



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ROSEANE DOS SANTOS NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DE BIOCARVÕES NA MINIATURIZAÇÃO DA MSPD
PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM
ALIMENTOS PARA BEBÊS**

***EVALUATION OF BIOCHARS IN THE MINIATURIZATION OF
MSPD FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN
BABY FOOD***





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ROSEANE DOS SANTOS NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DE BIOCARVÕES NA MINIATURIZAÇÃO DA MSPD
PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM
ALIMENTOS PARA BEBÊS**

Exame de Defesa de
Doutorado apresentada
ao Programa de Pós-
Graduação em Química,
da Universidade Federal
de Sergipe, para
obtenção do título de
Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Navickiene

Coorientador: Prof. Dr. Luis Fabrício Santana Santos

***EVALUATION OF BIOCHARS IN THE MINIATURIZATION OF
MSPD FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN
BABY FOOD***

Doctoral thesis Defense
examination presented to the
PostGraduate Program in
Chemistry of the Federal
University of Sergipe to obtain
Dr. in Chemistry.



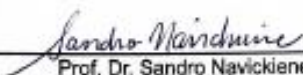


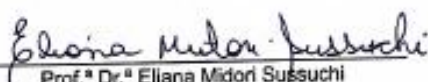
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ

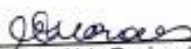


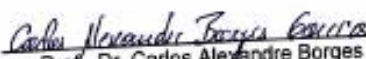
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de
Roseane dos Santos Nascimento apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe
em 30/07/2026


Prof. Dr. Sandro Navickiene
Departamento de Química - UFS


Prof.ª Dr.ª Eliana Midori Sussuchi
Departamento de Química - UFS


Prof.ª Dr.ª Valéria Regina de Souza Moraes
Departamento de Química - UFS


Prof. Dr. Carlos Alexandre Borges Garcia
Departamento de Química - UFS


Prof. Dr. Rafael Donizete Dutra Sandes
Núcleo de Biotecnologia - UFS

RESUMO

Alimentos a base de frutas, vegetais, carnes e cereais disponíveis comercialmente são oferecidos aos bebês a partir dos seis meses de vida e produtos químicos como os pesticidas são utilizados nas culturas de alimentos para aumentar a produção, de forma a suprir as demandas no mercado e controlar pragas que interferem no crescimento das plantas e frutos. Os resíduos desses compostos podem permanecer no produto final, podendo interferir na saúde do bebê e, por isso, métodos analíticos são desenvolvidos para determinar contaminantes em diversas amostras. O emprego de métodos miniaturizados surgiu como forma de reduzir volumes de solventes, quantidade de adsorventes, além de eliminar etapas em relação ao método convencional. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver um método miniaturizado da MSPD utilizando de ponteiras de pipeta para extração dos pesticidas abamectina, acefato, acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, clotianidina, difenoconazol, dimetoato, epoxiconazol, flutriafol, imidacloprido, lufenurom, malationa, metomil, permetrina, piraclostrobina, teflubenzurom, tiacloprido, tiametoxam e tiofanato – metílico em alimentos pastosos para bebês, juntamente com a cromatografia líquida e detector UV-Vis/DAD. Foram testados os adsorventes comerciais C18, sílica gel, PSA, florisil, alumina neutra e o adsorvente sintético TEOS. Além dos solventes metanol, acetonitrila e misturas com o diclorometano e acetato de etila, nos quais foram avaliados em diferentes volumes e proporções. As melhores condições de extração foram ao utilizar 40 mg de amostra com nível de fortificação de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, 60 mg de sílica gel e 1000 μL de MeOH:EtOAc (50:50 v,v), obtendo recuperações entre 70 – 108 %. Em seguida, foram otimizados os parâmetros do método de preparo de amostra utilizando o biocarvão do sabugo de milho como material adsorvente que foi mais eficiente na extração dos analitos, nas mesmas condições apresentadas anteriormente para a sílica, mas ao utilizar o MeOH para eluição dos analitos e os percentuais de recuperação variaram entre 62 – 112%. Por fim, os dois métodos desenvolvidos neste trabalho foram validados, avaliando os parâmetros de linearidade, sensibilidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão e, posteriormente, os métodos foram aplicados em amostras de diferentes marcas e composições que são comercializadas em Sergipe, mas não foram encontrados os pesticidas em estudo.

Palavras-chave: Alimentos para bebês. μ -MSPD. Pesticidas. Adsorventes comerciais. Adsorventes alternativos. Materiais carbonáceos.

ABSTRACT

Commercially available foods based on fruits, vegetables, meat and cereals are offered to babies from the age of six months chemical such as pesticides are used in crop cultivation to boost production meeting market demand and controlling pests that hinder plant and fruit growth. Residues of these compounds can remain in the final product and potentially affect a baby's health; consequently, analytical methods are developed to detect contaminants in various samples. The use of miniaturized methods emerged as a way to reduce solvent volume and the amounts of adsorbents, as well as to eliminate steps compared to conventional method. Thus, this study aimed to develop a miniaturized MSPD method using pipette tips to extract the pesticides abamectin, acephate, acetamiprid, azoxystrobin, bifenthrin, clothianidin, difenoconazole, dimethoate, epoxiconazole, flutriafol, imidacloprid, lufenuron, malathion, methomyl, permethrin, pyraclostrobin, teflubenzuron, thiacloprid, thiamethoxam and thiophanate – methyl from pasty baby foods, in conjunction with liquid chromatography and DAD/UV-Vis detection. Commercial adsorbents C18, sílica gel, PSA, florisil, neutral alumina and the synthetic adsorbent TEOS were tested, as were solvents including methanol, acetonitrile, and mixtures with dichloromethane and ethyl acetate, evaluated at various volumes and ratios. The optimal extraction conditions involved using 40 mg of sample (fortified at $1 \mu\text{g mL}^{-1}$), 60 mg of sílica gel and 1000 μL of MeOH:ethyl acetate (50:50 v,v), yielding recoveries between 70 – 108 %. Subsequently, the parameters of the sample preparation method using corn cob biochar the adsorbent material that proved most efficient for analyte extraction under the same conditions previously established for sílica, but employing MeOH for analyte elution recovery rates ranged from 62 % to 112 %. Finally, the two methods developed in this study were validated by evaluating the parameters of linearity, sensitivity, selectivity, limit of detection, limit of quantification, accuracy, and precision. Subsequently, the methods were applied to samples of different brands and compositions marketed in Sergipe, but the pesticides under study were not found.

Keywords: Foods for babies. μ -MSPD. Commercial adsorbents. Alternative adsorbents. Carbonaceous materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema do processo de extração por MSPD convencional.....	16
Figura 2.	Esquematisação da μ -MSPD desenvolvida nesse trabalho.....	30
Figura 3.	Estruturas moleculares, nomes comerciais e científicos dos pesticidas em estudo.....	43
Figura 4.	Cromatogramas obtidos ao utilizar a coluna cromatográfica Shim-pack UC-X RP fenil (250 mm x 4,6mm, 3 μ m).....	48
Figura 5.	Cromatogramas obtidos ao utilizar a coluna cromatográfica Shim-Pack UC-X RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m).....	49
Figura 6.	Cromatogramas obtidos no HPLC UV-Vis/DAD e espectros de absorção máxima para cada analito.....	54
Figura 7.	Cromatogramas apresentando o perfil de separação dos analitos na análise exploratória (5a, 5b) e após otimização das condições instrumentais (5c, 5d).....	69
Figura 8.	Esquema ilustrativo do suporte para μ -MSPD.....	63
Figura 9.	Percentuais de recuperação dos adsorventes ao utilizar MeOH (A), ACN (B) e MeOH:DCM (50:50 v,v) como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	64
Figura 10.	Percentuais de recuperação ao utilizar diferentes quantidades de sílica. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	70
Figura 11.	Cromatogramas dos extratos branco para as condições de 1000, 1500 e 2000 μ L de acetonitrila como solvente de	74

	eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	
Figura 12.	Percentuais de recuperação para as condições de 40 mg de amostra, 40 mg de sílica com nível de fortificação de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e eluição com 1000 μL para cada mistura de solventes. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	76
Figura 13.	Comparação da μ -MSPD com a MSPD convencional. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	80
Figura 14.	Fluxograma com a condição mais adequada para o procedimento de extração dos analitos.....	82
Figura 15.	Cromatogramas dos brancos para os diferentes biocarvões. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	84
Figura 16.	Score da PCA com o agrupamento dos analitos.....	86
Figura 17.	Dendograma da análise por agrupamento hierárquico.....	87
Figura 18. (a, b, c)	Percentuais de recuperação ao utilizar acetonitrila como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	91
Figura 19.	Materiais carbonáceos que apresentaram pigmentações intensas.....	94
Figura 20. (a, b, c)	Avaliação da mistura do biocarvão do sabugo de milho e esterco bovino (A), biocarvão do sabugo de milho (B) e biocarvão de esterco bovino com diferentes solventes de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	95

Figura 21.	Fluxograma com a condição mais adequada para o procedimento de extração dos analitos por μ -MSPD utilizando o biocarvão do sabugo de milho. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	98
Figura 22.	Curva Analítica dos pesticidas em estudo para validação da sílica. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	101
Figura 23.	Curva analítica dos analitos em estudo para validação com o biocarvão do sabugo de milho. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	105
Figura 24.	Cromatogramas com o perfil de separação dos analitos. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Informação nutricional dos alimentos para bebês.....	12
Tabela 2.	Trabalhos reportando a utilização de diferentes técnicas de extração e instrumentais para análise de pesticidas em alimentos para bebês.....	25
Tabela 3.	Condições Instrumentais de Análise.....	31
Tabela 4.	Informações gerais relacionadas aos pesticidas em estudo.....	34
Tabela 5.	Propriedades físico-químicas dos pesticidas em estudo.....	38
Tabela 6.	Tempo de retenção e comprimentos de onda de absorção máxima dos padrões de pesticidas avaliados.....	52
Tabela 7.	Gradientes avaliados no HPLC UV-Vis/DAD.....	61
Tabela 8.	Percentuais de recuperação para cada analito nas condições avaliada (%).....	67
Tabela 9.	Avaliação dos diferentes volumes de acetonitrila como eluente para recuperação dos analitos.....	73
Tabela 10.	Força eluotrópica da mistura dos solventes em diferentes proporções.....	76
Tabela 11.	Comparativo das propriedades físicas dos biocarvões avaliados.....	83
Tabela 12.	Percentuais de recuperação para os diferentes materiais carbonáceos.....	89
Tabela 13.	Percentuais de recuperação dos analitos ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho e diferentes solventes orgânicos.....	96

Tabela 14.	Equação da reta, coeficiente de determinação (r^2) e intervalo de concentração dos pesticidas ao utilizar a sílica como material adsorvente da μ -MSPD.....	100
Tabela 15.	Analitos, intervalo de concentrações, equação da reta para o extrato da matriz e solvente, coeficientes de determinação e razões entre coeficientes angulares para os pesticidas com a sílica.....	109
Tabela 16.	Analitos, intervalo de concentrações, equação da reta para o extrato da matriz e solvente, coeficientes de determinação e razões entre coeficientes angulares para os pesticidas com o biocarvão.....	111
Tabela 17.	Valores de Recuperação média (%) e desvio padrão relativo (DPR%) avaliados em diferentes níveis de concentração para os ensaios de exatidão e precisão ao utilizar a sílica e o biocarvão do sabugo de milho.....	114
Tabela 18.	Percentuais de Recuperação média (%) e Desvio Padrão Relativo (DPR %) avaliados para a precisão intermediária e repetibilidade (intradia).....	117
Tabela 19.	Limite de detecção e quantificação obtidos pelo método da curva de calibração com concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$	120
Tabela 20.	Comparação do método desenvolvido nesse trabalho com demais métodos analíticos para análise de pesticidas em alimentos infantis.....	122
Tabela 21.	Aplicação do método em amostras reais.....	125

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN –	Acetonitrila (<i>Acetonitrile</i>)
ANVISA –	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C18 –	Octadecilsilano (<i>Octadecylsilane</i>)
CV –	Coeficiente de Variação (<i>Coefficient of Variation</i>)
DCM –	Diclorometano (<i>Dichloromethane</i>)
DLLME –	Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (<i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i>)
EMBRAPA –	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (<i>Brazilian Agricultural Research Company</i>)
GC –	Cromatografia Gasosa (<i>Gas Chromatography</i>)
GC-MS –	Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas (<i>Gas Chromatography/Mass spectrometry</i>)
HPLC –	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (<i>National Institute of Metrology, Quality and Technology</i>)
IUPAC –	União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
LC –	Cromatografia Líquida (<i>Liquid Chromatography</i>)
LC-MS –	Cromatografia Líquida/Espectrometria de Massas (<i>Liquid Chromatography/Mass spectrometry</i>)
LLE –	Extração Líquido- Líquido (<i>Liquid Liquid Extraction</i>)
LMR –	Limite Máximo de Resíduos (<i>Maximum Waste Limit</i>)
LOD –	Limite de Detecção (<i>Limit of Detection</i>)
Log Kow -	Coeficiente de distribuição octanol/água (<i>Octanol/Water distribution coefficient</i>)
LOQ –	Limite de Quantificação (<i>Limit of Quantification</i>)
MeOH –	Metanol (<i>Methanol</i>)
MSPD –	Dispersão da Matriz em Fase Sólida (<i>Matrix Solid Phase Dispersion</i>)
pKa –	Constante de dissociação ácida (<i>Acid dissociation constant</i>)
PPDB –	Base de Dados de Propriedades dos Pesticidas (<i>Pesticides Properties Data Base</i>)
PSA –	Amina primária e secundária (<i>Primary and secondary amine</i>)
RSD –	Desvio Padrão Relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>)
SPE –	Extração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Extraction</i>)
SPME –	Microextração em Fase Sólida (<i>Solid Phase Microextraction</i>)
t _R –	Tempo de Retenção (<i>Retention Time</i>)

FTIR– Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)
BC - Biocarvão (*Biochar*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1. Alimentos para bebês	11
2.2. Pesticidas.....	12
2.3. Método de extração dos analitos	14
2.3.1. Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD).....	15
2.3.1.1. Adsorventes comerciais utilizados na MSPD	18
2.3.1.2. Biocarvão como material adsorvente para extração dos analitos	20
2.4. Técnicas miniaturizadas com ponteira de micropipeta	21
2.5. Revisão da Literatura	22
3. OBJETIVO	27
3.1. Objetivo Geral	27
3.2. Objetivos específicos.....	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1. Materiais.....	28
4.2. Reagentes	28
4.3. Padrões analíticos dos pesticidas	28
4.4. Equipamentos.....	29
4.5. Preparo de soluções padrão dos pesticidas	29
4.6. Obtenção das amostras.....	29
4.7. Preparo das amostras.....	29
4.8. Fortificação da amostra	29
4.9. Procedimento de extração da μ-MSPD	30
4.10. Condições instrumentais de análise	30
4.11. Limpeza da vidraria.....	32

4.12. Descarte de Resíduos	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1. Seleção de pesticidas dentre os autorizados pela ANVISA	32
5.2. Otimização das condições instrumentais de análise.....	47
5.3. Desenvolvimento do método por μ-MSPD	61
5.3.1. Seleção do adsorvente	63
5.3.2. Seleção da quantidade de sílica para material adsorvente	70
5.3.3. Avaliação do volume do solvente de eluição.....	72
5.3.4. Avaliação de diferentes solventes de eluição.....	76
5.4. Comparação da μ-MSPD com o método convencional.....	81
5.5. Avaliação da caracterização do biocarvão de diferentes biomassas. 83	
5.6. Análise exploratória de dados	86
5.7. Percentuais de recuperação do analitos em presença de diferentes materiais carbonáceos	89
5.8. Avaliação do solvente de eluição	91
5.9. Validação do Método Analítico	99
5.10. Linearidade e sensibilidade.....	100
5.11. Seletividade (Efeito Matriz)	109
5.12. Exatidão e Precisão	113
5.13. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	119
5.14. Aplicação em Amostras Reais	125
6. CONCLUSÃO	128
7. PERSPECTIVAS DO TRABALHO	130
8. REFERÊNCIAS.....	130

AGRADECIMENTOS

Chegamos ao final de mais um ciclo e agradeço à Deus por estar ao meu lado dando forças para seguir lutando e nunca desistir de alcançar meus objetivos. Sou grata aos meus pais Josefa Santana e José Fontes e ao meu irmão Rogério por todo apoio e por sempre acreditarem no meu potencial.

Agradeço infinitamente ao professor Dr. Sandro Navickiene por estar presente desde o mestrado com toda paciência, compreensão, ensinamentos e orientação durante todo este período. Ser sua orientanda contribuiu bastante para meu crescimento acadêmico e profissional.

Sou grata ao prof. Dr. Luis Fabrício por toda parceria, co-orientação, questionamentos, paciência e por todos os ensinamentos, os quais também foram um alicerce para meu crescimento durante esta jornada.

Agradeço a Larissa que fez parte do LCP como aluna de iniciação científica e não media esforços para ajudar nos experimentos nas horas em que mais precisava. Agradeço a Rosália que chegou no laboratório quase no final do ciclo, mas que sempre esteve presente para troca de experiências.

Sou extramente grata aos amigos que estão comigo desde a graduação e que compartilharam de vários momentos na pós-graduação, em especial Lucas Lima, Érica Porto, Wandson Almeida, Gustavo, Felipe Gabriel, Luís Felipe, Cassia, Harlley e Raphael Amâncio, posso afirmar que também tem um pouquinho de vocês nessa trajetória. Espero que nossa amizade permaneça além da Universidade.

Agradeço a química do CLQM Candice Nóbrega por todas as conversas, conselhos, momentos de descontração e por sempre acreditar que conseguiria. Agradeço a Roberta que mesmo distante esteve sempre presente para vibrar e apoiar nas conquistas.

Também agradeço a minha amiga de infância Bianca e aos meus amigos Jean, Gabi e Mariana por sempre torcerem e vibrarem comigo. Vocês não sabem o quanto são importantes na minha vida.

Agradeço aos meus colegas do HUL Vânia Alves, Misael Matos e Luan Silveira por sempre torcerem e acreditarem no meu potencial.

Gratidão aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química por compartilharem seus conhecimentos.

À Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Química e Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes por proporcionar o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM) da Universidade Federal de Sergipe por disponibilizar a infraestrutura analítica.

Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece que é essencial o aleitamento materno ou fórmula infantil nos primeiros meses de vida com uma alimentação complementar à amamentação a partir dos seis meses para garantir um crescimento e desenvolvimento saudável do bebê [1]. Ainda de acordo com a OMS os bebês são os mais vulneráveis da população mundial, pois apresentam maior expectativa de vida e acabam tendo mais tempo para desenvolver doenças com longo período de latência [2].

A faixa etária até 3 anos é mais sensível a produtos químicos devido a elevada relação entre ingestão alimentar e peso corporal, além do déficit relacionado ao sistema de defesa corporal [3]. Dessa forma, os alimentos consumidos por esse grupo devem ser avaliados quanto a presença de contaminantes, de forma a reduzir os riscos à saúde [4].

