguidos dos fungicidas e inseticidas, cujas proporções são aproximadas. Em relação aos riscos, os inseticidas são as substâncias que trazem maior preocupação à biota aquática (Albuquerque et al., 2016; Machado et al., 2016).

Com o objetivo de monitorar a qualidade dos mananciais utilizados para o abastecimento da população, o Ministério da Saúde coordena o Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (Vigiagua). Os dados de qualidade de água, incluindo a quantidade de agrotóxicos, são inseridos no Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (Sisagua) por estados e municípios, ou ainda pelas empresas prestadoras de serviço de abastecimento de água. Até 2021, o Vigiagua monitorava um total de 27 ingredientes ativos. Com a publicação da portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021, o programa



passou a monitorar um total de 54 substâncias, entre as moléculas de agrotóxicos e alguns de seus metabólitos (Brasil, 2021).

A participação dos municípios no Vigiagua ainda é pequena, mesmo com o aumento gradual observado ao longo dos anos, e está relacionada ao nível de desenvolvimento econômico da região. O número de municípios participantes do Vigiagua é maior nas regiões sul e sudeste, e muito baixa na região norte. Além disso, a padronização insuficiente da expressão dos resultados analíticos torna difícil a interpretação do conjunto de dados disponíveis no sistema, inconsistência que pode ser atribuída a falhas no preenchimento do Sisagua, uma vez que cada usuário é responsável por esta atividade (Barbosa et al., 2015).

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (Cetesb) é responsável por uma rede de monitoramento da qualidade da água, incluindo os agrotóxicos. Em parceria com a Embrapa Meio Ambiente, a Cetesb coordenou um projeto de pesquisa com o objetivo de aprimorar o seu programa de monitoramento de agrotóxicos. Além das moléculas legisladas, foram incluídos também compostos não legislados, mas relevantes em termos toxicológicos ou de quantidade utilizada. Os resultados indicaram que o consumo de água oriunda dos mananciais monitorados no estado de São Paulo não acarreta riscos para a população. Por outro lado, concentrações acima de critérios nacionais e internacionais para proteção da vida aquática foram observadas para os agrotóxicos 2,4-D, clorpirofós, fipronil, imidacloprido e malation. (Cetesb, 2021).

Em um trabalho realizado por Monteiro et al. (2014), alguns resíduos de herbicidas, como ametrina, atrazina, simazina e tebutiuron, foram determinados em níveis entre 0,01–10,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Em 2010, análises físico-químicas e ecotoxicológicas também foram utilizadas para avaliar a qualidade de amostras da água do rio Corumbataí, (água bruta - RW; filtrada - FW; e tratada - TW), processadas pela Estação de Tratamento de Água (ETA) de Piracicaba, SP. Da mesma forma, trihalometanos, tais como clorofórmio e bromodiclorometano, produzidos como resultado do processo da ETA, foram também encontrados em concentrações que não prejudicam a saúde ambiental ou humana. Concentrações de cloro livre elevadas foram encontradas nas amostras de água FW e TW, e foram os prováveis responsáveis pelos efeitos de toxicidade observados na alga *Pseudokirchneriella subcapitata* e no microcrutáceo *Daphnia magna*.

Por outro lado, resultados dos testes de toxicidade realizados com *Hydra attenuata* mostraram que este organismo é resistente a água clorada, sendo um organismo potencial a ser utilizado para avaliações ecotoxicológicas em águas tratadas. O trabalho mostrou que estes testes de toxicidade simultâneos com análises químicas são úteis para descobrir relações de causa-efeito existentes entre supostos resultados tóxicos, físicos e químicos, e, desse modo há uma melhora na interpretação de dados de qualidade da água.

## Estudos ecotoxicológicos (bioconcentração)

A bioconcentração é um fenômeno que ocorre quando a velocidade de absorção de um composto é maior do que a velocidade de eliminação do mesmo, resultando em seu acúmulo no organismo do animal, sendo a forma mais direta de avaliar o acúmulo de substâncias em organismos aquáticos. É um fenômeno importante para prevenir a contaminação de peixes utilizados como alimentos para o consumo humano, para proteger o ambiente aquático e observar a manifestação de efeitos subletais do composto em organismos não alvo (Jonsson, 1991).

A bioconcentração é estimada pelo fator de bioconcentração (FBC), que é calculado de acordo com a Equação 3, sendo uma relação entre a concentração da substância no tecido do peixe ( $C_f$ ) e a concentração na água ( $C_w$ ), quando se atinge o equilíbrio aparente durante a fase de acúmulo do composto (Jonsson, 1991):

$$FBC = C_f/C_w \quad (3)$$

Quando uma determinada concentração de um agente tóxico (antibióticos, agrotóxicos, metais pesados) é adicionada à água em que os peixes são criados, podem ser realizados ensaios de bioconcentração. Voogt et al. (1990) estudaram o acúmulo de agrotóxicos como dibenzodioxinas policloradas em peixes e outras espécies aquáticas, como crustáceos.

Esses estudos de bioconcentração também já foram realizados para avaliar inseticidas como cipermetrina clorpirifós (Bonansea et al., 2017), endossulfan (Jonsson, 1991), fármacos como ibuprofeno em peixe boi de cabeça chata e bagre americano (Nallani et al., 2011), de sulfonamidas, fluoroquinolonas, macrolídeos e cloranfenicol em água, sedimento, produtos marinhos e utilizados na alimentação, como camarão, ostras e caranguejo (Zhang et al., 2018), e metais pesados como mercúrio (Cember et al., 1978). Na Embrapa Meio Ambiente foi verificada também a bioconcentração dos herbicidas ametrina, diuron, hexazinone e tebutiuron utilizados em cana de açúcar em tilápia (Jonsson et al., 2019), cana de açúcar (Cerdeira et al., 2015), milho (Paraíba, et al., 2010), e sulfametazina em tilápia (Nunes et al., 2018).