Dentre os alimentos prontos e disponíveis comercialmente para os bebês, têm-se os alimentos à base de carne, cereais, frutas e vegetais que são inseridos de forma complementar a partir dos seis meses de vida para garantir os nutrientes necessários ao desenvolvimento saudável. Alguns possíveis contaminantes como os pesticidas podem estar presentes nesses alimentos, pois são produtos químicos aplicados nas culturas agrícolas para o controle de pragas e para obter um maior rendimento da produção, sendo utilizados tanto na etapa da produção quanto no pós-colheita. A presença de resíduos desses compostos pode contaminar os alimentos e, assim, prejudicar a saúde dos consumidores [5,6].

Uma forma de monitorar a presença de pesticidas nos alimentos é por meio de métodos que são desenvolvidos e otimizados com o propósito de determinar a presença desses contaminantes. Para tanto, pesquisas são realizadas para obtenção de métodos com poucas etapas no procedimento de extração dos analitos e com reduzido tempo, garantindo rapidez e eficiência na finalidade que almeja [7,8]. Dentre os métodos de extração disponíveis na literatura, o QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*, que significa rápido, fácil, barato, eficaz e seguro) e

a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) são as técnicas utilizadas para extração de pesticidas em amostras sólidas, mas esses métodos utilizam elevada quantidade de reagentes e várias etapas de extração. A proposta de miniaturização dos métodos convencionais é uma alternativa com reduzidas quantidades de materiais, etapas e, consequentemente, menor tempo para o processo de extração dos analitos [9-10].

A dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) é utilizada no preparo de amostra por permitir a avaliação de diferentes materiais adsorventes. A escolha do material é uma etapa importante no desenvolvimento de método analítico por permitir diferentes interações do analito com a fase sólida, favorecendo a etapa de extração [11,12].

Materiais adsorventes como o C18, carbono grafitizado, materiais constituídos com nanopartículas, amina primária e secundária (PSA), sílica, alumina neutra e dentre outros são utilizados na MSPD [13 -15]. Propostas de miniaturização da técnica com redução dos reagentes vem sendo adotada de modo a diminuir o tempo de extração sem comprometer a eficiência na obtenção dos resultados [16 -18].

Estudos buscam diferentes maneiras para miniaturizar os métodos de preparo de amostra e uma maneira de miniaturizar a MSPD consiste em reduzir a quantidade de reagentes e utilizar materiais alternativos que sejam capazes de garantir eficiência na extração dos analitos. Materiais carbonáceos oriundos de diferentes biomassas apresentam uma capacidade promissora de material adsorvente por ser rico em carbono, apresentar diferentes grupos funcionais, elevada porosidade e capacidade de extração para variadas classes de contaminantes [19].

O biocarvão é um material carbonáceo oriundo da pirólise de diferentes matérias-primas em condições limitadas de oxigênio. Apresenta diversas características físicas e químicas, grupos funcionais como a carboxila (-COOH), hidroxila (-OH), fenólico (-C₆H₅OH), entre outros que contribuem com a capacidade de adsorção e diferentes interações químicas, além de uma elevada área superficial, devido ao número de poros, a qual contribui para maior capacidade de adsorção [20 - 23].

O desenvolvimento de método analítico resulta em um conjunto de dados que precisam de uma organização para facilitar a interpretação dos resultados obtidos por meio de tratamento estatístico. Além disso, o método desenvolvido precisa ser validado de acordo com parâmetros estabelecidos de agências reguladoras, a fim de torná-lo fidedigno, seguro e confiável.

Assim, este trabalho visou validar dois métodos analíticos por meio da miniaturização da MSPD tanto com o uso da sílica como adsorvente comercial, quanto com o biocarvão como material adsorvente alternativo para avaliação de resíduos dos pesticidas abamectina, acefato, acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, clotianidina, difenoconazol, dimetoato, epoxiconazol, flutriafol, imidacloprido, lufenurom, malationa, metomil, permetrina, piraclostrobina, teflubenzurom, tiacloprido, tiametoxam e tiofanato-metílico em alimentos para bebês, juntamente com HPLC DAD/UV-Vis.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Alimentos para bebês

O leite materno é um alimento essencial e nutritivo nos primeiros meses de vida do bebê. Mas a partir dos seis meses de idade esse alimento passa a ser insuficiente para suprir os nutrientes necessários, surgindo a necessidade do 'desmame' e acréscimo de suplementos na dieta alimentar com outras fontes de energia para proporcionar um crescimento e desenvolvimento saudável. A OMS afirma que os alimentos ideais para os bebês devem ser nutritivos, de fácil digestão, consistência adequada e acessível no mercado. Dentre os alimentos para bebês, têm-se os alimentos pastosos e prontos destinados à faixa de 6 meses a 2 anos de idade com composição variada a depender do tipo e necessidade [1, 24-27].

Os alimentos infantis prontos contendo frutas, vegetais, carnes e cereais constituem uma alternativa rápida, além de atender as necessidades nutricionais, pois são fontes de energia com proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais, macro e micronutrientes. Existem uma variedade de tipos de comidas para bebês que são comercialmente distintas em termos de alimentos infantis não gordurosos constituídas por frutas como banana, maçã, manga e vegetais, além de batata, cenoura, abóbora, gordurosos baseados em queijo, ovos e carne na sua composição, além daqueles que são constituídos por cereais [28-29].

A Tabela 1 apresenta a composição nutricional de alimentos comercializados para bebês que estão categorizados em grupo 1 (frutas e cereais) e grupo 2 (carne e legumes), de acordo com cada composição.

Tabela 1: Informação nutricional dos alimentos para bebês [28-29]

Parâmetros	Informação Nutricional (Porção 100 g)	
	Grupo 1	Grupo 2
Valor energético	81 Kcal	72 Kcal
Carboidratos	19 g	7,1 g
Açúcares	13 g	3,2 g
Proteínas	1,2 g	3,2 g
Gorduras totais	0,1 g	3,4 g
Gorduras saturadas	0 g	0 g
Gorduras trans	0 g	0 g
Fibra alimentar	1,4 g	1 g
Sódio	5,3 mg	26 mg

As matérias-primas constituintes desses alimentos podem apresentar eventualmente contaminantes como metais, micotoxinas, pesticidas, dentre outros [30-33]. Em relação aos contaminantes, a presença de pesticidas nesses alimentos aumenta o risco potencial de doenças crônicas e neurodegenerativas, além de disfunções nos sistemas endócrino e reprodutivo nos primeiros meses de vida da criança [34-36].

2.2. Pesticidas

Os pesticidas são produtos químicos utilizados em diversas culturas para o controle de pragas e, conseqüentemente, melhoria na produção e colheita. No entanto, a presença desses pesticidas é prejudicial a saúde do ser humano [6].

Estudos de Nougadere *et al*, (2020) avaliaram a presença de pesticidas em alimentos comerciais para bebês e os resultados mostraram que foram detectados 78 pesticidas em 67 % das 309 amostras. Stepán *et al*, (2005) constataram em seus estudos que em 16 % dos 522 alimentos a base de frutas para bebês foram detectados pesticidas dos grupos ftalimidas e dicarboximidas. E nos estudos de Torovi'c *et al*, (2020) foram detectados pesticidas em 56 % das 250 amostras avaliadas [37-40].

A União Europeia (UE), especificamente a Diretiva da Comissão 2006/125/CE, de 5 de dezembro de 2006, estabelece que os alimentos para bebês não devem conter resíduos de pesticidas em níveis superiores a $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. Da mesma forma foi estabelecido o limite máximo de $0,003 \text{ mg kg}^{-1}$ para os pesticidas considerados tóxicos como terbufós, dissulfotom e seus metabólitos. Alguns pesticidas apresentam efeitos biológicos e estão associados com atividade desreguladora do sistema endócrino, toxicidade renal, neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva e carcinogenicidade o que gera grande preocupação das suas presenças nesses alimentos para bebês [41-44].

Em contrapartida, é importante ressaltar que além dos alimentos para bebês, se faz necessário avaliar também a presença de pesticidas nas frutas, vegetais e cereais que são utilizadas na composição [45].

A utilização de pesticidas é a principal técnica de manejo para lidar com pragas no período da pré-colheita e da pós-colheita que podem acometer as frutas e vegetais e interferir na produção [46]. A maior problemática quanto ao uso de pesticidas nas culturas é que os alimentos podem conter resíduos desses produtos químicos. Diante disso, normativas como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceram os Limites Máximos de Resíduos (LMR) permitidos para diversas culturas agrícolas [45].

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), em estudos realizados em 2024, o Brasil é o maior consumidor de pesticidas, aplicando 720 mil toneladas por ano para uso agrícola. Dados estatísticos mostram que o Brasil emprega cerca de 20 % dos 2,6 milhões de toneladas de volume de pesticidas que são utilizados no mundo, permitindo maiores valores de concentração de resíduos na água e em alimentos em relação aos países da União Europeia [47-49].

Desta forma, as crianças e bebês ficam vulneráveis a exposição a produtos químicos como pesticidas, o que resulta em toxicidade aguda devido ao déficit no neurodesenvolvimento e, conseqüentemente, causa potenciais efeitos no sistema nervoso que pode afetar o cérebro e demais áreas do metabolismo [45, 50].

No painel de monografias estabelecido pela ANVISA [51], é listada a classificação desses compostos em classes químicas, apresentando variadas ações no controle de pragas. Dentre os grupos químicos que distinguem, os mais utilizados

no controle de pragas são os organofosforados, carbamatos e neonicotinóides, que podem ser danosos à saúde humana, pois apresentam capacidade de inibir a função da enzima colinesterase [52].

Os pesticidas aplicados nas culturas podem permanecer presentes nas frutas, vegetais e cereais que são utilizados na composição dos alimentos para bebês, seguindo até o produto. Os bebês a partir dos seis meses consomem esses alimentos e, dessa forma, podem absorver mais os pesticidas, pois ainda não foi desenvolvido completamente seu sistema gastrointestinal e suas enzimas empáticas ainda estão em processos iniciais [53].

No Brasil não existe legislação estabelecendo limites máximos de resíduos nos alimentos para bebês e, conseqüentemente, existem poucos estudos em relação ao desenvolvimento de métodos para determinação de pesticidas nesta classe específica de alimentos para bebês. No entanto, estudos desenvolveram métodos que foram eficientes para avaliação da presença de alguns pesticidas como a cipermetrina, difenoconazol, cialotrina, clorpirifós, bifentrina, permetrina, dentre outros [48, 54]. Logo, é importante o desenvolvimento de métodos para uma ampla faixa de analitos e a realização de estudos capazes de monitorar possíveis contaminações nesses alimentos.

2.3. Método de extração dos analitos

O método de extração dos analitos é considerado uma etapa importante no desenvolvimento de métodos analíticos, pois é uma forma de proporcionar melhor adequação na determinação de contaminantes. A busca por métodos adequados capazes de extrair os analitos da amostra e purificar o extrato de forma simultânea é um grande desafio para garantir resultados satisfatórios com a metodologia utilizada [8, 55]. A escolha de técnica de preparo de amostra depende de alguns fatores como o tipo de matriz alimentar e analitos alvo.

A determinação de pesticidas em alimentos para bebês é desafiadora, devido a complexidade da matriz, além da presença de gorduras, no caso dos alimentos gordurosos constituídos por carnes, ovos e peixes, que podem interferir em termos de recuperação dos analitos. Geralmente, o método de preparo de amostras envolve duas etapas em que a primeira busca extrair os analitos da matriz e a segunda etapa

consiste num adicional de limpeza dos analitos em detrimento da presença de coextrativos da matriz que podem interferir nos resultados [56].

A escolha adequada do método de extração do analitos facilita na obtenção dos valores de recuperação, assim como é possível reduzir a presença de interferentes que possam resultar em supressão de sinal, através de procedimentos de limpeza para aumentar a precisão e confiabilidade da análise. Para isso, é necessário selecionar um método que possa extrair efetivamente e, ao mesmo tempo, minimizar perda ou degradação dos analitos. As técnicas de extração para amostras sólidas ou semissólidas constituem basicamente da extração por solvente, QuEChERS (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), extração por fluído supercrítico (SFE) e dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) [57-61].

Ao avaliar os métodos de preparo de amostra para alimentos de bebês, a literatura apresenta alguns estudos utilizando QuEChERS na sua versão original e utilizando versões alternativas empregando o tampão acetato ou o citrato, com posterior agitação no ultrassom ou agitador magnético para melhor interação solvente com matriz, seguida de etapas de purificação do extrato [34,62-66].

Dentre esses métodos de preparo de amostra e extração dos analitos, a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) foi desenvolvida com o objetivo de superar as limitações dos métodos convencionais aplicados para matrizes sólidas ou semissólidas ao requerer várias etapas. Esta técnica é caracterizada pela simplicidade, elevada eficiência na extração de analitos presentes em matrizes complexas, custo-benefício e versatilidade [67].

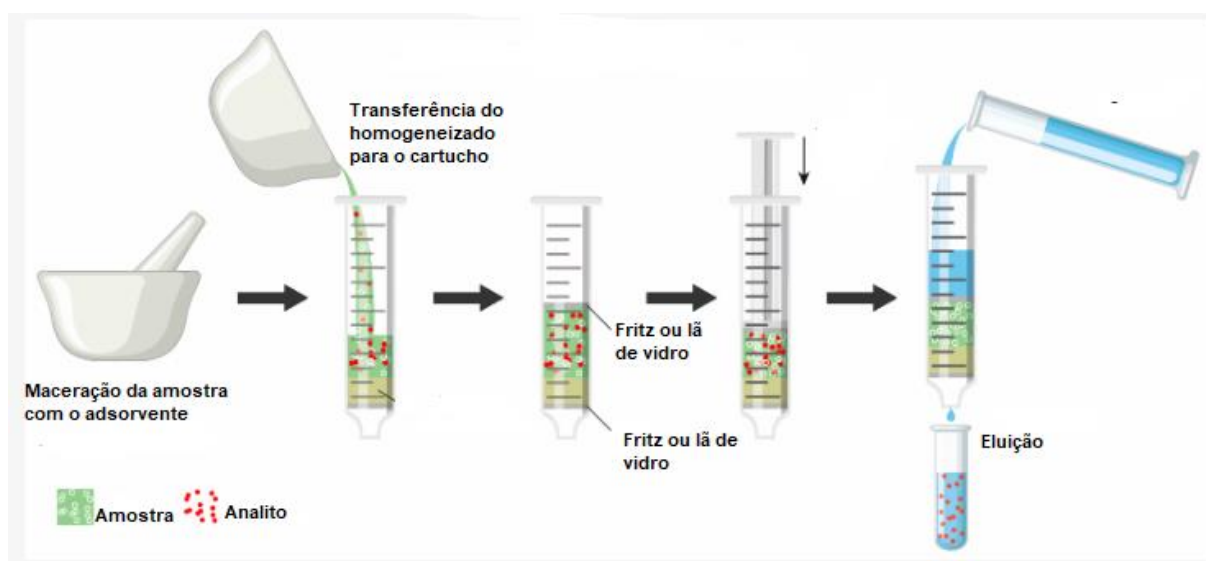
2.3.1. Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD)

A MSPD foi introduzida em 1989 por Barker para isolar resíduos dos medicamentos em tecidos biológicos. Com uso dessa técnica, a extração de analitos é realizada sem a necessidade de equipamentos específicos como agitador magnético ou sistema ultrassônico. Além disso, é uma técnica para extração e limpeza simultânea de amostras sólidas e semissólidas, na qual a amostra interage diretamente com o adsorvente, formando um homogeneizado que será transferido para a coluna e eluída com solvente apropriado [68,69].

Uma das vantagens no uso da MSPD é que se trata de uma técnica em que é fácil a preparação da amostra, apresenta baixo consumo de materiais e um curto período para extração dos analitos. A técnica consiste na trituração, extração, separação e purificação de amostras, apresentando vantagens de simplicidade e baixo custo [70]. Essa técnica é utilizada na extração de pesticidas em alimentos, na determinação de aflatoxinas [71], parabenos [72], dentre outros contaminantes [73-75].

O processo de extração convencional ocorre, conforme apresentado na Figura 1, através das seguintes etapas: Inicialmente a amostra é misturada com o adsorvente em um almofariz e triturada com auxílio de um pistilo, de modo que o material adsorvente atua desintegrando a estrutura da amostra e distribuindo em pequenas partículas. Em seguida, o homogeneizado obtido é transferido para um cartucho de extração em fase sólida (SPE), em que o material fica empacotado com lã de vidro ou algodão na sua parte inferior e superior, de modo a não perder amostra. O solvente extrator passa pelo cartucho com uso de um sistema à vácuo para aumentar a pressão do meio e facilitar a passagem através da amostra e, em seguida, o mesmo é evaporado por suave corrente de N_2 ou por meio de um sistema de evaporação, seguido de reconstituição em solvente orgânico compatível com posterior análise instrumental [76].

Figura 1: Esquema do processo de extração por MSPD convencional



Fonte: Adaptado de Grzeskowiak *et al*, 2024 [77].

A proposta de uso de materiais adsorventes alternativos e a miniaturização da MSPD objetiva reduzir custos, mas mantendo a eficiência de extração. O adsorvente é um componente importante para o desenvolvimento desse método, afetando diretamente na extração dos analitos [70]. A natureza do adsorvente influencia na extração por MSPD, pois promove a ruptura da estrutura da amostra e auxilia na limpeza do extrato. Vários materiais adsorventes têm sido utilizados na técnica como o C18, sílica, florissil, polímeros impressos molecularmente e nanopartículas magnéticas, além de materiais alternativos como nanotubos de carbono e óxido de grafeno [67,78].

Além disso, uma tendência observada nos métodos de preparo de amostra é a miniaturização das técnicas de extração. A microextração dispersiva em fase sólida, microextração em fase sólida, dentre outras, têm sido desenvolvidas para análise de diferentes compostos [79-82]. Dessa forma, na MSPD estudos relacionados a miniaturização já são propostos e vem sendo abordado para diversos analitos em variadas matrizes de modo a reduzir quantidade de amostra, de reagentes, de volume do solvente e redução de etapas ao dispensar evaporação de solvente, capazes de proporcionar um procedimento analítico rápido, econômico, acessível e, conseqüentemente, relacionado com a Química Analítica Verde (GAC) [83-85].

Alguns pesquisadores estão propondo a utilização de ponteiras de micropipeta em substituição aos cartuchos e colunas na MSPD, por exemplo, os estudos de Shen *et al*, 2016 buscaram miniaturizar a MSPD através da utilização de ponteira de micropipeta de modo a obter um método rápido, robusto e sensível para extração de sulfonamidas em amostras de peixes. O método desenvolvido foi comparado com a MSPD convencional e apresentou resultados satisfatórios no estudo de recuperação, mesmo utilizando menor quantidade de adsorvente, volume de eluente e tempo de extração, obtendo vantagens em termos de redução na quantidade de materiais e tempo, além de reduzidas etapas ao eliminar a secagem do solvente no nitrogênio, para posterior análise instrumental [86].

Chu *et al*, 2021 miniaturizaram a MSPD para extração de terpenos em comprimidos. Foram utilizados cerca de 3 mg de adsorvente e 6 mg de amostra, as quais foram homogeneizadas e transferidas para uma ponteira de micropipeta de 200 µL e os analitos foram eluídos com 200 µL de metanol. Posteriormente, o eluente foi centrifugado por 5 min para posterior análise instrumental com HPLC-UV/Vis. Os resultados mostraram que foi possível desenvolver um método com reduzidas

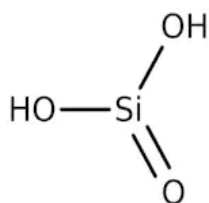
quantidades de materiais, além de ser rápido, barato, simples e com menor consumo de solvente, capazes de proporcionar resultados satisfatórios ao comparar com métodos convencionais [87].

2.3.1.1. Adsorventes comerciais utilizados na MSPD

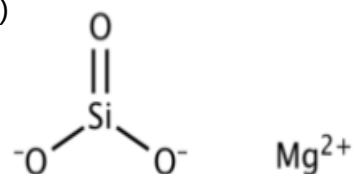
O conhecimento da natureza do material adsorvente utilizado na MSPD é importante, devido a polaridade e presença de grupos funcionais que podem favorecer diferentes interações com o analito [77].

A sílica $[(\text{SiO}_2)_n\text{OH}]$ (1) e o silicato de magnésio [conhecido como Florisil® $\text{Mg}(\text{SiO}_3)_n$] (2) são materiais adsorventes que apresentam características polares. O Florisil é um material adsorvente para remoção de impurezas hidrofílicas, além de ser frequentemente utilizado nas etapas de limpeza e concentração de pesticidas de média polaridade [70]. O processo de retenção dos analitos ocorre pela adsorção e são adequados para extração de analitos polares, voláteis e de baixa massa molar. Além disso, são silicatos com estruturas porosas e os grupos hidroxila em sua estrutura podem interagir com os analitos através de ligação de hidrogênio [88].

(1)



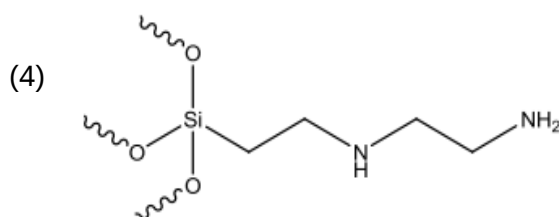
(2)



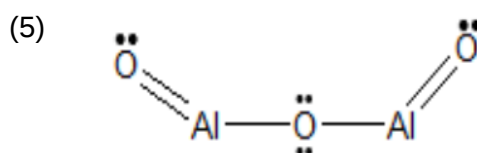
No entanto, o C18 (3) é um adsorvente que apresenta característica apolar e a retenção dos analitos ocorre por partição fornecendo uma alta capacidade para extração de analitos apolares e de polaridade intermediária. Esse adsorvente é caracterizado pelo fato das interações de Van der Waals atuarem entre as moléculas do analito e o C18 [88].



Em relação a amina primária e secundária (PSA) (4), ela é caracterizada por ser um adsorvente trocador aniônico fraco que interage com compostos ácidos, caracterizado pela capacidade de remover mais coextrativos da matriz, devido a presença da amina primária e secundária [89]. Coextrativos na matriz estão sujeitos a competir com os pesticidas durante a etapa de adsorção interferindo na recuperação dos analitos [90]. Sendo um material muito utilizado para limpar os extratos e minimizar o efeito matriz.

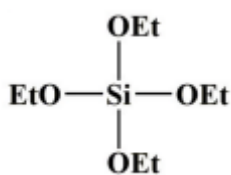


Em contrapartida, segundo Lanças, 2004, a alumina neutra (Al_2O_3) (5) é um adsorvente anfótero capaz de interagir tanto com compostos ácidos quanto com compostos básicos, trabalhando dessa forma com pesticidas de diferentes classes químicas e colaborando para um processo adequado de extração de resíduos de pesticidas em variadas matrizes [91].



O tetraetoxissilano (TEOS) é um composto que é sintetizado com capacidade de uso como material adsorvente e formação de compostos híbridos na síntese de novos materiais. A hidrólise do TEOS produz sílica por sol-gel, caracterizado por apresentar menor custo em relação a outros materiais constituintes de sílica e apresentar melhor adsorção para moléculas polares [92,93]. É um adsorvente que vem sendo empregado de forma híbrida com outros materiais em métodos de preparo de amostra como a SPE e microextração em fase sólida (SPME) para análise de traços da presença de metais e pesticidas organofosforados em amostras de água [94,95].

(6)



2.3.1.2. Biocarvão como material adsorvente para extração dos analitos

Alguns estudos desenvolveram métodos de preparo de amostra utilizando o biocarvão de diferentes biomassas para extração de pesticidas em variadas matrizes. Propostas com modificações do biocarvão para torná-lo como um material magnético aprimorando sua capacidade de adsorção vem sendo amplamente utilizado como aconteceu nos estudos de Yue *et al*, 2020, ao utilizar o biocarvão da casca de frutas cítricas, modificado com o óxido de ferro II (Fe_3O_4) na etapa de purificação do método QuEChERS para extração de pesticidas em vegetais. O método foi adequado para a proposta estabelecida e isso foi possível devido ao tamanho de poros do material adsorvente e as diferentes interações que favoreceram a capacidade de extração [96].

Enquanto os estudos de Zhang *et al*, 2021 utilizaram o biocarvão da palha de milho como material adsorvente na extração em fase sólida magnética (MSPE), em que a magnetização ocorreu com a utilização do ferro e o biocarvão apresentou elevada capacidade para adsorção de organofosforados na água e solo [97].

A utilização do biocarvão sem modificações também vem sendo utilizada. Fato que foi observado nos estudos de Behbahan *et al*. (2021) ao utilizar o biocarvão da casca de banana como material adsorvente do método de PT- μ SPE, ou seja, microextração em fase sólida com a ponteira de pipeta como suporte para o material adsorvente para extração de pesticidas em hortaliças, em que ao comparar o adsorvente alternativo utilizado com adsorventes comerciais, os resultados obtidos foram comparáveis em ambas técnicas, mas ao utilizar o biocarvão favoreceu a obtenção de um material de menor custo, por ser obtido a partir de biomassa, o que requer menor tempo de síntese e um produto ambientalmente mais amigável [98].

O biocarvão de aguapé foi utilizado nos estudos de Nascimento *et al*. (2024) [19] para extração de pesticidas em amostras de cerveja utilizando o método de

extração em fase sólida (SPE), apresentando resultados condizentes para determinação de pesticidas pertencentes a diferentes grupos químicos.

2.4. Técnicas miniaturizadas com ponteira de micropipeta

A utilização das ponteiras de micropipeta na miniaturização de métodos de extração está sendo adotado em algumas técnicas de extração. Uma das formas de reduzir o tempo da extração em fase sólida (SPE) foi miniaturizar a técnica utilizando ponteira de micropipeta com pequena quantidade de adsorvente de modo que acaba sendo utilizada para o processo de extração e purificação, em que o sistema de aspirar/dispensar em ciclos deve ser realizado para maior extração dos analitos [99-101].

Npukdee *et al.* (2014) utilizaram a ponteira de micropipeta para propor uma μ -SPE utilizando o criogel de grafeno/álcool polivinílico (grafeno/PVA) como material adsorvente para extração dos pesticidas carbaril e carbofurano. Foram realizados ciclos de aspiração/dispensação de modo que ocorresse uma pré-concentração dos analitos e os mesmos ficassem retidos no material adsorvente com posterior dessorção ao utilizar solvente adequado. Alguns parâmetros como solvente de eluição, volume e pH foram otimizados de modo a garantir a condição mais eficiente do método de extração para as amostras de água [102].

Shi *et al.*, 2016 sintetizaram grafeno e avaliaram esse material como um promissor adsorvente na μ -SPE com ponteira de micropipeta para extração de carbamatos em sucos de fruta. O método mostrou-se eficiente e vantajoso, devido à reduzidas quantidades de adsorvente e volume de solvente de eluição, além de menor tempo para extração dos analitos [99].

Yuan *et al.*, 2024 utilizaram uma forma miniaturizada da MSPD com ponteira de micropipeta para suporte dos reagentes e utilizando a centrifugação para aumentar a velocidade de extração. O método denominado como aceleração por centrifugação com ponteira de micropipeta adaptada (CPT-MSPD) mostrou-se adequado para extração rápida e eficiente de marcadores antiadipogênese em plantas ao utilizar apenas 3 mg de amostra, 2 mg de material adsorvente sintético e 1 mL de solvente de eluição [103].

A utilização de ponteiras de micropipeta nas técnicas de micro extração é algo que vem sendo proposto para SPE, devido a eficiência e vantagens na extração com amostras líquidas. Alguns poucos trabalhos vêm utilizando essa abordagem na MSPD propondo uma forma miniaturizada da técnica, mas até o momento não é apresentado na literatura esse procedimento para extração de pesticidas de diferentes grupos químicos em amostras semissólidas como os alimentos para bebês.

Ao utilizar as ponteiras de micropipeta em substituição aos cartuchos e ao reduzir etapas de extração sem uso do sistema a vácuo ou algum outro meio para acelerar a eluição do solvente, sem a etapa de secagem/evaporação do solvente e com menores quantidades de materiais, resulta em uma proposta de μ -MSPD.

2.5. Revisão da Literatura

A presente revisão da literatura busca apresentar estudos que utilizaram diferentes métodos de extração para determinação de pesticidas em alimentos infantis.

González-Curbelo *et al.* (2012) utilizaram a extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs), para extração de pesticidas organofosforados em diferentes alimentos para bebês. Os autores observaram que ao aumentar a quantidade de amostra, os valores de recuperação diminuíram, necessitando, dessa forma, maior quantidade de adsorvente, precisamente 80 mg e 30 mL de acetonitrila como eluente. O método apresentou valores de recuperação entre 64 – 105%, com limite de quantificação (LQ) 0,31 – 5,50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ [104].

Em estudos posteriores, González-Curbelo *et al.* (2013) desenvolveram um método de microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME) para extração de 13 pesticidas em alimentos para bebês constituídos por cereais e farinha de trigo. Os autores avaliaram o teor de gordura no alimento o qual é fator capaz de interferir nos resultados do processo de extração. Foram otimizados os parâmetros pH, taxa de agitação, tempo de dessorção, adição de sal e temperatura de extração. Para tais testes foram utilizados 1,5 g de amostra e 20 mL de ACN como solvente de extração.

Os resultados mostraram boa precisão, linearidade e reprodutibilidade com limite de detecção (LD) de 0,29 – 2,31 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LQ variando entre 0,96 e 10,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ [105].

Pérez *et al.* (2015) buscaram avaliar uma maneira de reduzir o efeito matriz de amostras de alimentos para bebês de carne, peixes ou vegetais para determinação de pesticidas. Foi utilizado um método de extração genérico no qual 2,5 g de amostra foi diluída com 2,5 mL de água, seguida de agitação, adição de 7,5 mL de acetonitrila com 1% de ácido fórmico e posterior centrifugação. Estudos mostraram que ao adicionar uma etapa de limpeza ao método de extração utilizando o florisil reduzia o efeito matriz nos alimentos a base de peixes ou vegetais, consequentemente, também reduzia a recuperação dos analitos, dispensando a utilização desta etapa no método. O método foi validado com base em parâmetros pré-estabelecidos e apresentou LD 0,5 – 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LQ 10-100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ [8].

Petrarca *et al.* (2016) compararam a eficiência de extração do método QuEChERS-DLLME com o QuEChERS-dSPE, no qual os resultados da última condição avaliada apresentaram extratos mais limpos, livre de interferentes, mas com intensidade de sinal reduzida para os analitos avaliados. Enquanto o primeiro proporcionou áreas dos sinais analíticos superiores em relação ao QuEChERS-dSPE. Logo, o QuEChERS-DLLME foi o método mais adequado para a metodologia proposta e apresentou melhores LD de 0,05 mg kg^{-1} e LQ variando de 0,01 – 0,05 mg kg^{-1} . Após validação, pode-se identificar presença de pesticida procimidona, pertencente ao grupo químico dicarboxida, em uma amostra avaliada acima do limite estabelecido pela UE [34].

Petrarca *et al.* (2017) otimizaram a microextração dispersiva líquido-líquido assistida por ultrassom (UA-DLLME) e extração líquido-líquido assistida por salting out (SALLE) para análise de piretrinas naturais e piretróides sintéticos em diferentes alimentos para bebês os quais apresentaram recuperações entre 75 e 120 %, precisão inferior a 16 %, boa linearidade, seletividade e limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) abaixo de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ que é o máximo permitido nessa matriz. Os resultados mostraram que ao utilizar esses métodos, foi possível detectar alguns pesticidas como cialotrina e etofenprox em diferentes amostras [106].

Os estudos de Notardonato *et al.* (2018) otimizaram o método de microextração líquido-líquido assistido por ultrassom (VUA-DLLME) para determinação de organofosforados e ftalatos em alimentos para bebês em amostras convencionais e liofilizadas à base de carne. Parâmetros como solvente de extração e pH foram

avaliados. Os resultados mostraram que o desvio padrão relativo (RSD) foi maior nas amostras convencionais do que nas liofilizadas, indicando assim que essa etapa foi capaz de reduzir o RSD. Além disso, o método proposto apresentou recuperações entre 90 % e 110 % tanto para as amostras semissólidas quanto para as amostras liofilizadas, LD 0,2 – 4,7 ng g⁻¹ e LQ 2,3 – 8,5 ng g⁻¹ [107].

Prata *et al.* (2024) utilizaram o QUEChERS para determinação dos pesticidas bifentrina, bromopropilato, permetrina, procimidona e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em alimentos para bebês a base de carne, frutas, vegetais e cereais. Para o procedimento de extração 5 g de amostra foi adicionado em um tubo de centrífuga no qual foi adicionado 10 mL de acetonitrila e agitado em vórtex por 1 min, seguida da adição de 4 g de MgSO₄ e 1 g de NaCl com posterior agitação. Para continuidade do procedimento de extração 1,5 mL do sobrenadante foi transferido para um tubo contendo 0,03 g de PSA, 0,03 g de C18 e 0,3 g de Z-sep+, agitado e centrifugado por 10 min, seguindo com evaporação em suave corrente de nitrogênio (N₂) e reconstituição em acetato de etila para posterior injeção no GC-Q-Orbitrap-MS. Os resultados mostraram que o método apresentou LD 0,05 µg kg⁻¹ e LQ 0,1 µg kg⁻¹ e valores de recuperação entre 87% e 120%. Os estudos mostraram que foi possível detectar os pesticidas permetrina, procimidona e bifentrina nas diferentes amostras. A permetrina foi detectada em amostras constituídas por maçãs, mas de acordo com a ANVISA, ela não tem uso autorizado para essa cultura [54].

Ischi *et al.* (2025) utilizaram o método QUEChERS com acetato para determinar a presença de pesticidas em alimentos para bebês a base de frutas e vegetais. Os resultados foram satisfatórios em que o método utilizado permitiu constatar ao avaliar a presença de 355 pesticidas em 36 amostras, alguns analitos como o pirimetanil e o piriproxifeno apresentaram concentrações acima do LMR permitido, indicando que mesmo após o processamento, esses resíduos permaneceram no produto [50].

A Tabela 2 apresenta informações suplementares que são essenciais no desenvolvimento de um método analítico para alimentos para bebês de diferentes composições.

Tabela 2-Trabalhos reportando a utilização de diferentes métodos de extração e técnicas instrumentais para análise de pesticidas em alimentos para bebês.

Referência	Composição da Matriz	Analitos	Técnica de Extração	Adsorvente	Quantidade de matriz (g)	Solvente de dessorção	Técnica Instrumental
González <i>et al.</i> (2012) [104]	Cereais	Organofosforados	d-SPE	MWCNTs	1,5	DCM	GC - NPD
González <i>et al.</i> (2013) [105]	Cereais	Organofosforados	HF-LPME	-	1,5	ACN com 1,25% ácido fórmico	GC - NPD
Pérez <i>et al.</i> (2015) [8]	Carne, peixes e vegetais	Diferentes grupos químicos	-	-	2,5		UHPLC-QqQ MS
Petrarca <i>et al.</i> (2016) [34]	Frutas	Organofosforado Triazina Piretróide	QuECHERS DLLME QuECHERS d-SPE	C18 PSA MgSO ₄	15	ACN	GC-MS
Petrarca <i>et al.</i> (2017) [106]	Frutas	Piretróides	UA-DLLME SALLE	-	-	ACN	UHPLC – MS/MS

Tabela 2: Continuação

Notardonato <i>et al.</i> (2018) [107]	-	Organofosforados	DLLME	-	5	n- hexano	GC – IT/MS
Prata <i>et al.</i> (2024) [54]	Frutas, vegetais, carne, cereais	Multiclasse	QuECHERS	PSA C18 Z-sep+	5	ACN	GC-Q-Orbitrap
Isci <i>et al.</i> (2025) [50]	Frutas e vegetais	Multiclasse	QuECHERS	PSA MgSO ₄	15	ACN	LC – MS/MS GC – MS/MS

SPE= extração em fase sólida; HF-LPME= Microextração em fase líquida de fibra oca; GC-MS/MS= cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em tandem; GC-ECD= Cromatografia gasosa com captura de elétrons; LC-MS/MS: cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem; UPLC= cromatografia líquida de ultra eficiência; PSA= amina primária e secundária; CH₃OH= metanol; CH₃CN= acetonitrila; H₂O= água; CH₂Cl₂=diclorometano; HCOOH= ácido fórmico; MWCNTs= Nanotubos de carbono de paredes múltiplas; GC-NPD= Cromatografia gasosa com detector nitrogênio fósforo; UHPLC-QqQ/MS= Cromatografia líquida de ultra alta eficiência com triplo quadrupolo e espectrometria de massas; GC-MS= Cromatografia gasosa com espectrometria de massas; UHPLC-MS/MS= cromatografia líquida de ultra eficiência com espectrometria de massas em tandem; GC-IT/MS= Cromatografia á gás com espectrometria de massas de armadilha iônica “Ion trap”.

Analisando a Tabela 2 e com base no levantamento realizado, a literatura apresenta poucos métodos para extração de pesticidas em alimentos para bebês, os quais são métodos não miniaturizados. Desta forma, miniaturizar métodos de extração é uma proposta adequada para reduzir etapas, tempo e reagentes na determinação de pesticidas de diferentes grupos químicos em alimentos para bebês.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e validar um método analítico miniaturizado da MSPD para determinação de resíduos de pesticidas em matrizes de alimentos comerciais para bebês.

3.2. Objetivos específicos

- Selecionar os pesticidas que são comumente utilizados nas culturas de abóbora, banana, batata, batata-doce, canola, cenoura, chuchu, maçã e manga;
- Obter as condições instrumentais de análise para determinação dos pesticidas selecionados por cromatografia líquida com detector DAD/UV-Vis;
- Desenvolver o método de micro dispersão da matriz em fase sólida (μ -MSPD) utilizando de ponteiros de micropipeta como suporte para extração;
- Utilizar a análise por agrupamento para avaliar eficiência dos materiais carbonáceos;
- Avaliar eficiência de adsorventes comerciais e comparar com o biocarvão de diferentes biomassas para extração dos pesticidas em estudo;
- Validar os métodos analíticos;
- Aplicar os métodos validados em amostras de alimentos comerciais para bebês.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Béquers, provetas, vial, seringa de vidro, tubos de polipropileno, micropipetas de volumes variáveis, pipetas volumétricas, bastão de vidro, espátula, pinça, ponteiros de micropipetas, lâ de vidro, vidro de relógio, almofariz, pistilo.