Avaliar a bioconcentração é relevante para confrontar os dados de acúmulo de um composto em determinado organismo com os valores de IDA propostos pela OMS. Por meio deste ensaio, pode-se também estudar a redução do composto dos tecidos do organismo quando cessa a exposição e calcular o tempo de depleção de resíduos dos peixes (Jonsson, 1991). Com essas informações, podem-se estabelecer recomendações técnicas aos produtores, a fim de obter um produto seguro para consumo e potencialmente comercial.

## Segurança dos alimentos

Os alimentos desempenham funções importantes no fornecimento de energia e nutrientes, contribuindo para o desenvolvimento e saúde do ser humano e do animal. Contudo, a ação antropogênica no tratamento contra doenças, pestes e o aumento para a produção de alimentos têm como consequência a introdução de medicamentos veterinários e agrotóxicos em matrizes alimentares de origens animal e vegetal. Algumas dessas substâncias ainda foram pouco estudadas e o conhecimento sobre elas é escasso. São recentes as descobertas dos riscos da presença dessas substâncias nos alimentos, por isso são caracterizadas como contaminantes (Almeida, 2011; Pres-tes et al., 2009).

A garantia de segurança e qualidade do alimento é uma preocupação dos consumidores, que têm se atentado à possibilidade de contaminação em vários setores do processo produtivo, e isso tem se tornado um dos grandes desafios no controle quando associados às misturas de contaminantes. Adicionalmente, o número desses contaminantes introduzidos nos alimentos tem preocupado em decorrência da capacidade de sofrerem bioacumulação, podendo se transformar em substâncias mais nocivas, e o número desses compostos inseridos na alimentação, de forma acidental ou intencional, vem aumentando exponencialmente (Sousa et al., 2010; Ajikumar et al., 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) realiza, desde 2001, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (Para), uma ação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela Anvisa, em conjunto com órgãos estaduais e municipais de vigilância sanitária e laboratórios estaduais de saúde pública. A análise consiste em identificar os tipos de agrotóxicos presentes nos alimentos, verificar se são autorizados para aquela cultura, e se estão dentro do limite máximo de resíduos (LMR) permitido pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2016).

Ao longo dos 15 anos do Para, detectou-se ingredientes ativos não autorizados para a cultura ou não autorizados no país, sendo que a partir do ano de 2007 ocorreu um aumento deste percentual, chegando, em 2008, próximo de 90% dos ingredientes ativos detectados (Lopes et al., 2021). O resultado apresentado pelo Para serve para subsidiar as ações de fiscalização da vigilância sanitária e dar suporte a uma estimativa de exposição alimentar aos agrotóxicos, o que é imprescindível na reavaliação dos ingredientes ativos já registrados, além de fornecer informações ao Ministério da Agricultura para orientar as ações de fiscalização no campo. Outro avanço proporcionado pelos resultados do Para foi a criação de legislações específicas para o controle e a fiscalização da rastreabilidade de hortifrutis em toda a cadeia produtiva desses alimentos, possibilitando aos fiscais mapear e penalizar os responsáveis por casos de amostras irregulares.

O fato de o perfil de irregularidades prevalentes nos alimentos ser de ingredientes ativos não autorizados para a cultura, ou não autorizados no país, traz uma preocupação ainda maior quanto ao risco existente, já que estas substâncias não estão incluídas nos cálculos da ingestão diária aceitável (IDA). O próprio procedimento utilizado para o cálculo da IDA também é bastante questionável, em decorrência da fragilidade das evidências científicas que o sustenta. Além disso a IDA desconsidera os efeitos sinérgicos de outras drogas ou outros fatores intervenientes do próprio agrotóxico ou da sua ação sinérgica a outros produtos químicos (Carneiro et al., 2015)

Novos estudos são necessários para a compreensão da permanência ou do aumento da presença de agrotóxicos, autorizados ou não, nos alimentos comercializados no país, diante da farta evidência dos prejuízos que acarretam à saúde. Destaca-se a existência do monitoramento e a identificação da presença de resíduos de agrotóxicos proibidos no país ou para a cultura, ou acima dos limites permitidos, possibilitando um alerta ainda maior para a sociedade.

### Outras aplicações - *Wetlands*

Contaminantes emergentes que abrangem diversos produtos químicos, como corantes, fármacos, estrogênios, polímeros e outros, acabam de diversas maneiras contaminando corpos d'água. Esses produtos são um grande problema para as empresas de tratamento de água das grandes cidades.

Um sistema natural de tratamento de água, conhecido por *wetlands*, que utiliza plantas aquáticas (macrófitas) para remover poluentes, mostrou-se eficaz na eliminação de moléculas de difícil remoção. Esse estudo foi realizado em escala laboratorial para a remoção dos hormônios etinilestradiol (EE2) e levonorgestrel (LNG), e o composto químico bisfenol A (BPA), todos considerados contaminantes emergentes e de grande preocupação nas estações de tratamento de água. A maior eficiência de remoção dos interferentes foi obtida em um sistema que combinou minipapiro com carvão de bambu (Campos et al., 2019).

A tecnologia desenvolvida apresentou resultados muito promissores e tem grande potencial de aplicação, inclusive em comunidades rurais isoladas. No entanto, as *wetlands* ainda não são muito empregadas no Brasil (Campos et al., 2019).

### Bioindicadores de contaminação ambiental

A simples mensuração dos níveis de substâncias químicas presentes no ambiente não é suficiente para revelar os reais efeitos adversos da contaminação. Torna-se necessária a avaliação dos efeitos biológicos da contaminação em diversos níveis hierárquicos. A utilização de uma bateria de bioindicadores nos permite avaliar e for-

mular um retrato detalhado dos diferentes efeitos das diversas formas de poluição nos organismos aquáticos, sendo possível diferenciar o efeito dos agrotóxicos. Esses bioindicadores são definidos como componentes biológicos, células, processos bioquímicos, estruturas e funções biológicas, alteradas quando em contato com compostos xenobióticos. Indicadores em diferentes níveis de organização biológica fornecem informações complementares, necessárias para a análise de risco ecológico. A incorporação dos bioindicadores nos programas de vigilância e controle da contaminação ambiental do meio aquático proporcionará um conhecimento mais preciso da qualidade ambiental (Arias et al., 2007).