4.2. Reagentes

Acetato de Etila grau LC (Merck), Água ultrapurificada Milli-Q (Millipore Corporation), Metanol grau HPLC (Merck), Metanol grau LC-MS (FlukaAnalytical, Sigma-Aldrich), Acetonitrila grau HPLC (J.P. Barker) e Diclorometano (Qhemis, Brasil), todos com o grau de pureza acima de 99%. E como material adsorvente o Florisil (100-200 Mesh; J.T. Baker, Phillipsburg, NJ, EUA), Alumina neutra (Vetec, RJ, Brasil), C18 (Agilent Technologies, EUA), Sílica gel (70-230 Mesh; Sílica Flash G60, Silicycle, Quebec, Canadá), PSA (Sigma-Aldrich; Supelclean), adsorvente sintético inorgânico TEOS. Biocarvão Sabugo de Milho, Biocarvão Semente de Uva, Biocarvão de Aguapé, Biocarvão da Mandioca e Biocarvão de Esterco Bovino. Os materiais carbonáceos foram obtidos do grupo de Pesquisa em Petróleo e Energia da Biomassa e Laboratório de Análises Cromatográficas da Universidade Federal de Sergipe.

4.3. Padrões analíticos dos pesticidas

Foram obtidos padrões certificados dos pesticidas: Abamectina (Sigma Aldrich), Acefato (Dr. Ehrenstorfer GmbH), Acetamiprido (Riedel-de Haen), Azoxistrobina (Riedel-de Haen), Bifentrina (Sigma Aldrich), Clotianidina (Fluka Analytical), Difenconazol (Accustandard), Dimetoato (Dr. Ehrenstorfer GmbH), Epoxiconazol (Fluka Analytical), Flutriafol (Accustandard), Imidacloprido (Riedel-de Haen), Lufenuron (Fluka Analytical), Malationa (Accus Standard), Metomil (Dr. Ehrenstorfer GmbH), Permetrina (Fluka Analytical), Piraclostrobina (Riedel-de Haen), Teflubenzurom (Fluka Analytical), Tiacloprido (Fluka Analytical), Tiametoxam (Accustandard) e Tiofanato-metílico (Fluka Analytical). Todos os padrões certificados apresentam pureza superior a 98%.

4.4. Equipamentos

Balança analítica AL 204 (Mettler Toledo, Ohio, EUA), lavadora ultrassônica (Unique USC-1400), Cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu (Quioto Japão) modelo Prominence composto por: desgaseificador (DGU-20A3), sistema binário de bombeamento (LC-20AT), injetor automático (SIL-20A HT), forno para coluna (CTO-20A), detector UV-Vis DAD (SPD-M20A) e módulo de comunicação (CBM-20A) com software Shimadzu LC Solution, além da Coluna Analítica Shim-Pack UC – X RP C18 (250 x 4,6 mm x 5 μ m, Califórnia, EUA) e Coluna Analítica Shim Pack UC-X RP C18 (150 x 2,1 mm x 3 μ m).

4.5. Preparo de soluções padrão dos pesticidas

Foram pesadas as massas dos padrões sólidos a fim de se obter soluções individuais dos pesticidas com uma concentração de 1000 μ g mL⁻¹ em 10 mL de metanol grau HPLC. A partir destas soluções foi obtida uma solução intermediária conjunta da mistura dos pesticidas com uma concentração de 10 μ g mL⁻¹ e, em seguida, diluída para 1 μ g mL⁻¹. As soluções foram armazenadas em frascos de vidro com tampa com rosca e mantidas sob refrigeração.

4.6. Obtenção das amostras

As amostras de alimentos para bebês a base de frutas, legumes e vegetais foram adquiridas dos comércios locais de Aracaju e São Cristóvão-SE e armazenadas no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP), da Universidade Federal de Sergipe, sob refrigeração a 5 °C.

4.7. Preparo das amostras

As amostras foram utilizadas na forma como são comercializadas sem submissão a nenhum tratamento prévio antes da análise.

4.8. Fortificação da amostra

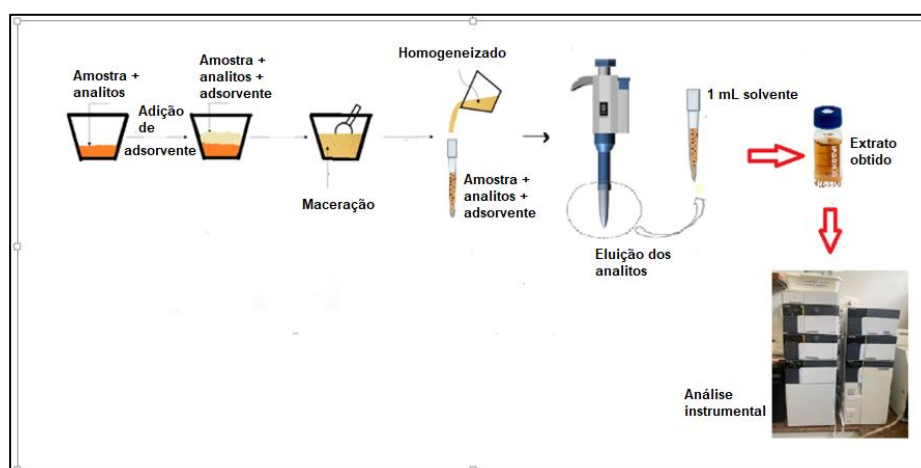
As fortificações das amostras foram realizadas antes do processo de maceração com o adsorvente, tendo um tempo de contato em 30 min, com 100 μ L da solução dos pesticidas de concentração 10 μ g mL⁻¹, obtendo um nível de fortificação 1 μ g mL⁻¹.

4.9. Procedimento de extração da μ -MSPD

Inicialmente foi pesada a massa de 40 mg da amostra de alimentos para bebês a base de frutas e 60 mg de adsorvente, obtendo a proporção de 2:3. Em seguida, a amostra e o adsorvente foram maceradas com auxílio de um almofariz e pistilo e com velocidade constante por um período de 3 minutos até obtenção de um pó solto. O macerado foi transferido para uma ponteira de micropipeta de 1000 μ L, a qual foi adicionada uma pequena quantidade de lã de vidro na parte inferior, seguida do homogeneizado da amostra com adsorvente e outra camada de lã na parte superior, evitando escape do material e formação de caminhos preferenciais durante o empacotamento. No método otimizado para a sílica, os analitos foram eluídos com 1000 μ L de metanol/acetato de etila (50:50, v/v). Enquanto para o biocarvão foram utilizadas as mesmas condições da etapa anterior, mas os analitos foram eluídos com 1000 μ L de metanol.

A Figura 2 apresenta o esquema da proposta de μ -MSPD com ponteira de micropipeta para suporte do homogeneizado que foi desenvolvido nesse trabalho para extração dos analitos nas amostras de alimentos para bebês.

Figura 2: Esquemática da μ -MSPD desenvolvida nesse trabalho.



Fonte: Autoria própria.

4.10. Condições instrumentais de análise

A Tabela 3 (A) apresenta as condições instrumentais de análise para o cromatógrafo a líquido com detector UV-Vis/DAD ao utilizar os adsorventes comerciais. Enquanto a

Tabela 3 (B) apresenta as condições instrumentais de análise que foram utilizadas para avaliação do biocarvão.

Tabela 3 (A) - Condições instrumentais de análise no HPLC DAD/UV-Vis.

Condições do Cromatógrafo à Líquido
Fase estacionária analítica: Shim-Pack UC-X RP C18;5 μm (250 x 4,6 mm)
Fluxo da fase móvel: 1,0 mL min ⁻¹
Modo de eluição: Eluição Gradiente, 35 % B (0,01 min), 100 % B (40 min), 100 % B (2 min), 35 % B (2 min), 35 % B (8 min)
Fase móvel: A: Água; B: Metanol
Temperatura do Forno de colunas: 40 °C
Volume de injeção: 25 μL
Comprimentos de onda (nm): 254, 246, 220, 277, 250, 210, 263, 228, 234, 273, 243

Tabela 3 (B)- Condições instrumentais de análise no HPLC DAD/UV-Vis para análise utilizando o biocarvão como material adsorvente.

Condições do Cromatógrafo Líquido
Fase estacionária analítica: Shim-Pack UC-X RP C18 3 μm (150 x 2,1 mm)
Fluxo da fase móvel: 0,3 mL min ⁻¹
Modo de eluição: Eluição Gradiente, 5 % B (0,01 min), 100 % B (42 min), 100 % B (2 min), 5 % B (8 min) finalizando o gradiente em 52 min.
Fase móvel: A: Água; B: Metanol
Temperatura do Forno de colunas: 40 °C
Volume de injeção: 25 μL
Comprimentos de onda (nm): 254, 246, 220, 277, 250, 210, 263, 228, 234, 273, 243

4.11. Limpeza da vidraria

A lavagem da vidraria seguiu procedimento padrão utilizado no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP), como segue:

- Enxágue com água corrente, por três vezes;
- Lavagem com água destilada;
- Lavagem com água ultrapura;
- Enxágue com acetona;
- Secagem em estufa a 100 °C (exceto as vidrarias volumétricas).

4.12. Descarte de Resíduos

Os solventes resultantes do processo analítico e os resíduos sólidos gerados das análises foram acondicionados em recipientes devidamente identificados para posterior recolhimento por empresa responsável.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Seleção de pesticidas dentre os autorizados pela ANVISA

No painel de monografias autorizadas pela ANVISA consta os ingredientes ativos permitidos para uso agrícola no país [51]. Uma pesquisa foi realizada buscando informações dos pesticidas utilizados nas culturas de abóbora, banana, batata, batata-doce, canola, cenoura, chuchu, maçã e manga que estão presentes em diversas variedades de alimentos para bebês comercializadas industrialmente. Através desse levantamento, pôde-se encontrar uma lista com 215 ingredientes ativos para essas culturas. Dessa relação foram escolhidos 20 pesticidas com base na disponibilidade desses padrões no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos Poluentes (LCP).

Os pesticidas utilizados nessas culturas podem estar presentes nessas frutas, vegetais e legumes que são utilizados na constituição desses alimentos e, consequentemente podem permanecer durante o processo de produção desse alimento.

Estudos apresentam avaliações nessa matriz, devido a possibilidade de contaminação e sua consequência danosa a saúde do bebê [34,104,106]. Logo, foram selecionados os pesticidas abamectina, acefato, acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, clotianidina, difenoconazol, dimetoato, epoxiconazol, flutriafol, imidacloprido, lufenuron, malationa, metomil, permetrina, piraclostrobina, teflubenzurom, tiacloprido, tiametoxam e tiofanato-metílico.

Após a seleção dos pesticidas é importante conhecer as características dos analitos em estudo para melhor compreender seu comportamento. Assim, foi realizada uma pesquisa sobre as informações gerais e propriedades físico-químicas dos pesticidas em estudo, as quais estão apresentadas na Tabela 4, Tabela 5 e Figura 3.

Tabela 4- Informações gerais relacionadas aos pesticidas em estudo. Fonte: ANVISA; IUPAC PPDB [51,108].

Pesticida	Grupo Químico	Fórmula Molecular	Modo de Ação	Utilização na Cultura Agrícola	LMR ₁ (mg kg ⁻¹)
Abamectina	Avermectinas	C ₉₅ H ₁₄₂ O ₂₈	Inseticida	Abóbora	0,010
				Batata	0,010
				Cenoura	0,005
				Chuchu	0,010
				Maçã	0,010
				Manga	0,060
Acefato	Organofosforado	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	Inseticida	Batata	0,200
				Cenoura	0,150
Acetamiprido	Neonicotinóide	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	Inseticida	Abóbora	0,200
				Batata	0,500
				Batata-doce	0,030
				Canola	0,060
				Cenoura	0,500
				Chuchu	0,200
				Maçã	0,800
				Manga	0,300
Azoxistrobina	Estrobilurina	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	Fungicida	Abóbora	0,500
				Banana	15,00
				Batata	0,100
				Batata – doce	0,200
				Canola	0,100
				Cenoura	0,200
				Chuchu	0,500
				Maçã	6,000
				Manga	6,000

Tabela 4: Continuação

Bifentrina	Piretróide	$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	Inseticida	Abóbora	0,300
				Banana	0,020
				Batata	0,030
				Batata-doce	0,080
				Canola	0,020
				Cenoura	0,150
				Chuchu	0,300
				Maçã	0,400
				Manga	0,300
Clotianidina	Neonicotinóide	$C_6H_8ClN_5O_2S$	Inseticida	Batata	0,400
Difenoconazol	Triazol	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$	Fungicida	Abóbora	0,070
				Banana	2,000
				Batata	0,100
				Batata-doce	0,200
				Canola	0,040
				Cenoura	0,200
				Chuchu	0,070
				Maçã	0,600
				Manga	0,200
Dimetoato	Organofosforado	$C_5H_{12}NO_3PS_2$	Inseticida	Maçã	2,000
Epoxiconazol	Triazol	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	Fungicida	Banana	0,100
Flutriafol	Triazol	$C_{16}H_{13}F_2N_3O$	Fungicida	Abóbora	0,200
				Banana	0,200
				Batata	0,100
				Batata-doce	0,100

				Canola	0,200
				Cenoura	0,100
				Chuchu	0,200
				Maçã	0,060
				Manga	0,500
Imidacloprido	Neonicotinóide	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	Inseticida	Abóbora	0,050
				Banana	0,100
				Batata	0,050
				Cenoura	0,050
				Manga	0,700
Lufenuron	Benzoilureia	$C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$	Inseticida	Abóbora	0,080
				Batata	0,020
				Batata-doce	0,010
				Canola	0,040
				Cenoura	0,010
				Chuchu	0,080
				Maçã	0,600
Malationa	Organofosforado	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	Inseticida	Maçã	2,000
Metomil	Metilcarbamato de Oxima	$C_5H_{10}N_2O_2S$	Inseticida	Batata	0,100
				Manga	0,010
Permetrina	Piretróide	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	Inseticida	Uva	0,050
Piraclostrobina	Estrobilurina	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	Fungicida	Abóbora	0,050
				Banana	0,500
				Batata	0,020
				Canola	0,200
				Cenoura	0,200
				Chuchu	0,050
				Maçã	2,000

				Manga	0,700
Teflubenzurom	Benzoilureia	$C_{14}H_6Cl_2F_4N_2O_2$	Inseticida	Abóbora	0,010
				Batata	0,100
				Batata-Doce	0,050
				Canola	2,000
				Cenoura	0,050
				Chuchu	0,010
				Maçã	0,600
				Manga	0,700
Tiacloprido	Neonicotinóide	$C_{10}H_9ClN_4S$	Inseticida	Banana	0,050
				Batata	0,100
Tiametoxam	Neonicotinóide	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	Inseticida	Batata	0,100
				Canola	0,200
				Cenoura	0,040
				Maçã	0,200
				Manga	0,050
Tiofanato— metílico	Benzimidazol	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	Fungicida	Abóbora	0,100
				Banana	0,500
				Batata	0,100
				Canola	0,010
				Cenoura	0,010
				Maçã	0,500
				Manga	2,000

LMR: Limite Máximo de Resíduo

Tabela 5- Propriedades físico-químicas dos pesticidas em estudo. Fonte: ANVISA; IUPAC PPDB; PubChem [51,108,109].

Pesticida	MM (g mol ⁻¹)	Temperatura de ebulição (°C)	Solubilidade em H ₂ O (mg L ⁻¹)	Solubilidade solvente orgânico (mg L ⁻¹)	pKa	LogK _{ow}
Abamectina	1732,1	941	7,8x10 ⁻³	Acetona (1,5x10 ⁵) Metanol (2,1x10 ⁴)	12,47	4,30
Acefato	183,17	-	7,9x10 ⁴	Acetona (1,51x10 ³) Etanol (1x10 ⁵) Acetato de etila (3,5x10 ⁵)	8,35	-0,85
Acetamiprido	222,67	222	2,9x10 ³	Acetona (2,0x10 ⁵) Diclorometano (2,0x10 ⁵) Metanol (1,5x10 ⁵)	0,7	0,8
Azoxistrobina	403,4	360	6,7x10 ²	Metanol (2,0x10 ⁴) Hexano (57)	ND	2,5
Bifentrina	422,88	-	1x10 ⁻³	Acetona (7,357x10 ²) Heptano (1,445x10 ²) Metanol (4,8x10 ³)	-	6,00

Tabela 5: Continuação

Clotianidina	249,68	-	3270	Diclorometano (1,32) Metanol (6,26) Acetato de etila (2,03)	11,09	0,7
Difenoconazol	406,26	-	$1,5 \times 10^2$	Etanol ($3,3 \times 10^4$) Acetona ($6,1 \times 10^4$) n-hexano ($3,4 \times 10^2$)	1,1	4,4
Dimetoato	229,26	-	$2,59 \times 10^2$	Metanol ($1,59 \times 10^4$) n-hexano (295)	N.D	0,78
Epoxiconazol	329,8	-	$7,1 \times 10^3$	Acetato de etila (1×10^5) Acetona ($1,4 \times 10^5$)	2,00	3,58
Flutriafol	301,3	99	-	Metanol ($1,1 \times 10^5$) Acetona ($1,16 \times 10^5$)	2,3	2,3
Imidacloprido	255,66	-	$6,1 \times 10^{-2}$	Diclorometano ($6,4 \times 10^4$) Isopropanol	1,56	0,57

				(2,3x10 ⁴) Tolueno (6,9x10 ²)		
Lufenuron	511,7	-	4,6x10 ⁻²	Acetato de etila (3,3x10 ⁵) Acetona (4,6x10 ⁵)	10,2	5,12
Malationa	330,4	-	143	Metanol (2,5x10 ⁵) Acetona (2,5x10 ⁵)	ND	2,75
Metomil	162,21	-	5,5x10 ³	Metanol (1,0x10 ⁶) Acetona (2,5x10 ⁴) n-heptano (9,7x10 ²)	3,03	0,09
Permetrina	391,29	-	1,1x10 ⁻²	Metanol (2,58x10 ³) Hexano (1,0x10 ⁶)	ND	6,50
Piraclostrobina	387,82	-	1,9x10 ²	Metanol (1x10 ⁵) Acetona (5,0x10 ⁵) Octanol (2,42x10 ²)	-0,23	3,99

Tabela 5: Continuação

Teflubenzurom	381,11	-	$1,0 \times 10^{-2}$	Metanol (1060) Acetona (8850) n-heptano (10)	8,16	4,64
Tiacloprido	252,72	-	184	Acetato de etila ($9,4 \times 10^2$) Acetona ($6,4 \times 10^3$)	-	1,26
Tiametoxam	291,7	-	$4,1 \times 10^2$	Acetona ($1,5 \times 10^3$) Metanol (13) Acetato de etila (7,0) Diclorometano (110)	0,40	-0,13
Tiofanato- metílico	342,4	-	18,5	Acetona ($3,0 \times 10^5$)	7,38	1,4

MM= Massa Molar; pKa= constante de acidez; Kow= constante de partição octanol-água; ND= não se dissocia; NE=não encontrado.

A análise das propriedades dos pesticidas é um parâmetro importante pois auxilia na compreensão do comportamento desses compostos nos procedimentos de extração. Dentre as propriedades, tem-se o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) que relaciona a afinidade da molécula com a fase polar (água) e fase apolar (octanol), permitindo caracterizar o composto como hidrofóbico (caso apresente valores elevados e não tenham afinidade com água) ou hidrofílico (com baixos valores de K_{ow} e solúveis em água) [110].

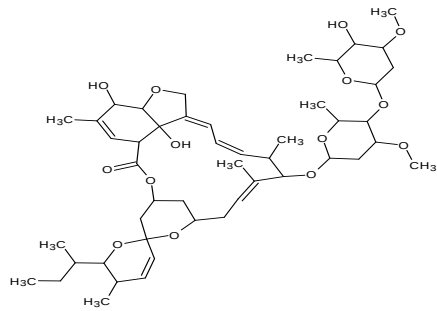
A partir do coeficiente de partição octanol-água é possível agrupar os compostos em não polares que apresentam $\log K_{ow} > 4$ e os compostos polares que apresentam o $\log K_{ow} < 1,5$, enquanto os compostos de polaridade intermediária apresentam $\log K_{ow}$ entre 1,5 e 4 [111].

Considerando tais propriedades observa-se que a maioria dos pesticidas em estudo são hidrofílicos e polares como é o caso do acefato, acetamiprido, clotianidina, dimetoato, imidacloprido, metomil, tiacloprido, tiametoxam e tiofanato metílico. Enquanto os compostos hidrofóbicos e menos polares abrangem a abamectina, bifentrina, difenoconazol, lufenurom, permetrina e teflubenzurom [111, 112]. Além disso, ressalta-se os pesticidas que apresentam polaridade intermediária como é o caso da azoxistrobina, epoxiconazol, flutriafol, malationa e piraclostrobina.

O pKa está relacionado ao caráter ácido do analito e quanto menor o pKa mais forte será o ácido e maior a probabilidade de ser ionizado, pois encontra-se relacionado ao pH do meio [111]. Logo, o valor do pKa de alguns analitos indicam o quão forte é o ácido, com exceção da abamectina, acefato, clotianidina, lufenurom, teflubenzurom e tiofanato-metílico.

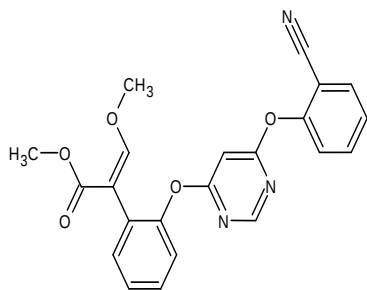
A solubilidade do analito em água busca estabelecer a sua forma de se dissolver em decorrência da presença de água. Além de relacionar com a polaridade do composto de modo que quanto mais solúvel for em água, maior será sua polaridade e quanto menos solúvel for indica seu caráter apolar [111].

Figura 3- Estruturas moleculares, nomes comerciais e científicos dos pesticidas em estudo. Fonte: ANVISA; IUPAC PPDB [51,109].

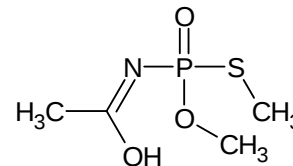


Abamectina:

(1'R,2R,3S,4'S,6S,8'R,10'E,12'S,13'S,14'E,16'E,20'R,21'R,24'S -2-[(2S)-butan-2-il]-21',24'-dihidroxi-12'-[(2R,4S,5S,6S)-5-[(2S,4S,5S,6S)-5-hidroxi-4-methoxi-6-methiloxan-2-il]oxi-4-methoxi-6-methiloxan-2-il]oxy-3,11',13',22'-tetrametilespiro[2,3-dihidropiran-6,6'-3,7,19-trioxatetraciclo[15.6.1.14,8.0.20,24]pentacosa-10,14,16,22-tetraeno]-2'-ona

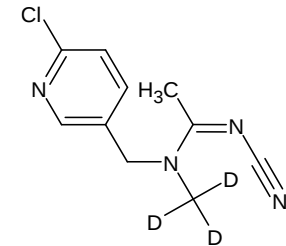


Azoxistrobina: metil (*E*) - 2- [2- [6- (2- cianofenoxi) pirimidin-4-il] oxifenil] -3- metoxiprop-2-enoato

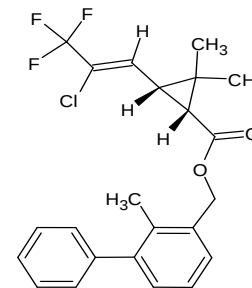


Acefato: N -

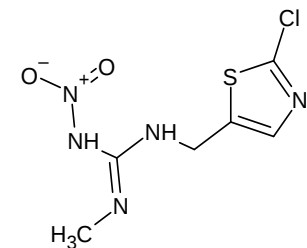
[metoxi(metilsulfanil)fosforil]acetamida



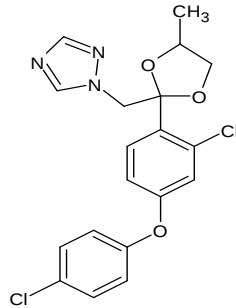
Acetamiprido: N-[(6-cloropiridin-3-il) metil]- N'-ciano-N-metiletanimidamida



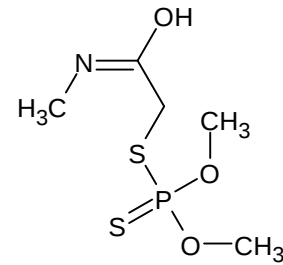
Bifentrina: (1R, 3R)-3-[(Z)-2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil]-2,2-dimetilciclopropano-1-carboxilato de (2-metil-3-fenilfenil)metil



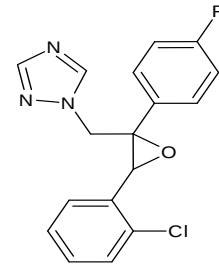
Clotianidina: 1-[(2-cloro-1,3-tiazol-5-il)metil]-3-metil-2-nitroguanidina



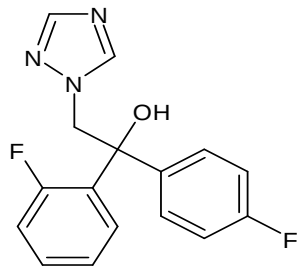
Difenoconazol: 1-[2-[2-cloro-4-(4-clorofenoxi)fenil]-4-metil-1,3-dioxolan-2-il]metil]-1,2,4-triazol



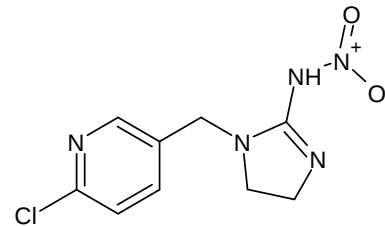
Dimetoato: dimetoxifosfinotioilsulfanil-N-metilacetamida



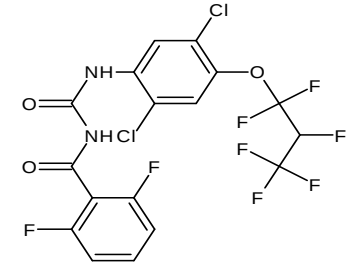
Epoxiconazol: 1-[3-(2-clorofenil)-2-(4-fluorofenil)oxiran-2-il]metil]-1,2,4-triazol



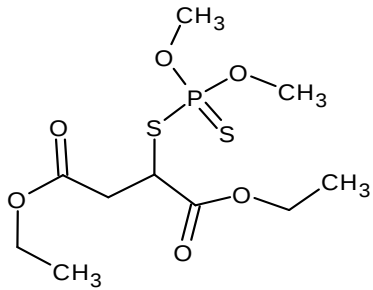
Flutriafol: 1-(2-fluorofenil)-1-(4-fluorofenil)-2-(1,2,4-triazol-1-il)etanol



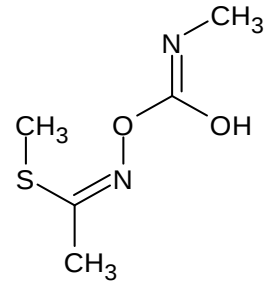
Imidacloprido: (NE)-N-[1-[6-cloropiridin-3-il]metil]imidazolidin-2-ilideno]nitramida



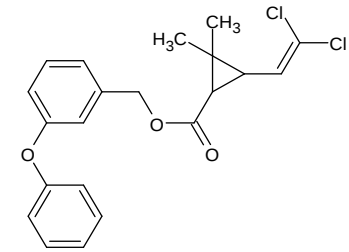
Lufenuron: N-[2,5-dicloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)fenil]carbamoil]-2,6-difluorobenzamida



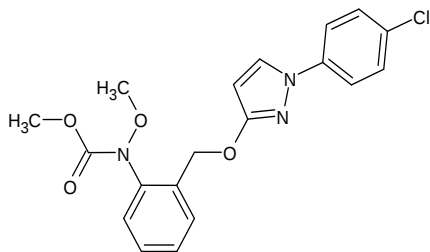
Malationa: dietil 2-dimetoxifosfinotioilsulfanilbutanodioato



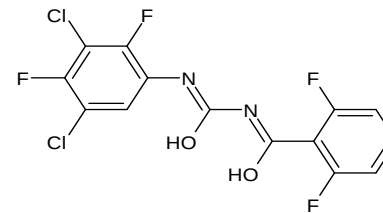
Metomil:N-(metilcarbamoiloxi)etanimidotioato de metila



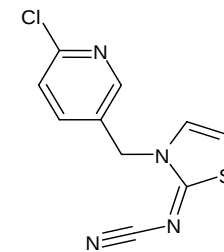
Permetrina: (3-fenoxifenil)metil 3-(2,2-dicloroetenil)-2,2-dimetilciclopropano-1-carboxilato



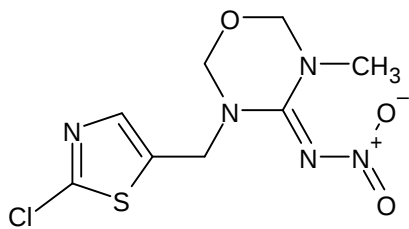
Piraclostrobina: N-[2-[[1-(4-clorofenil)pirazol-3-il]oximetil]fenil]-N-metoxicarbamato de metila



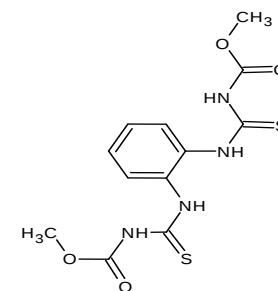
Teflubenzurom: N-[(3,5-dicloro-2,4-difluorofenil)carbamoil]-2,6-difluorobenzamida



Tiacloprido: [3-[(6-cloropiridin-3-il)metil]-1,3-tiazolidin-2-ilideno]cianamida



Tiametoxam:(N E) - *N* - [3 - [(2-cloro-1,3-tiazol-5-il) metil] - 5-metil-1,3,5-oxadiazinan-4-ilideno] nitramida



Tiofanato metílico: metil *N* - [[2-(metoxycarbonilcarbamotioilamin o) fenil] carbamotioil] carbamato

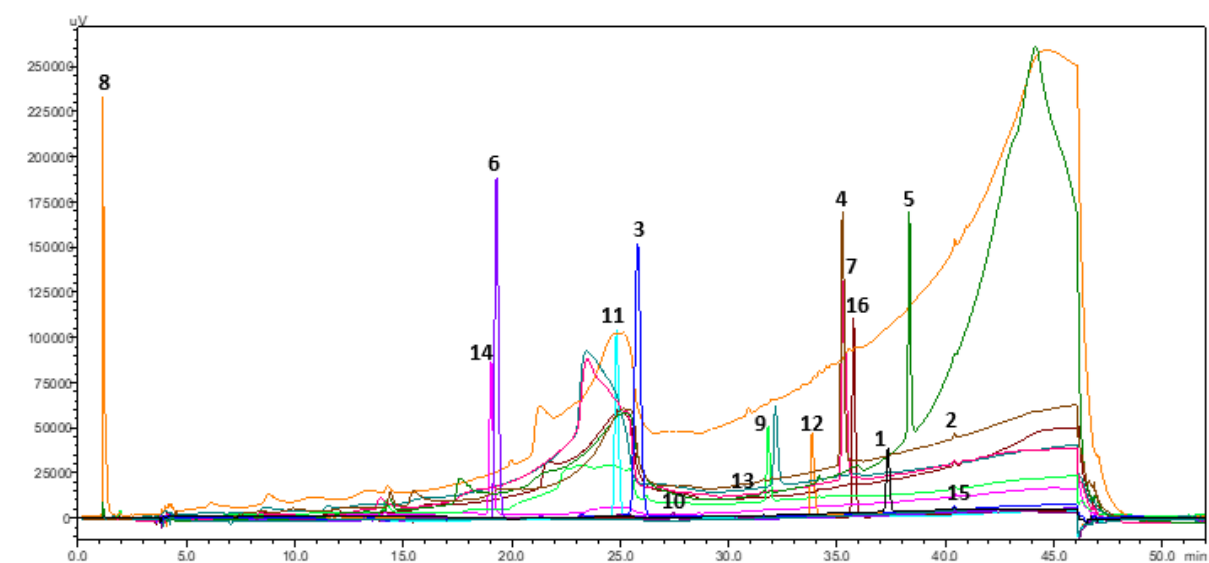
Para o desenvolvimento do método deste trabalho por μ -MSPD e HPLC DAD/UV-Vis, inicialmente foram otimizadas as condições instrumentais para análise simultânea dos pesticidas selecionados, seguido dos experimentos de preparo de amostra para extração dos pesticidas nos alimentos para bebês a base de frutas.

5.2. Otimização das condições instrumentais de análise

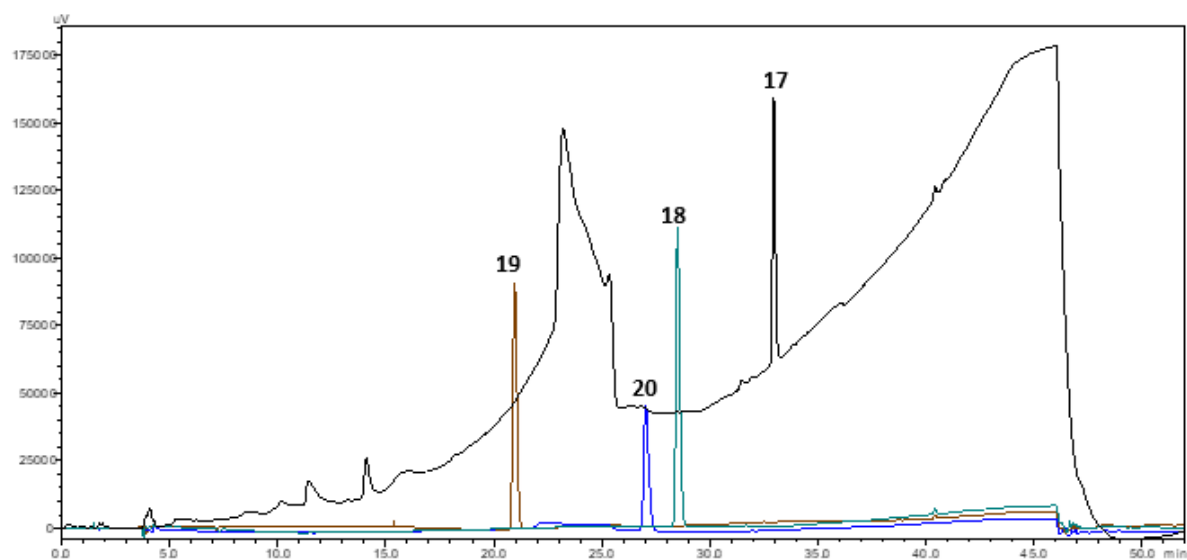
Na otimização do método instrumental de análise, inicialmente foram avaliados os solventes água (A) e acetonitrila (B), além de água (A) e metanol (B) para composição da fase móvel. As condições avaliadas mostraram que ao utilizar o metanol, os sinais dos analitos apresentaram áreas mais elevadas em relação a utilização da acetonitrila. Colunas cromatográficas com diferentes fases estacionárias como a Shim-pack UC-X RP CN (150 mm x 2,1 mm, 3 μ m), Shim-pack UC-X RP C18 (150 mm x 2.1 mm, 3 μ m), Shim-pack UC-X RP fenil (250 mm x 4,6 mm, 3 μ m) e Shim-Pack UC-X RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m) foram avaliadas ao utilizar um gradiente exploratório de 5 – 100 % de B em 60 minutos para separação dos analitos.

Ao utilizar a coluna com a fase estacionária ciano, a maior parte dos analitos não foram eluídos da coluna cromatográfica, o que pode estar relacionado a interação dos analitos com a fase estacionária. As melhores condições de análise foram ao utilizar a coluna com fase estacionária fenil e C18, conforme a Figura 4 (A e B) e Figura 5 (A e B) apresentam o perfil de separação.

Figura 4: Cromatogramas obtidos ao utilizar a coluna cromatográfica Shim-pack UC-X RP fenil (250 mm x 4,6 mm, 3 μ m). Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 5 – 100 % B com tempo de análise em 60 minutos.



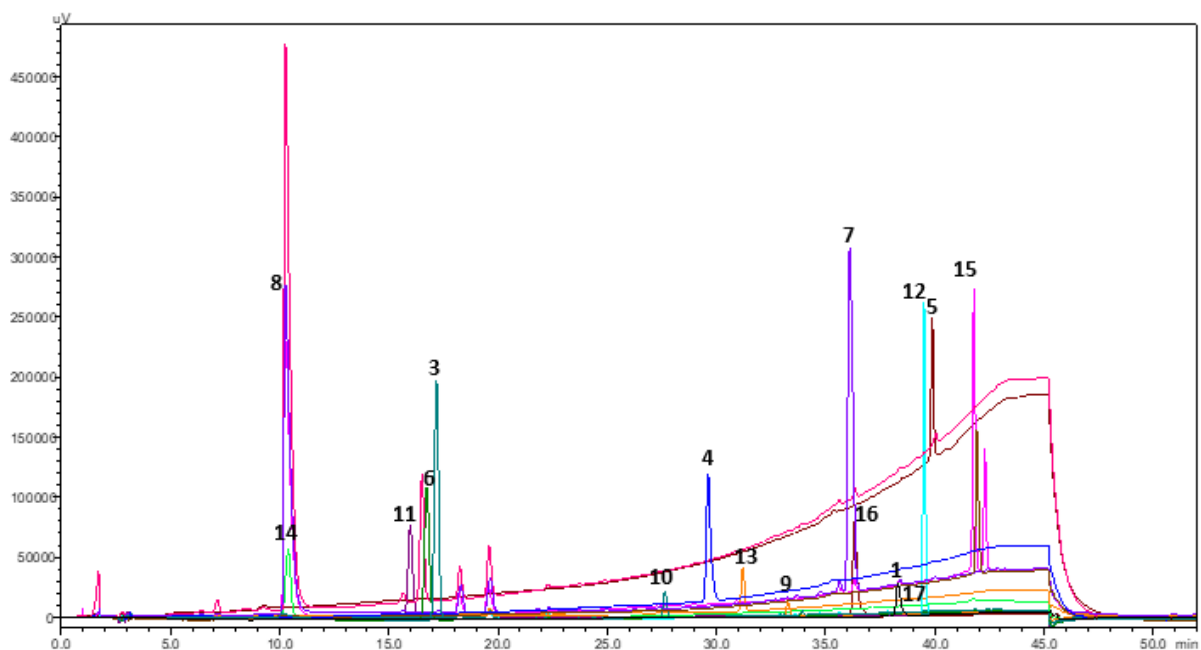
(A)



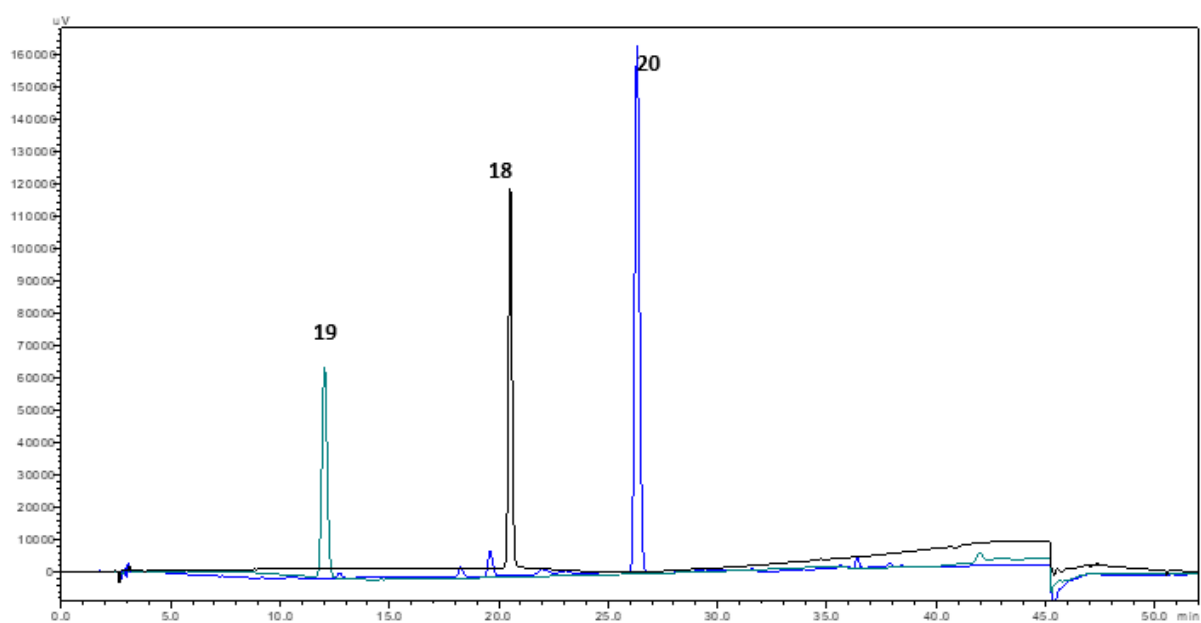
(B)

1-Abamectina, 2-acefato, 3-acetamiprido, 4-azoxistrobina, 5-bifentrina, 6-clotianidina, 7-difenoconazol, 8-dimetoato, 9-epoxiconazol, 10-flutriafol, 11-imidacloprido, 12-lufenurom, 13-malationa, 14-metomil, 15-permetrina, 16-piraclostrobina, 17-teflubenzurom, 18-tiacloprido, 19-tiametoxam, 20-tiofanato-metílico.