Torna-se necessário investigar as possibilidades de definir e utilizar uma abordagem integrada para avaliar o efeito tóxico de substâncias poluentes em ecossistemas aquáticos, através do desenvolvimento e aplicação de uma bateria de bioindicadores com quatro níveis de complexidade (comunidade, individual, celular e molecular), e, assim, determinar o grau de impacto causado no ecossistema de uma determinada área, utilizando peixes e macroinvertebrados como indicadores de efeitos biológicos (Arias et al., 2007).

Uma pesquisa descrita por Oliveira et al. (2016) avaliou o potencial do pólen apícola como bioindicador de contaminação ambiental por agrotóxicos. Para isso, dois métodos analíticos foram desenvolvidos e validados por QuEChERS e GC-MS/MS para quantificação de agrotóxicos, sendo um para 26 pesticidas, e o outro para 19. Nas amostras provenientes da estação experimental da Embrapa Meio Ambiente não foram quantificados nenhum dos pesticidas, porém foram detectados abaixo dos limites de quantificação dos métodos os pesticidas bioaletrina, em 4 amostras, e pendimetalina, em 18. Os pesticidas alacloro, aldrin, bioaletrina, endossulfan alfa, fempropatrim, permetrina e trifluralina foram detectados em 7 das 21 amostras provenientes de apicultores de Ribeirão Preto, SP. Como as abelhas percorrem longas distâncias, o pólen mostrou ser um possível bioindicador de contaminação ambiental.

### **Processos Oxidativos Avançados (POA's)**

Os Processos Oxidativos Avançados (POA's) são baseados na geração de radicais livres, principalmente o radical OH, com alto poder oxidante e que pode promover a degradação de vários compostos poluentes (Fioreze et al., 2014). Os POA's podem ser utilizados em conjunto com tratamentos biológicos, a fim de aumentar a biodegradabilidade de compostos recalcitrantes, diminuindo, assim, o tempo requerido para o tratamento via processos biológicos tradicionais (Morais; Zamora, 2005). Esses processos têm obtido grande atenção devido ao aumento da complexidade e dificuldade no tratamento de águas residuárias, o que tem sido motivo para a busca de novas

metodologias visando a remediação desses rejeitos, as metodologias de tratamento via Oxidação Avançada, dentre as quais estão: processos envolvendo  $H_2O_2$ , sistemas Fenton e Foto-Fenton, Fotocatálise Heterogênea e sistemas fundamentados na utilização de ozônio (Fioreze et al., 2014).

As principais vantagens destes processos estão em sua inespecificidade, podendo ser utilizados para degradar substratos de qualquer natureza química, na possibilidade de emprego para degradar poluentes cuja concentração seja muito baixa ( $\mu g L^{-1}$ ) e na não geração de resíduos. Algumas desvantagens são observadas, como os custos, que podem ser elevados, e a formação de subprodutos de reação (Fioreze et al., 2014).

No trabalho realizado por Assalin et al. (2016), a fotocatalise heterogênea solar utilizando  $TiO_2$  imobilizado foi aplicada no tratamento de efluentes agrícolas decorrentes da aplicação de formulações comerciais de metil paration. Por meio de análises por LC-MS/MS, o desaparecimento do ingrediente ativo, bem como a formação de seu metabólito, foram monitorados, ao passo que a eficiência de mineralização foi monitorada por medidas de carbono orgânico total (COT). O microcrustáceo *Artemia salina* foi utilizado nos estudos. A eficiência de remoção de COT pelo processo fotocatalítico foi de 48,5%. Após 45 minutos de tratamento, a eficiência de remoção do metil paration foi de 90%, sendo completamente mineralizado ao final do tratamento. Durante o processo fotocatalítico foi observada a formação e remoção do metabólito metil paraoxon. O tratamento fotocatalítico resultou em um aumento da mobilidade do microcrustáceo, indicando diminuição da toxicidade aguda, mostrando que esta tecnologia é eficiente para a degradação deste tipo de efluente.

No trabalho realizado por Martinez et al. (2015) foi estudada a degradação do hormônio 17- $\beta$ -estradiol presente em um efluente sintético de indústria de medicamentos farmacêuticos de uso veterinário, pelo processo fotooxidativo  $H_2O_2/UV$ . A degradação do 17- $\beta$ -estradiol, assim como a redução da carga orgânica do efluente, foram avaliadas. Vários ensaios foram realizados com variação da concentração de peróxido de hidrogênio, pH, e presença de radiação UV. Os melhores resultados foram obtidos em pH 5, concentração de  $H_2O_2$  de  $10 mg L^{-1}$  e com dose fixa de radiação UV de  $250,1 mWs (cm^2)^{-1}$ . Nessas condições, a eficiência de remoção do 17- $\beta$ -estradiol foi de aproximadamente 60% em 60 minutos, e a eficiência na remoção de COT foi de 45%. A principal contribuição foi que os resultados mostraram que o POA  $H_2O_2/UV$  se apresenta como uma tecnologia viável para o tratamento de efluentes contendo estradiol.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Química Analítica vem avançando cada vez mais no desenvolvendo e/ou aperfeiçoamento das técnicas analíticas, principalmente as cromatográficas, aliadas aos métodos de preparo de amostras eficientes, rápidos e robustos, como o QuEChERS,

para a determinação de resíduos e contaminantes em níveis muito baixos em diversos tipos de matrizes. De forma geral, essas recentes abordagens incluem as seguintes etapas: preparação da amostra, separação, e detecção para posterior quantificação dos analitos de interesse.