Figura 5: Cromatogramas obtidos ao utilizar a coluna cromatográfica Shim-Pack UC-X RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm). Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 5 – 100 % B com tempo de análise em 60 minutos.



(A)



(B)

1-Abamectina, 2-acefato, 3-acetamiprido, 4-azoxistrobina, 5-bifentrina, 6-clotianidina, 7-difenoconazol, 8-dimetoato, 9-epoxiconazol, 10-flutriafol, 11-imidacloprido, 12-lufenurom, 13-malationa, 14-metomil, 15-permetrina, 16-piraclostrobina, 17-teflubenzurom, 18-tiacloprido, 19-tiametoxam, 20-tiofanato-metílico.

No entanto, foi possível observar que as melhores condições de análise para separação dos analitos foi ao utilizar a coluna cromatográfica com fase estacionária C18, mas com necessidade em otimizar o gradiente para melhor separação dos analitos que coeluíram ou eluíram em tempo de retenção bem próximo. A coluna avaliada para desenvolvimento das condições de trabalho foi a Shim-Pack UC-X RP com fase estacionária C18, caracterizada por apresentar um grupo funcional polar entre a sílica e o grupo C18, permitindo ser utilizada para análise de amostras que contém compostos com abrangente intervalo de polaridade [91,113].

Soluções individuais dos 20 pesticidas (abamectina, acefato, acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, clotianidina, difenoconazol, dimetoato, epoxiconazol, flutriafol, imidacloprido, lufenuron, malationa, metomil, permetrina, piraclostrobina, tefluzenzurom, tiacloprido, tiametoxam e tiofanato-metílico) foram preparadas na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e uma solução conjunta com concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi analisada no HPLC DAD/UV-Vis.

Inicialmente foi realizada uma análise exploratória a partir da eluição em modo gradiente variando o percentual de solvente orgânico (5 a 100%) na composição da fase móvel constituída pela mistura metanol: água. O metanol foi escolhido devido apresentar maior força de eluição e menor custo em relação a acetonitrila, além dos analitos serem solúveis nesse solvente, sendo adequado para utilizar na cromatografia em fase reversa, em que a fase estacionária é menos polar que a fase móvel [114-116].

Para a vazão da fase móvel foi utilizada a condição de 1 mL min^{-1} , devido ao tamanho da coluna cromatográfica e, dessa forma, garantir eluição dos analitos da coluna, permitindo a separação. Uma coluna menor como a Shim-Pack UC-X RP C18 $3 \mu\text{m}$ ($150 \times 2,1 \text{ mm}$) foi avaliada, mas o limite máximo de pressão do sistema foi alcançado (350 kgf cm^{-2}), de modo que o equipamento ficava instável e desligava. Logo, foi necessário substituir essa por uma coluna Shim-Pack UC-X RP C18 $5 \mu\text{m}$ ($250 \times 4,6 \text{ mm}$) com maior diâmetro e tamanho de partícula.

A partir da análise exploratória foi possível avaliar o tempo de retenção, assim como o comprimento de onda máximo para cada analito [$\lambda_{\text{máx.}}$ (nm)], conforme é apresentado na Tabela 6.

Em seguida, buscou-se otimizar as condições instrumentais de modo a aumentar a proporção de solvente orgânico (Verificar as condições instrumentais na seção 4.10) e assim, diminuir o tempo de retenção dos analitos. Nessa etapa, foi calculada a proporção de metanol necessário para eluir o primeiro e último analito e, posteriormente, avaliada a taxa de variação do gradiente que seria adequada para separação dos analitos em estudo.

Para otimização do gradiente observou-se o analito que apresentou o menor tempo de retenção, ou seja, que eluiu primeiro da coluna cromatográfica (tiametoxam), logo foi calculado o percentual de solvente orgânico necessário, obtendo o resultado de 42,39 % de metanol para eluição desse analito, o que permitiu iniciar o gradiente com uma porcentagem em 35 % de metanol.

Em seguida, verificou-se que o último analito necessitava de 95,07 % de solvente orgânico para eluição e, optou-se por finalizar o gradiente em 100 % garantindo o tempo necessário para retorno das condições iniciais e concluindo a corrida cromatográfica em um tempo de 52 minutos, em que tal condição permitia a separação dos analitos nessa faixa de análise. As condições instrumentais de análise e o gradiente estabelecido constam na seção 4.10.

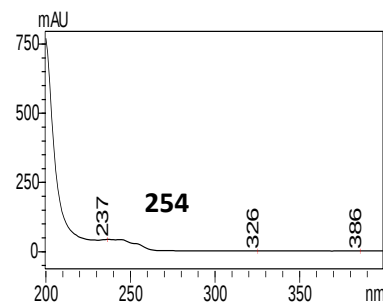
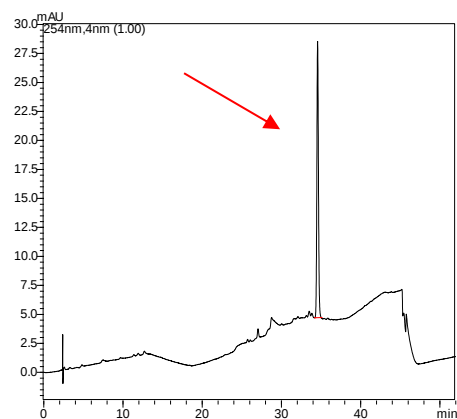
Tabela 6: Tempos de retenção e comprimentos de onda de absorção máxima dos padrões de pesticidas avaliados.

Pesticida	Tempo de retenção (min)	Tempo de retenção (após otimização)	λ máx. (nm)
Tiametoxam	10,63	4,87	252
Imidacloprido	16,03	6,93	269
Metomil	11,99	7,46	234
Acetamiprido	14,00	7,46	246
Tiacloprido	20,06	7,46	243
Dimetoato	34,63	7,47	210
Clotianidina	16,72	7,56	250
Tiofanato - metílico	26,20	16,80	265
Flutriafol	24,00	18,40	263
Azoxistrobina	27,00	21,38	216
Malationa	27,50	23,50	228
Epoxiconazol	30,00	26,37	220
Acefato	27,56	27,06	250
Difenoconazol	36,11	30,61	220
Piraclostrobina	33,00	31,14	273
Teflubenzuron	39,86	33,15	211
Abamectina	38,34	34,56	254
Lufenurom	39,44	36,29	253
Permetrina	41,72	38,17	220
Bifentrina	40,00	39,90	220

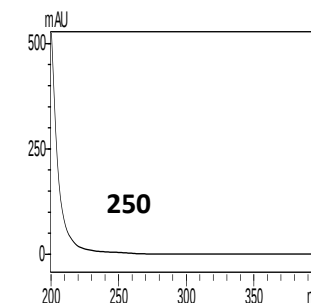
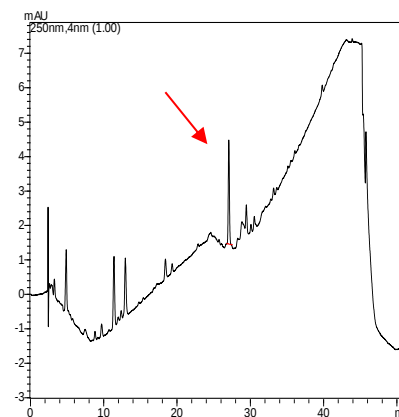
A Figura 6 apresenta os cromatogramas obtidos para cada analito, assim como os espectros de absorção molecular mostram o $\lambda_{\text{máx.}}$ (nm) selecionado com base na absorção de intensidade máxima de sinal para cada analito, enquanto a Figura 7 apresenta o perfil de separação dos analitos antes e após a etapa de ajuste do método nas condições do tópico 4.10.

Figura 6: Cromatogramas obtidos no HPLC DAD/UV-Vis e espectros de absorção máxima para cada analito em estudo.

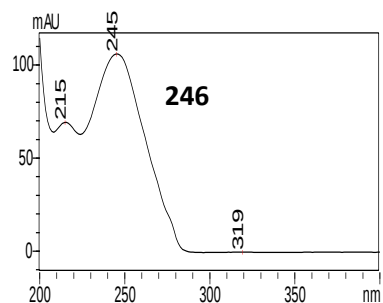
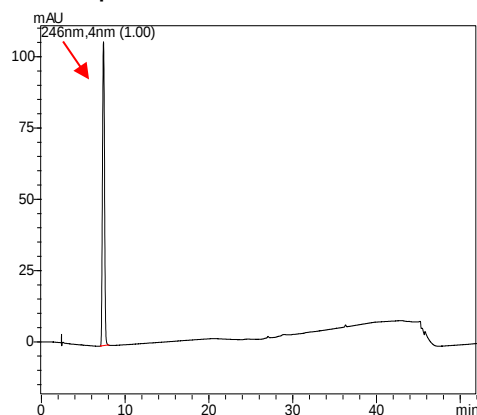
Abamectina



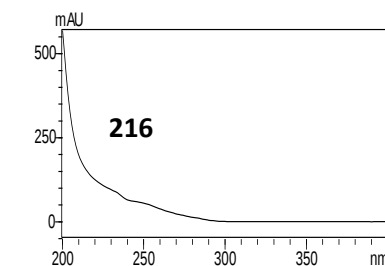
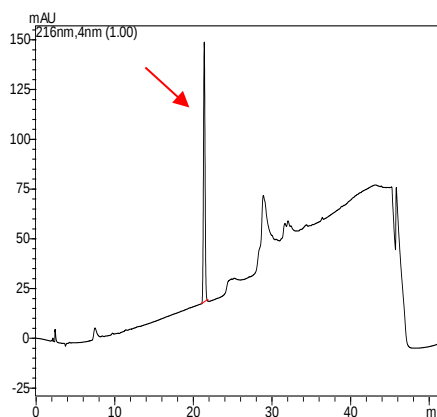
Acefato



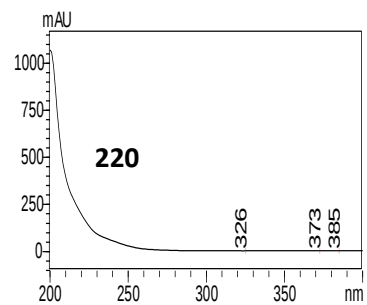
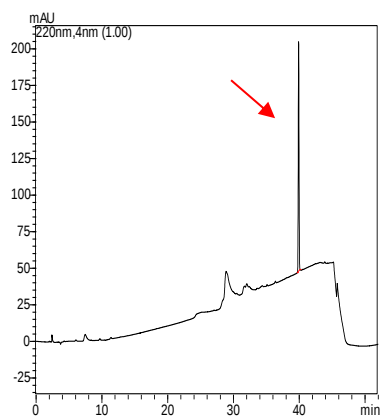
Acetamiprido



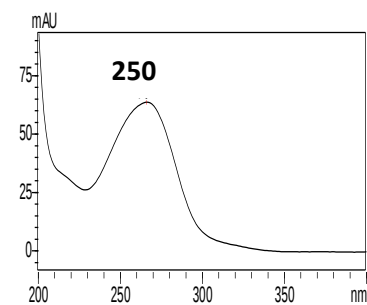
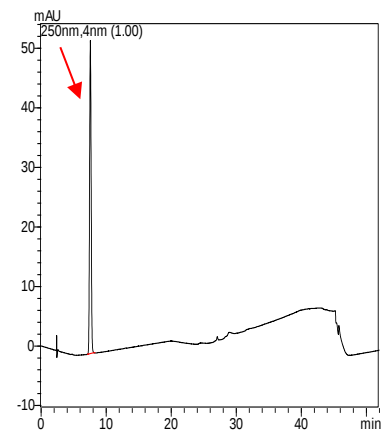
Azoxistrobina



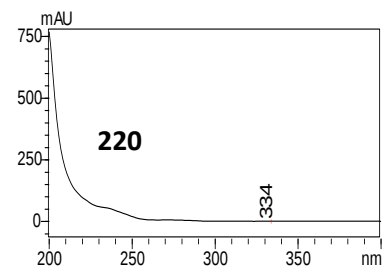
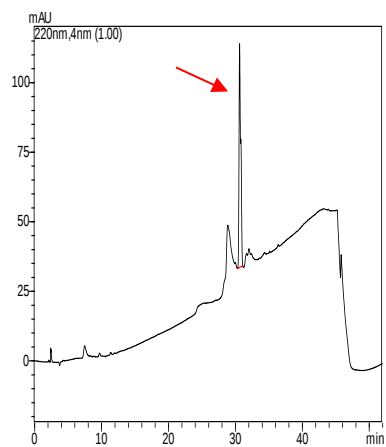
Bifentrina



Clotianidina



Difenoconazol



Dimetoato

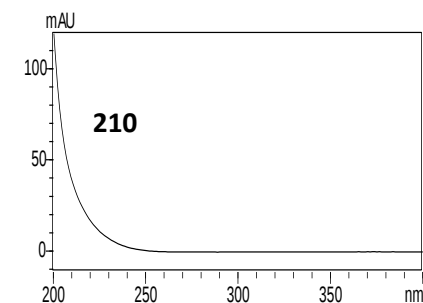
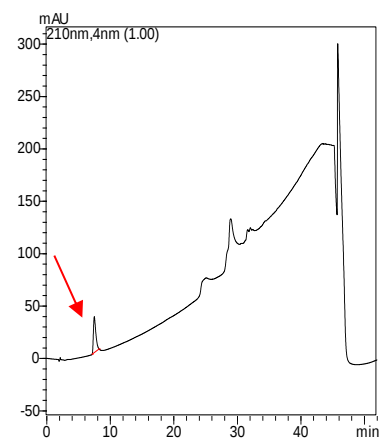
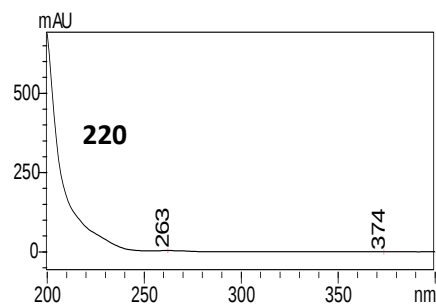
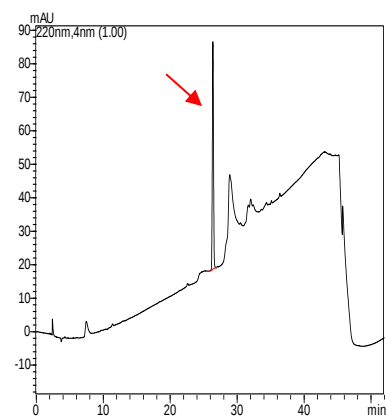
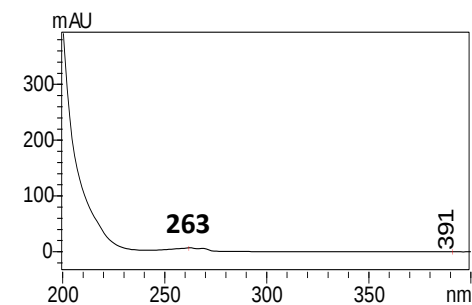
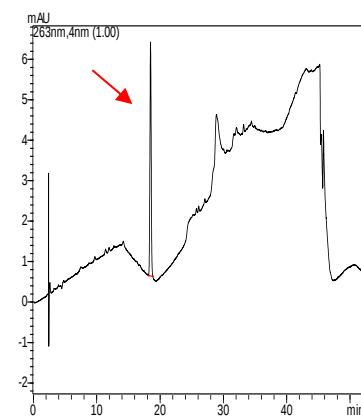


Figura 6: Continuação

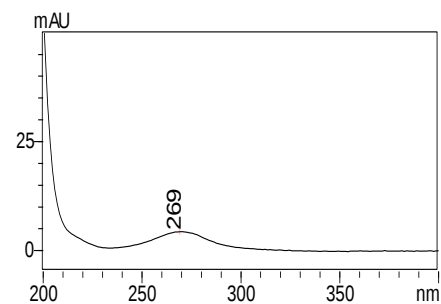
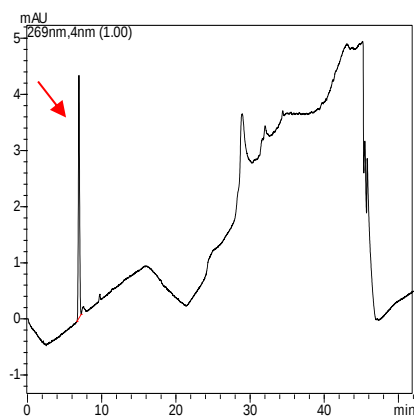
Epoxiconazol