Essas novas estratégias têm mostrado serem capazes de atender às normas exigidas pelas agências reguladoras, que são responsáveis pelos programas de monitoramento de resíduos de contaminantes em alimentos e em amostras ambientais. Somente por meio de métodos sensíveis e confiáveis é que se torna possível assegurar a qualidade e segurança dos alimentos e assim proteger a saúde dos consumidores. As técnicas analíticas por meio da análise de alimentos possuem grande importância em toda a cadeia produtiva, pois atuam em vários segmentos do controle de qualidade, que envolve desde a produção do alimento no campo até a mesa do consumidor (in natura ou processado). Além disso, inúmeros métodos analíticos desenvolvidos e validados vêm sendo aplicados com sucesso em estudos envolvendo o comportamento de pesticidas no ambiente, programas de monitoramento de qualidade de água, estudos ecotoxicológicos, bioindicadores de qualidade ambiental, dentre outros.

As pesquisas apresentadas neste capítulo representam a atual situação em termos de análises de resíduos e contaminantes. Para que se mantenha neste patamar, é necessário que Embrapa continue reconhecendo a importância destes temas e mantenha os incentivos para a aprovação de projetos de pesquisa, parcerias com universidades, centros de pesquisas e empresas, além de programas de capacitação para aprimoramento na formação da equipe técnico-científica.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**: relatório de atividades 2013-2015, 2016. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3778json-file-1>. Acesso em: 02 de jun. 2021.
- AJKUMAR, P. K.; XIAO, W. H.; TYO, K. E. J.; WANG, Y.; SIMEON, F.; LEONARD, E.; MUCHA, O.; PHON, T. H.; PFEIFER, B.; STEPHANOPOULOS, G. Isoprenoid Pathway Optimization for Taxol Precursor Overproduction in *Escherichia coli*. *Science*. v. 300, p. 70-74, 2010.
- ALBUQUERQUE, A. F.; RIBEIRO, J. S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A. J. A.; MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A. Pesticides in Brazilian freshwaters: a critical review. *Environmental Science: processes impacts*, v. 18, n. 7, p. 779-787, 2016.
- ALMEIDA, G. Pesquisador do Instituto Biológico participa da criação de método mais rápido e eficaz para análise de resíduos em alimentos, 2021. Disponível em: <http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/noticia/pesquisador-do-instituto-biologico-participa-da-criacao-de-metodo-mais-rapido-e-eficaz-para-analise-de-residuos-em-alimentos>. Acesso em: 29 de ag. 2021.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. Salvador, BA: EDUFBA, 2011. 221 p.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.
- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- ARIAS-ESTÉVEZ, M.; LÓPEZ-PERÍAGO, E.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GÁNDARA, J.; MEJUTO, J. C.; GARCÍA-RÍO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 123, n. 4, p. 247-260, 2008.
- ARTHUR, L. C.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem*, v. 62, p. 2145-2148, 1990.
- ASSALIN, M. R.; FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. do N. de; JONSSON, C. M.; CLEMENTE, Z.; SILVA, S. R. C. M. Photocatalytic degradation of an organophosphorus pesticide from agricultural waste by immobilized TiO<sub>2</sub> under solar radiation. *Revista Ambiente & Água*, v. 11, p. 778-787, 2016.
- ASSALIN, M. R.; QUEIROZ, S. C. DO N. DE; FERRACINI, V. L.; OLIVEIRA, T.; VILHENA, E.; MATTOS, M. L. T. A method for determination of imazapic and imazethapyr residues in soil using an ultrasonic assisted extraction and LC-MS/MS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 93, p. 360-364, 2014.
- ASSALIN, M. R.; SANTOS, A. A. M.; QUEIROZ, S. C. do N. de. Optimization and validation of an analytical method for determination of herbicides residues in elephant grass. *Austin Environmental Sciences*, v. 5, n. 2, p. 1049, 2020.



BARBOSA, A. M. C.; SOLANO, M. DE L. M.; UMBUZEIRO, G. DE A. Pesticides in drinking water: the brazilian monitoring program. **Frontiers in Public Health**, v. 3, n. 246, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2015.00246>.

BARIZON, R. R. M.; FIGUEIREDO, R. O.; DUTRA, D. R. C. S.; REGITANO, J. B.; FERRACINI, V. L. Pesticides in the surface waters of the Camanducaia River watershed. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 3, p. 283-292, Nov. 28, 2019.

BARTIKOVA, H.; PODLIPNA, R.; SKALOVA, L. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants. **Chemosphere**, v. 144, p. 2290-2301, 2016.

BATISTA, R. C.; FERNANDES, M. A. M.; GILAVERTTE, S.; QUEIROZ, C. S. do N. de; FERRACINI, VERA L.; REYES, F. G. R. Determination of moxidectin in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application in pharmacokinetic study in lambs. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 250-256, 2017.

BONANSEA, R. I.; MARINO, D. J. G.; BERTRAND, L. D.; WUNDERLIN, A.; AMÉ, M. V. Tissue-specific bioconcentration and biotransformation of *Cypermethrin* and *Chlorpyrifos* in a native fish (*Jenynsia multidentata*) exposed to these insecticides singly and in mixtures, **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 7, p. 1764-1774 jul. 2017.

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro, RJ: GEN LTC, 2015. 288 f.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 18 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, n. 053, seção 1, p. 58, 18 mar. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria GM/MS nº 888**, de 4 de maio de 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acesso em: 11 ago. 2021.

BRASIL. Portaria MS de Consolidação nº 05, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União**, n. 190, seção 1, 3 out. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **AGROFIT- Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário**. Disponível em: [https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 18 abr. 2024.

BUSTILLOS, O. V. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em Tandem HPLC-MS/MS. **Analytica**, edição 106, p. 34-35, 2020. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/analytica-106/>. Acesso em: 10 ago. 2021.