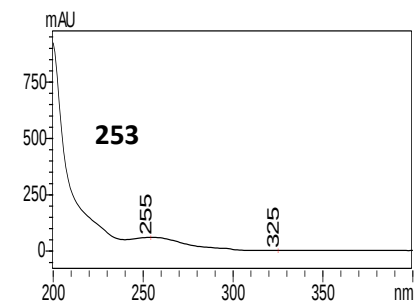
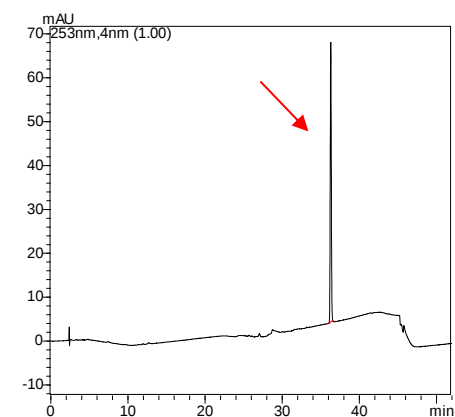
Flutriafol



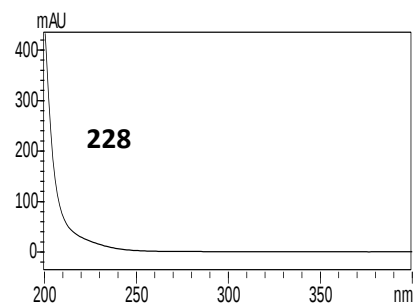
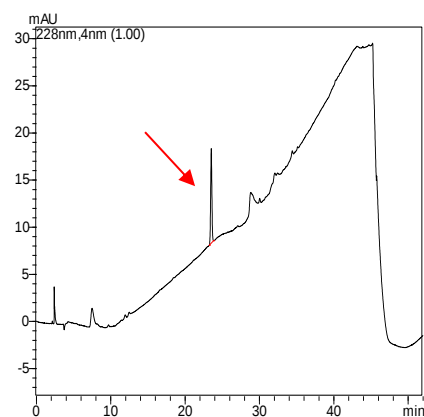
Imidacloprido



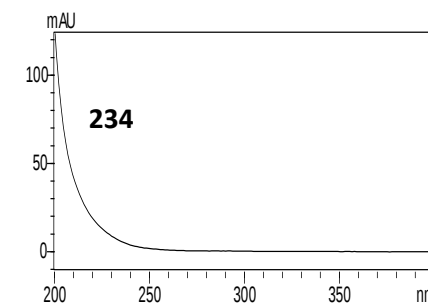
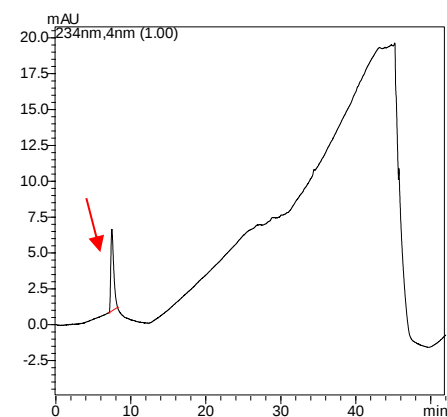
Lufenurom



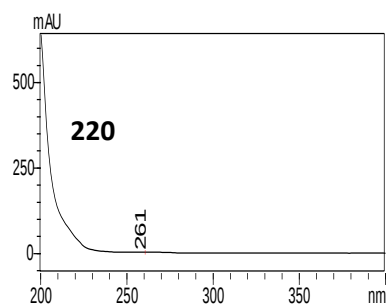
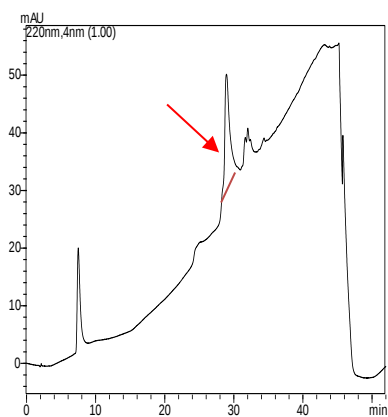
Malationa



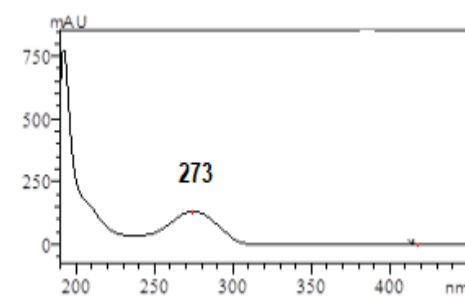
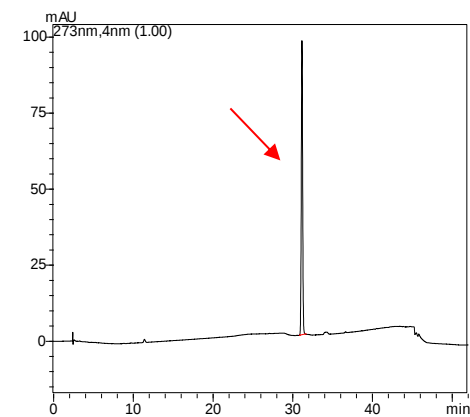
Metomil



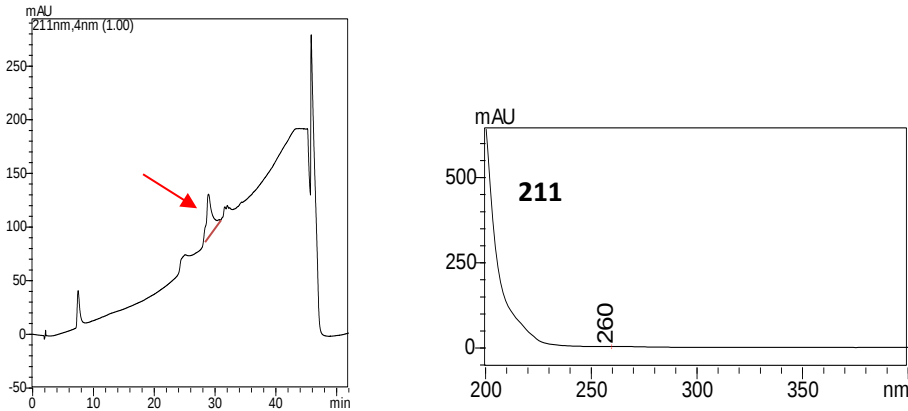
Permetrina



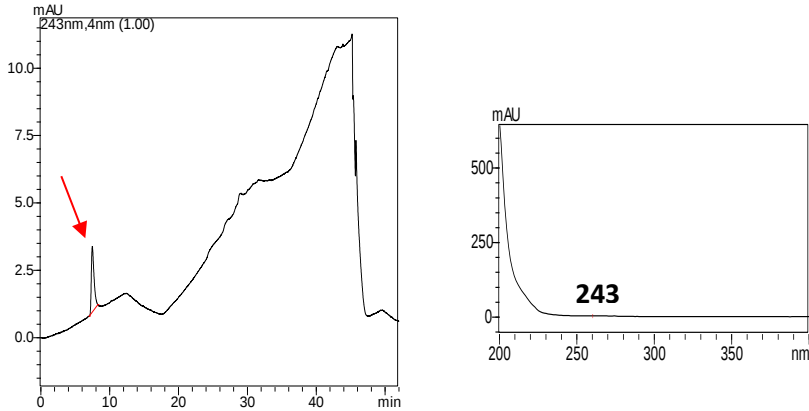
Piraclostrobina



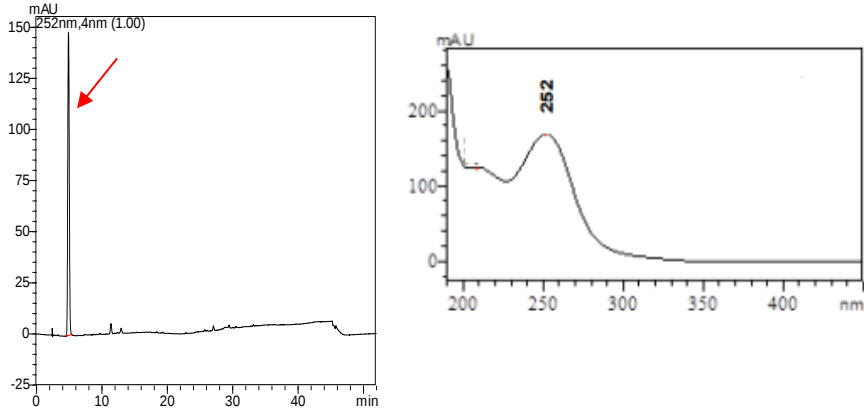
Teflubenzurom



Tiacloprido



Tiametoxam



Tiofanato – Metílico

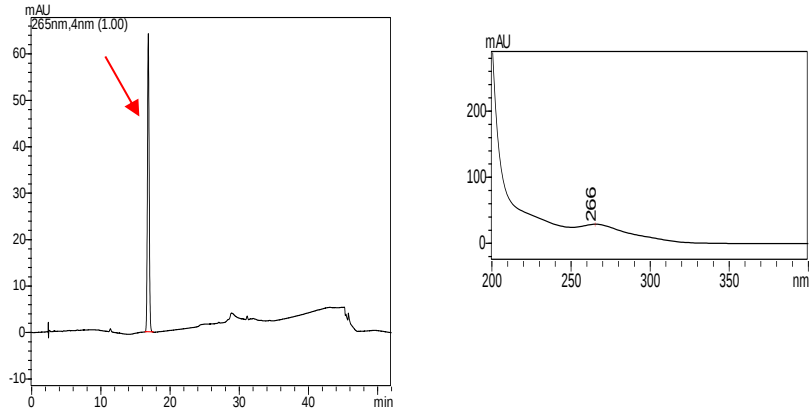
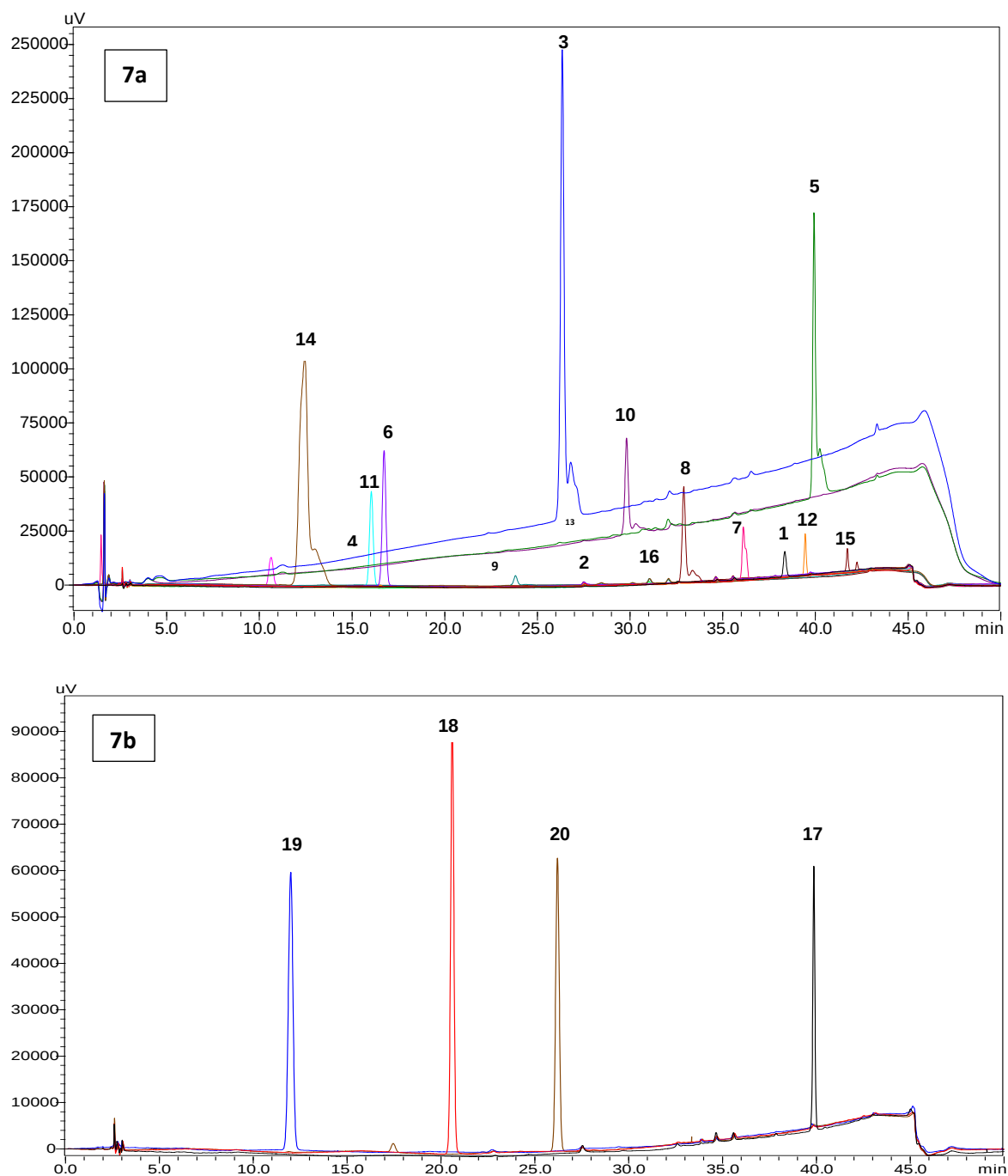
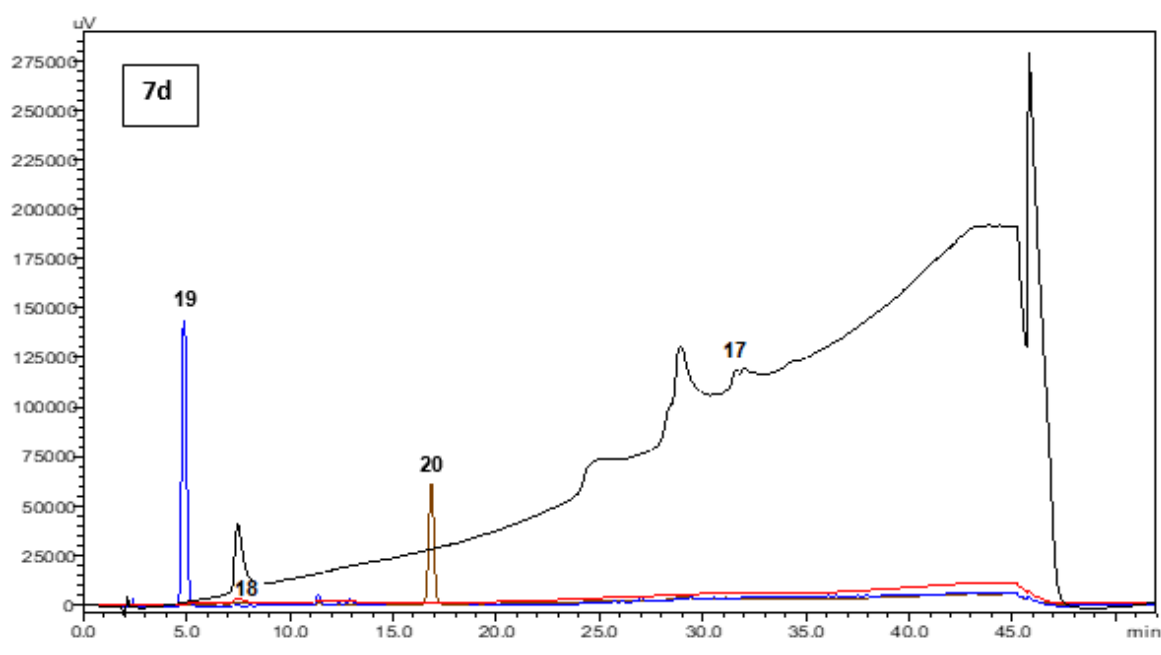
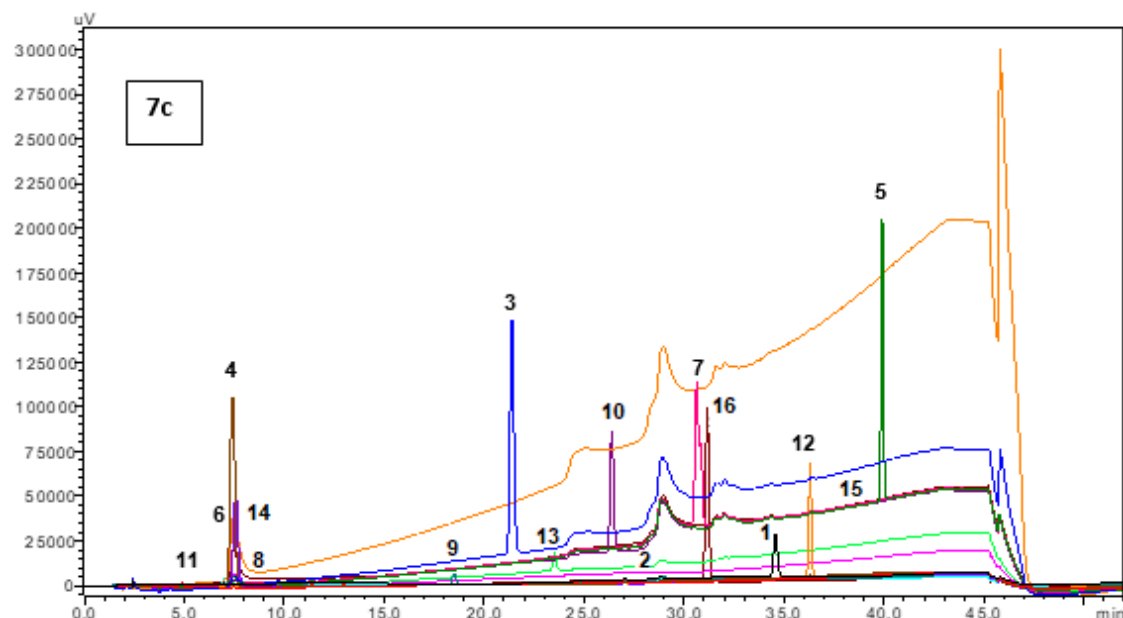


Figura 7: Cromatogramas apresentando o perfil de separação dos analitos na análise exploratória (7a, 7b) e após otimização das condições instrumentais (7c, 7d). Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 5 – 100 % B com tempo de análise em 60 minutos (7a, 7b) e gradiente 35 – 100 % B em 52 min (7c, 7d).



1-Abamectina; 2- Acefato; 3- Azoxistrobina; 4- Acetamiprido; 5- Bifentrina; 6- Clotianidina; 7- Difenconazol; 8- Dimetoato; 9- Flutriafol; 10- Epoxiconazol; 11- Imidacloprido; 12- Lufenurum; 13- Malationa; 14- Metomil; 15- Permetrina; 16- Piraclostrobina; 17- Teflubenzurom; 18- Tiacloprido; 19- Tiametoxam; 20- Tiofanato-metílico.



1-Abamectina; 2- Acefato; 3- Azoxistrobina; 4- Acetamiprido; 5-Bifentrina; 6- Clotianidina; 7- Difenconazol; 8- Dimetoato; 9- Flutriafol; 10- Epoxiconazol; 11- Imidacloprido; 12- Lufenurum; 13- Malationa; 14- Metomil; 15- Permetrina; 16- Piraclostrobina; 17- Teflubenzurom; 18- Tiacloprido; 19- Tiametoxam; 20- Tiofanato-metílico.