CAMPOS, J. M.; QUEIROZ, S. C. do N. de; ROSTON, D. M. Removal of the endocrine disruptors ethinyl estradiol, bisphenol A, and levonorgestrel by subsurface constructed wetlands. **Science of the Total Environment**, v. 693, n. 133514, p. 133, 2019.

CARNEIRO, F. F.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; FRIEDRICH, K.; BURIGO, A. C. **Dossiê Abrasco: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, Fundação Oswaldo Cruz/Expressão Popular, 2015. 624 p. Disponível em:

[https://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco\\_2015\\_web.pdf](https://www.abrasco.org.br/dossieagrotoxicos/wp-content/uploads/2013/10/DossieAbrasco_2015_web.pdf). Acesso em: 11 ago. 2021.

CARRO, A. M.; FERNÁNDEZ S.; RACAMONDE, I.; GARCÍA-RODRÍGUEZ, D.; GONZÁLEZ, P.; LORENZO, R. A. Dispersive liquid–liquid microextraction coupled with programmed temperature vaporization-large volume injection-gas chromatography–tandem mass spectrometry for multiclass pesticides in water. *Journal of Chromatography A*, v. 1253, p. 134-143, Aug. 2012.

CEMBER, H.; CURTIS, E. H.; GORDON BLAYLOCK, B. Mercury bioconcentration in fish: Temperature and concentration effects. *Environmental Pollution*, v. 17, n. 4, p. 311-319, Dec. 1978.

CERDEIRA, A. L.; PARAÍBA, L. C.; QUEIROZ, S. C. do N. de; MATALLO, M. B.; FRANCO, DANIEL ANDRADE S.; FERRACINI, V. L. Estimation of herbicide bioconcentration in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Ciência Rural*, v. 45, p. 591-597, 2015.

CETESB. **Diagnóstico da contaminação de águas superficiais, subterrâneas e sedimentos por agrotóxicos.** Disponível em: [https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2021/10/Diagnostico-da-Contaminacao-de-Aguas-Superficiais-Subterraneas-e-Sedimentos-por-Agrotoxicos\\_.pdf](https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2021/10/Diagnostico-da-Contaminacao-de-Aguas-Superficiais-Subterraneas-e-Sedimentos-por-Agrotoxicos_.pdf). Acesso em: 11 de ag. 2021.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química Nova*, v. 31, 623- 636, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. **Report of the 37th session of the Codex Committee on Pesticide Residues.** Hague, v. 18, n. 23, 121 p., 2005.

CODEX ALIMENTARIUS INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. **Report of the 45th session of the Codex Committee on Pesticide Residues.** Beijing, v. 6, II, 148 p., 2013.

CONCENÇO, G.; VIVIAN, R.; IKEDA, F. S.; PIZZUTTI, I. R.; VELA, G. M. E.; FERRACINI, V. L.; NORA, L.; CECCON, G.; CONCENÇO, F.I.G.R. Herbicide residues of pre-harvest burndown in cowpea bean (*Vigna unguiculata*) grains. *Experimental Agriculture*, v. 56, p. 1-13, 2020.

CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C. L.; LOPES, N. P. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. *Química Nova*, v. 29, n. 2, abr. 2006.

DACAL, A. A.; BERRIEL, C. R.; DÍAZ, D. R.; SUARÉZ, M. M.; LUZARDO, O. P. Optimization and validation of a QuEChERS-based method for the simultaneous environmental monitoring of 218 pesticide residues in clay loam soil, *Science of the Total Environment*, v. 753, 142015, 2021.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 18, n. 12, p. 1296-1301, 2014.

DUTRA, D. R. C. S.; ASSALIN, M. R.; SANTOS R. S.; DORES, E. F. G. C. Method validation for multiresidue pesticide determination in riverbed sediment using QuEChERS and GC-MS/MS and application in samples from an important watershed in Central Western Brazil, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 100, n. 13, p. 1536-1548, Aug. 28, 2019.

EURACHEM; CITAC. **Quantifying uncertainty in analytical measurement**. 3. ed. 2012. 133 p. (EURACHEM / CITAC Guide CG4S). Disponível em: [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012\\_Pr.pdf](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_Pr.pdf).

EUROPEAN COMMISSION. **Commission Decision (EC) no 657/2002 of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results**. 2002. 29 p. Disponível em: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed928116-a955-4a84-b10a-cf7a82bad858/language-en>. Acesso em: 01 ago. 2021.

EUROPEAN COMMISSION. Safety of the Food Chain Pesticides and biocides SANTE/11813/2017 (21–22 November 2017 rev.0). Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. 2017.

FENNER, K.; CANONICA, S.; WACKETT, L. P.; ELSNER, M. Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. *Science*, v. 341, n. 6147, p. 752–758, 2013.

FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. do N. de; ROSA, M. A.; DORNELLAS, M. M.; QUEIROZ, J. F.; PARAÍBA, L. C. Análise de agrotóxicos organoclorados em camarão e pescado por cromatografia a gás com detector de micro captura de elétrons (GC- ECD). *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 24, p. 13-20, 2014.

FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. do N. de; ROSA, M. A.; LOPES, P. R. C. Determinação de resíduos de paclobutrazol em manga (*Mangifera indica L.*) por cromatografia acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS). *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, v. 58, p. 1-16, 2011.

FERRAZ, D. R.; ANDREOLA, R. Análise de agrotóxicos e parâmetros físico-químicos em águas de irrigação de cultivo orgânico. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA, 11., 29 a 30 out. 2019, Maringá. Disponível em: <https://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/3732/1/Roberto%20Delatorre%20Ferraz.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2021.

FERREIRA, J. A.; FERREIRA, J. M. S.; TALAMINE, V.; FACCO, J. F.; RIZZETTI, T. M.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B.; BOTTOLI, C. B. G. Determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera Linn.*) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS. *Food Chemistry*, v. 213, p. 616–624, Dec. 2016.

FERREIRA, J. A.; QUEIROZ, S. C. do N. de. Multiresidue method for determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera Linn.*) endosperm by using GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS analysis. *Journal Of Food Composition and Analysis*, v. 97, p. 103764, 2021.

FERRER, C.; LOZANO, A.; AGÜERA, A.; GIRÓN, A. J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, n. 42, p. 7634–7639, Jul. 2011.

FIGLIOLA, M.; SANTOS, E. P.; SCHMACHTENBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. *REGET/UFESM: Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 18, n. 1, p. 79-91, abril 2014.

GERÓNIMO, E.; APARICIO, V. C.; BÁRBARO, S.; PORTOCARRERO, R.; JAIME, S.; COSTA, J. L. Presence of pesticides in surface water from four sub-basins in Argentina. *Chemosphere*, v. 107, p. 423–431, 2014.

HASHIMOTO, J. C.; PASCHOAL, J. A. R.; QUEIROZ, S. C. do N. de; FERRACINI, V. L. . A Simple method for the determination of malachite green and leucomalachite green residues in fish by a modified QuEChERS extraction and LC/MS/MS. **Journal of AOAC International**, v. 95, p. 913-922, 2012.

HERMIDA, C.; PELAEZ, V.; SILVA, L. da. Limites de resíduos de agrotóxicos e barreiras técnicas comerciais. **Agroalimentaria**, v. 21, n. 41, p. 151-170, 2015.

HRYNKO, I.; KACZYNSKI, P.; LOZOWICKA, B. A global study of pesticides in bees: QuEChERS as a sample preparation methodology for their analysis – Critical review and perspective, **Science of The Total Environment**, v. 792, 148385, Oct. 2021.

HUNT, L.; BONETTO, C.; RESH, V. H.; FORSIN, D.; FANELLI, S.; MARROCHI, N.; LYDY, M. J. Science of the Total Environment Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. **Science of the Total Environment**, 547, 114–124, 2016.

INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DQO-CGRE-008, 2007.

ITURBURU, F. G., CALDERON, G.; AMÉ, V.; MENONE, M. L. Ecological Risk Assessment (ERA) of pesticides from freshwater ecosystems in the Pampas region of Argentina: legacy and current use chemicals contribution. **Science of the Total Environment**, v. 691, p. 476–482, 2019.

JEANNOT, M., A.; CANTWELL, F. F. Solvent microextraction into a single drop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 13, p. 2236-2240, Jul.1996.

JI, B.; ZHAO, W.; XU, X.; HAN, Y.; JIE, M.; XU, G.; BAI, Y. Development of a modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method based on melamine sponge for multi-residue analysis of veterinary drugs in milks by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, **Journal of Chromatography A**, v. 1651, 462333, Jun. 2021.

JONSSON, C. M. **Estudos de toxicidade e acúmulo de endossulfan nos peixes *Brachydanio rerio* e *Hyphessobrycon bifasciatus***. 1991. 179 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas.

JONSSON, C. M.; MOURA, M. A. M.; FERRACINI, V. L.; PARAÍBA, L. C.; ASSALIN, M. R.; QUEIROZ, S. C. do N. Bioconcentrations of herbicides used in sugarcane crops in tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the risk for human consumption. **Heliyon**, v. 5, p. e02237, 2019.

LAABS, V.; WEHRHAN, A.; PINTO, A.; DORES, E.; AMELUNG, W. Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: an aquatic microcosm study under semi-field conditions. **Chemosphere**, v. 67, n. 5, p. 975–989, 2007.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RiMa; 2004. 93 p. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-443289>. Acesso em: 20 jul. 2021.

LEHOTAY, S. J.; SON, K. A.; KWONB, H.; KOESUKWIWATA, U.; FU, W.; MASTOVSKA K.; HOHA, E.; LEEPIPATPIBOON, N. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2548-2560, 2010.

- LEWIS, S. E.; SILBURN D. M.; KOOKANA, R. S.; MELANIE SHAW. Pesticide behavior, fate, and effects in the tropics: an overview of the current state of knowledge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 64, n. 20, p. 3917-3924, 2016.
- LI, J.; ZHANG, Z.; ZHANG, B.; FAN, C. Use of a headspace solid phase microextraction - based methodology followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry for pesticide multiresidue determination in teas. *Chromatographia*, v. 81, p. 809-821, 2018.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Desafios y avances en el control de residuos de pesticidas en Brasil: 15 años del Programa de Análisis de Residuos de Pesticidas en Alimentos. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 37, n. 2, 2021.
- MACHADO, K. C.; GRASSI, M. T.; VIDAL, C.; PESCARA, I. C.; JARDIM, W. F.; FERNANDES, A. N.; SODRÉ, F. F.; ALMEIDA, F. V.; SANTANA, J. S.; CANELA, M. C.; NUNES, C. R. O.; BICHINHO, K. M.; SEVERO, F. J. R. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 572, p. 138-146, 2016.
- MAGALHÃES, I.R.S.; OLIVEIRA, A.R.M.; BONATO, P.S. Fundamentos e avanços recentes da microextração em fase líquida empregando membranas cilíndricas ocas (LPME). *Scientia Chromatographica*, v. 1, n. 4, p. 11-17, 2009.
- MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B. E ZANELLA, R. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica*, v. 4, n. 1, p. 35-51, 2012.
- MARTINEZ, M. S.; NASCIMENTO, Q. S. C.; PIRES, J. Degradação fotooxidativa de 17-β-estradiol presente em efluente sintético de indústria de medicamentos hormonais veterinários por processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV. REEC. *Revista Eletrônica de Engenharia Civil*, v. 10, p. 1-10, 2015.
- MELO, I. S. Agência Embrapa de Informação Tecnológica: Biodegradação. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arvore>. Acesso em: 17 ago. 2021.
- MIELE, A.; RIZZON, L. A.; QUEIROZ, S. C. do N. de. A survey on the composition of wines made with grapes produced by an organic system. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 19, p. E2015031, 2016.
- MIELE, A.; RIZZON, L. A.; QUEIROZ, S. C. do N. de; GIANELLO, C. Physicochemical composition, minerals, and pesticide residues in organic grape juices. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 35, p. 120-126, 2015.
- MICHLIG, N.; LEHOTAY, S. J.; LIGHTFIELD, A. R.; BELDOMÊNICO, H.; REPETTI, M. R. Validation of a high-throughput method for analysis of pesticide residues in hemp and hemp products, *Journal of Chromatography A*, v. 1645, 462097, 2021.
- MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABAB, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos. *Química Nova*, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.
- MONTEIRO, R. T. R.; SILVA, G. H.; MESSIAS, T. G.; QUEIROZ, S. C. do N. de; ASSALIN, M. R.; SOUZA, D. R. C.; ALVES, C. H. R.; FERREIRA, A. C.; BLAISE, C. Chemical and ecotoxicological assessments of water samples before and after being processed by water treatment plant. *Revista Ambiente & Água*, v. 9, p. 6-18, 2014.

MONTEIRO, S. H.; LEHOTAY, S. J.; SAPOZHNIKOVA, Y.; NINGA, E.; LIGHTFIELD, A. R. High-throughput mega-method for the analysis of pesticides, veterinary drugs, and environmental contaminants by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and robotic mini-solid-phase extraction cleanup + low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry, part 1: beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 4, p. 1159-1168, Feb 3, 2021.

MORAES, M. C. B.; LAGO, C. L. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Química Nova**, v.26 (4), 2003.

MORAIS, J. L.; ZAMORA, P. P. Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates. **Journal of Hazardous Materials**, v. 123, n. 1- 3, p. 181-186, Aug. 3, 2005.

NALLANI, G. C.; PAULOS, P. M.; CONSTANTINE, L. A.; VENABLES, B. J.; HUGGETT, D. B. Bioconcentration of ibuprofen in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*), **Chemosphere**, v. 84, n. 10, p. 1371-1377, Sep. 2011.

NINGA, E.; SAPOZHNIKOVA, Y.; LEHOTAY, S. J.; LIGHTFIELD, A. R.; MONTEIRO, S. H. High-throughput mega-method for the analysis of pesticides, veterinary drugs, and environmental contaminants by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and robotic mini-solid-phase extraction cleanup + low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry, part 2: catfish. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 4, p. 1169-1174, 2021.

NOGUEIRA, J. M. F. Extração dortiva em barra de sgitação (SBSE): uma metodologia inovadora para microextração estática. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 259-269, 2012.

NUNES, K. S. D.; VALLIM, J. H.; ASSALIN, M. R.; QUEIROZ, S. C. do N. de; PARAÍBA, L. C.; JONSSON, C. M.; REYES, F. G. R. Depletion study, withdrawal period calculation and bioaccumulation of sulfamethazine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) treated with medicated feed. **Chemosphere**, v. 197, p. 89-95, 2018.

OGBEIDE, O.; TONGO, I.; EZEMONYE, L. Risk assessment of agricultural pesticides in water, sediment, and fish from Owan River, Edo State, Nigeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 10, p. 654, 2015.

OLIVEIRA, A. R. M.; MAGALHÃES, R. J.; SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637-644, 2008.

OLIVEIRA, R. C.; QUEIROZ, S. C. do N.; LUZ, C. F. P. da; PORTO, R. S.; RATH, S. Bee pollen as a bioindicator of environmental pesticide contamination. **Chemosphere**, v. 163, p. 525-534, 2016.

OMC. **Technical barriers to trade**: technical Information on technical barriers to trade. 2012. Disponível em: [http://www.wto.org/english/tratop\\_e/tbt\\_e/tbt\\_info\\_e.htm](http://www.wto.org/english/tratop_e/tbt_e/tbt_info_e.htm). Acesso em: 28 jul. 2021.

PAPADAKIS, E.; TSABOULA, A.; KOTOPOULOU, A.; KINTZIKOGLU, K.; VRYZAS, Z.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Science of the total environment pesticides in the surface waters of Lake Vistonis Basin, Greece : occurrence and environmental risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 1, n. 536, p. 793-802, Dec. 2015.

PARAÍBA, L. C.; QUEIROZ, S. C. do N. de; MAIA, A. H. N.; FERRACINI, V. L. Bioconcentration factor estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. *Science of the Total Environment*, v. 408, p. 3270-3276, 2010.

PARAÍBA, L. C.; QUEIROZ, S. C. do N. de; SOUZA, D. R. C.; SAITO, M. L. Risk simulation of soil contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons from sewage sludge used as fertilizers. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, p. 1156-1163, 2011.

PAYÁ, P.; ANASTASSIADES, M.; MACK, D.; SIGALOVA, I.; TASDELEN, B.; OLIVA, J.; BARBA, A. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 389, p. 1697-1714, 2007.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Bioanalysis of drugs by liquid-phase microextraction coupled to separation techniques. *Journal of Chromatography B*, v. 817, n. 1, p. 3-12, 2005.

PETRARCA, M. H.; ROSA, M. A.; QUEIROZ, S. C. do N. de; GODOY, H. T. Simultaneous determination of acrylamide and 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 H)-furanone in baby food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1522, p. 62-69, 2017.

PICO, Y.; ALFARHAN, A. H.; BARCELO, D. How recent innovations in gas chromatography-mass spectrometry have improved pesticide residue determination: An alternative technique to be in your radar. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, v. 122, 115720, 2020.

PINTO, M. A. L. Extração em ponteiras descartáveis: fundamentos teóricos e aplicações. *Scientia Chromatographica*, v. 7, n. 2, p. 101-108, 2015.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduos de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. *Química nova*, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

QUEIROZ, M. E. C. Microextração em sorvente empacotado (MEPS) para a determinação de fármacos em fluidos biológicos. *Scientia Chromatographica*, v. 3, n. 3, p. 223-229, 2011.

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

QUEIROZ, S. C. do N. de; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS E UPLC-MS/MS. *Química Nova*, v. 35, p. 185-192, 2012.

QUEIROZ, S. C. do N. de; SOUZA, D. R. C. de; CERDEIRA, A. L.; PARAÍBA, L. C. Validação de um método para determinação de resíduos de fungicidas em grãos de soja. *Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente*, 2017. 19 p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 73).

REZAAE, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M. R. M.; AGHAEI, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 1116, n. 1-2, 1-9, 2006.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICE, P. J.; RICE, P. J.; ARTHUR, E. L.; BAREFOOT, A. C. Advances in pesticide environmental fate and exposure assessments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 14, p. 5367-5376, 2007.

SAITO-SHIDAA, S.; NAGATAB M.; NEMOTOA S.; AKIYAMAA H. Quantitative analysis of pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *Journal of Chromatography B*, v. 1143, 122057, 2020.

SANTOS, D. M.; BURUAEM, L.; GONÇALVES, R. M.; WILLIAMS, M.; ABESSA, D. M. S.; KOOKANA, R.; De MARCHI, M. R. R. Multiresidue determination and predicted risk assessment of contaminants of emerging concern in marine sediments from the vicinities of submarine sewage outfalls. *Marine Pollution Bulletin*, v.129, p. 299-307, 2018.

SHIROMA, L. S.; QUEIROZ, S. C. do N. de; JONSSON, C. M.; BOTTOLI, C. B. G. Extraction strategies for simultaneous determination of florfenicol and florfenicol amine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle: quantification by LC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, v. 1, p. 1-12, 2019.

SILVA, P. T. S.; SOUZA, D. R. C.; FERRACINI, V. L. Análises de multirresíduos de pesticidas em cebola empregando cromatografias líquida e gasosa acopladas à espectrometria de massas. *Boletim de Pesquisa*, v. 132, p. 1-21, 2017.

SOUSA, S. A.; ALVES, S. F.; PAULA, J. A. M.; FIUZA, T. S.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. Quantificação de taninos em extrato de guaraná (*Paullinia cupana*) realizado através de planejamento experimental. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, p. 3-14, 2010.

TANG, X.; ZHU, B.; KATOU, H. A review of rapid transport of pesticides from sloping farmland to surface waters: Processes and mitigation strategies. *Journal of Environmental Sciences*, v. 24, n. 3, p. 351-361, 2012.

TANKIEWICZ, M. Determination of Selected Priority Pesticides in High Water Fruits and Vegetables by Modified QuEChERS and GC-ECD with GC-MS/MS Confirmation. *Molecules*, v. 24, n. 3, p. 1-16, Jan. 2019.

TROVATO, V. W.; PORTILHO, I. I. R.; BARIZON, R. R. M.; SCORZA JÚNIOR, R. P. Herbicide runoff from a soil with different levels of sugarcane straw coverage in Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, v. 15, n. 1, p. 25-35, 2020.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. *Química Nova*, v. 23, n. 4, p. 523-530, 2000.

VAZ, R. L.; BARIZON, R. R. M.; SOUZA, A., J. de; REGITANO, J. B. Runoff of hexazinone and diuron in green cane systems. *Water, Air & Soil Pollution*, v. 232, n. 8, p. 116, 2021.

VOOGT, P.; MUIR, D. C. G.; WEBSTER, G. R. B. GOVERS, H. Quantitative structure-activity relationships for the bioconcentration in fish of seven polychlorinated dibenzodioxins, *Chemosphere*, v. 21, n. 12, p. 1385-1396, 1990.

WAUCHOPE, R. D.; YEH, S.; LINDERS, J. B. H. J.; KLOSKOWSKI, R.; TANAKA, K.; RUBIN, B.; KATAYAMA, A.; KÖRDEL, W.; GERSTL, Z.; LANE, M.; UNSWORTH, J. B. Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*, v. 58, n. 5, p. 419-445, 2002.



WEBER, J.B. Properties and Behavior of Pesticides in Soil. In: HONEYCUTT, R.C.; SCHABACKER, D.J. **Mechanisms of pesticide movement into ground water**. Boca Raton: CRC Press, 2018. p. 15-42.

YANG, X.; VANDER ZEE, S. E. A. T. M.; GAI, L.; WESSELING, J. G.; RITSEMA, C. J.; GEISSEN, V. Integration of transport concepts for risk assessment of pesticide erosion. **Science of the Total Environment**, v. 551–552, p. 563–570, May 2016.

ZAO, W.; JIANG, R.; GUO, W.; GUO, C.; LI, S.; WANG, J.; WANG, S.; LI, Y. Screening and analysis of multiclass veterinary drug residues in animal source foods using UPLC-Q-exactive orbitrap/MS. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 107, p. 228-238, 2021.

ZHANG, R.; PEI, J.; ZHANG, R.; WANG, S.; ZENG, W.; HUANG, D.; WANG, Y.; ZHANG, Y.; YU, K. Occurrence and distribution of antibiotics in mariculture farms, estuaries and the coast of the Beibu Gulf, China: Bioconcentration and diet safety of seafood, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, 27-35, 2018.

ZHOU, Y.; WU, J.; WANG, B.; DUAN, L.; ZHANG, Y.; ZHAO, W.; WANG, F.; SUI, Q.; CHEN, Z.; XU, D.; LI, Q.; YU, G. Occurrence, source and ecotoxicological risk assessment of pesticides in surface water of Wujin District (northwest of Taihu Lake), China. **Environmental Pollution, Part A**, v. 265, 114953, 2020.