Logo, os cromatogramas apresentados na Figura 7 (7a, 7b) e (7c, 7d) estão separados devido impossibilidade de realizar a comparação de todos os analitos em um único cromatograma, por limitação do software, mas buscam mostrar que após ajuste no gradiente (7c, 7d), aumentando a porcentagem de solvente orgânico foi possível reduzir o tempo de retenção dos analitos e, ainda foi possível obter bom perfil de separação para maioria dos analitos em estudo. Mesmo após otimização do método instrumental de análise, o acetamiprido, clotianidina, dimetoato, metomil e tiacloprido foram eluídos em tempo de retenção próximos, logo buscou-se avaliar outras propostas de gradiente, conforme consta na Tabela 7.

Tabela 7: Gradientes avaliados no HPLC DAD/UV-Vis

Gradiente 1	Gradiente 2	Gradiente 3
35%B (0,01 min)	35%B (0,01 min)	35%B (0,01 min)
100%B (40,0 min)	100%B (30,0 min)	70%B (40,0 min)
100%B (12,0 min)	100%B (12,0 min)	100%B (2,0 min)
35%B (2,0 min)	35%B (2,0 min)	100%B (4,0 min)
35%B (16,0 min)	35%B (12,0 min)	35%B (8,0 min)

Ao avaliar as três propostas de gradiente apresentadas na Tabela 7, os resultados não foram satisfatórios e optou-se por continuar com a condição de 35 – 100 % de solvente orgânico com análise em 52 min. Com base nos espectros de absorção, foram selecionados os comprimentos de onda para cada analito.

5.3. Desenvolvimento do método por μ -MSPD

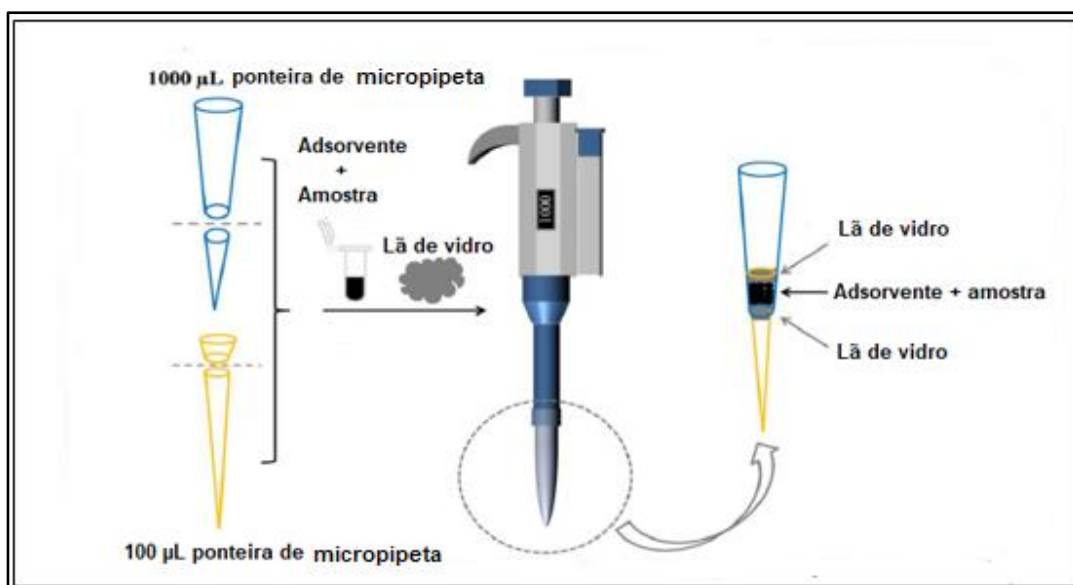
A proposta de desenvolvimento do método de extração com a μ -MSPD utilizando de ponteiras de micropipeta buscou minimizar o custo, utilizar menores quantidades de reagentes e reduzir as etapas do processo de extração, já que ao substituir os cartuchos que são comumente utilizados na MSPD por ponteiras, permitiu reduzir volumes e eliminou a necessidade de utilizar um sistema à vácuo para acelerar o processo de eluição dos analitos. Por conseguinte, a montagem das ponteiras com amostra e material adsorvente é realizada mais rapidamente que montar cartuchos

para o processo de extração por permitir formação de coluna com menor quantidade de material.

A proposta da μ -MSPD envolve alguns parâmetros que são cruciais para melhor extração dos analitos. Dentre esses parâmetros, a escolha do tipo, quantidade e proporções de adsorvente e amostra para obtenção de um pó homogêneo devem ser avaliados, assim como solvente de eluição para as melhores condições de extração. Na escolha do adsorvente e solvente de eluição adequados é levado em consideração as propriedades dos analitos, natureza da matriz, assim como interferentes que devem ser eliminados. No caso de alimentos para bebês a base de frutas, a água é o principal componente e sua presença pode interferir na recuperação dos analitos, enquanto os alimentos para bebês a base de carne, a gordura presente é um dos potenciais interferentes que também pode interferir nos resultados do método de extração [28,29,117].

Foram realizados os testes para verificar a quantidade de material necessário para obtenção de um pó homogêneo e que seria suficiente para formar uma coluna com o homogeneizado em uma ponteira com capacidade de 1000 μ L. A condição da ponteira de micropipeta utilizada neste trabalho é uma adaptação dos estudos de Sun *et al.* (2022) [118], conforme Figura 8, em que a parte superior da ponteira de micropipeta de 100 μ L é cortada, juntamente com a ponta da micropipeta de 1000 μ L, de modo que as duas fiquem conectadas entre si e, posteriormente, o material adsorvente com a amostra ficarão embalados na ponteira de 100 μ L para posterior passagem do solvente e extração dos analitos. Contudo, neste trabalho o método proposto procurou avaliar a não adaptação das ponteiras, a fim de reduzir o tempo de montagem do experimento. Inicialmente, foram avaliados diferentes adsorventes, solvente de eluição e volume, conforme procedimento de extração apresentado no Tópico 2.4. Os parâmetros da condição final da otimização estão descritos no Tópico 4.8.

Figura 8: Esquema ilustrativo de suporte para μ -MSPD



Fonte: Adaptado de Sun *et al.* (2022) [118].

5.3.1. Seleção do adsorvente

A seleção do adsorvente é um parâmetro essencial de otimização ao trabalhar com a MSPD. A retenção dos analitos pelo material adsorvente é resultante de forças atrativas envolvidas como ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e forças Van der Waals entre as ligações dos analitos com material adsorvente [77].

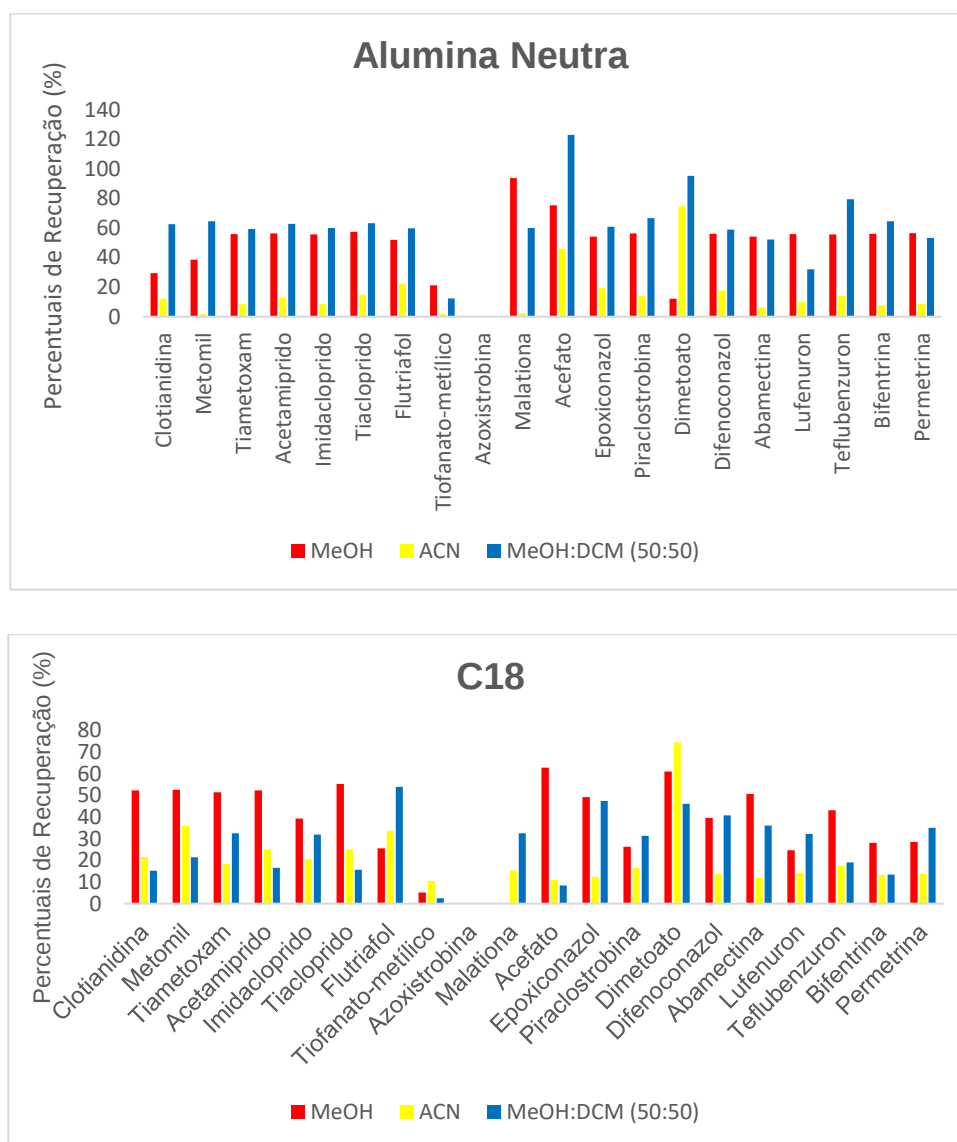
Para escolha do adsorvente mais adequado para tais analitos, foram avaliados os percentuais de recuperação, verificando que material adsorvente apresentava melhor capacidade de interação com os analitos, no qual juntamente com o solvente de eluição adequado permitiria que os analitos fossem extraídos, apresentando resultados de recuperação na faixa entre 70 – 120 % com desvio padrão ≤ 20 % [119]. Esses resultados foram obtidos a partir da quantificação das áreas integradas dos picos cromatográficos dos extratos fortificados e dos picos da solução comparação através do cálculo com base na equação (1).

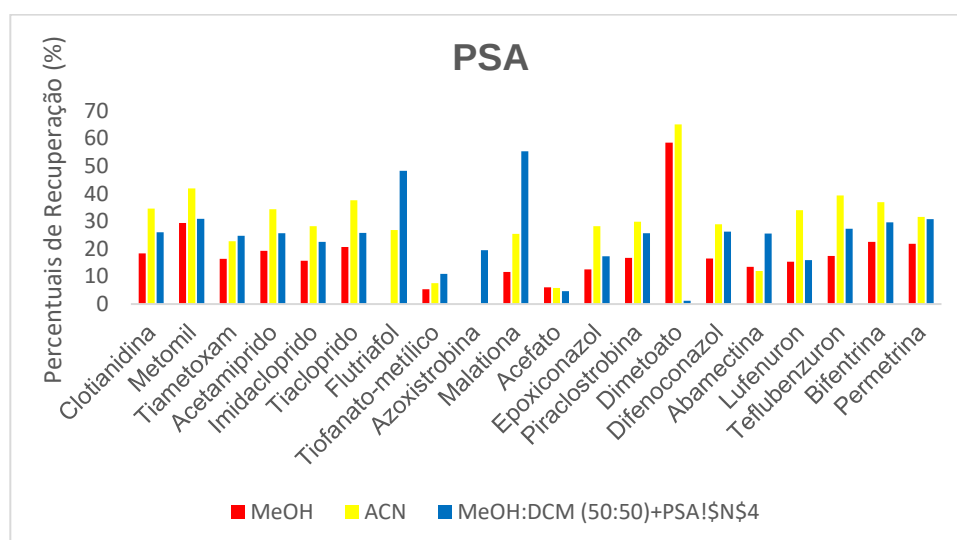
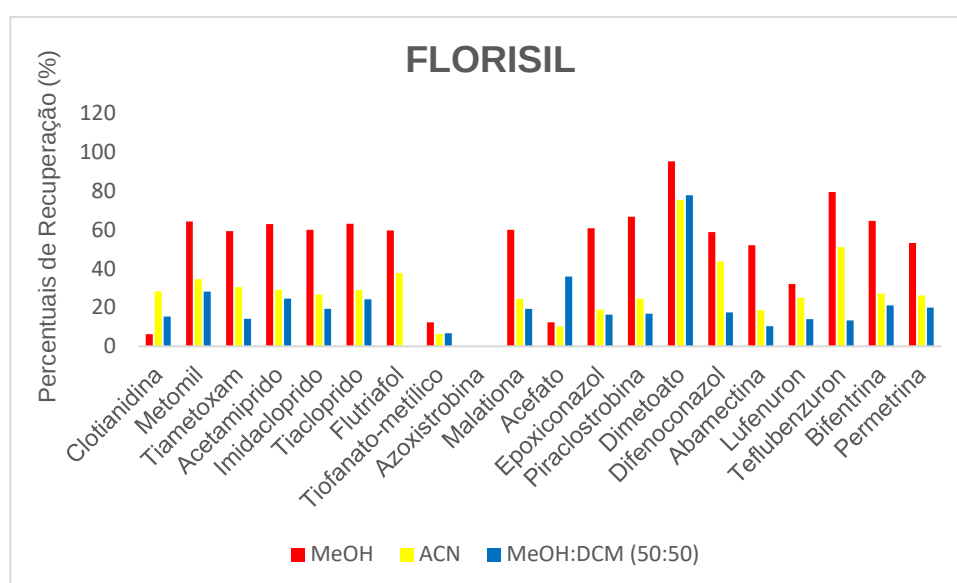
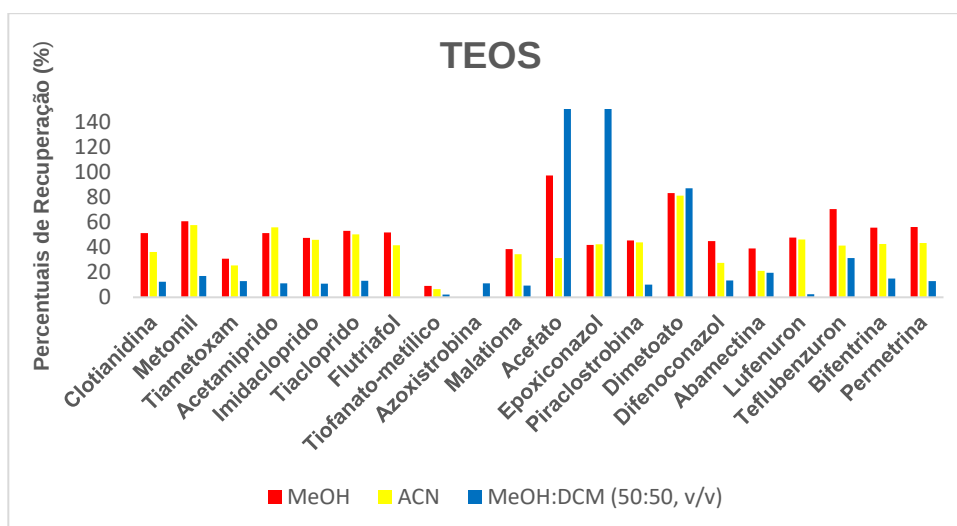
$$(1) \quad \text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{Área do extrato}}{\text{Área da solução comparação}} \times 100$$

Ressalta-se que a área do sinal no extrato é obtida através do resultado referente a fortificação da amostra antes do processo de extração, enquanto a área da solução comparação corresponde ao extrato que foi fortificado após o processo de extração.

Os testes de recuperação foram realizados com os adsorventes comerciais alumina neutra, florisil, sílica gel, amina primária-secundária (PSA), C18 e TEOS. Ressalta-se que os adsorventes não foram submetidos a nenhum tratamento antes do uso e os testes foram realizados avaliando para cada adsorvente os solventes de eluição metanol e acetonitrila, devido a polaridade, força eluente e compatibilidade com a fase móvel, além da mistura dos solventes metanol:diclorometano (MeOH/DCM 50:50, v/v) por ter um solvente de polaridade intermediária. Para os testes de otimização, foram utilizadas ponteiros de micropipeta contendo a mistura de 40 mg de alimentos para bebês a base de frutas e 40 mg de adsorvente utilizando um nível de fortificação de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ com o volume de 1000 μL de solvente extrator. As Figuras 9 apresentam os gráficos indicando os percentuais de recuperação obtidos nos estudos com os diferentes adsorventes e solventes de eluição, enquanto a Tabela 8 apresenta os valores dos percentuais de recuperação para cada condição avaliada.

Figura 9- Percentuais de recuperação dos adsorventes para os diferentes solventes de eluição avaliados. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.





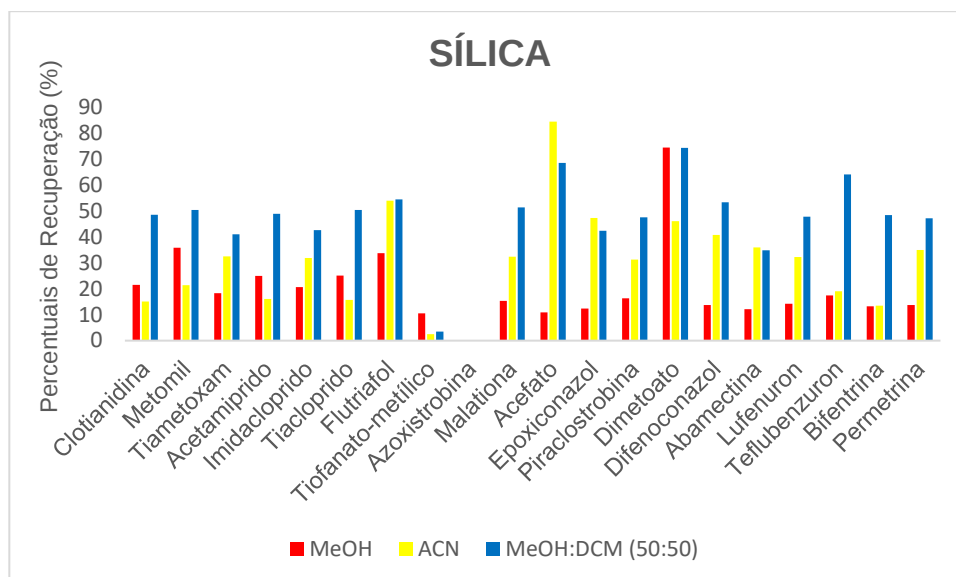


Tabela 8: Percentuais de recuperação para cada analito nas condições avaliada (%).

ANALITO	TEOS			ALUMINA NEUTRA			C18		
Clotianidina	51,3±4	36,1±5	12,5±6	29,4±5	12,2±6	49,6±3	52,3±3	21,6±5	15,1±6
Metomil	60,6±5	57,6±4	17,1±6	38,5±5	1,7±6	55,1±4	52,6±3	35,9±4	21,4±5
Tiametoxam	30,8±2	25,3±5	12,9±6	55,9±4	8,4±6	50,5±4	51,5±2	18,4±6	32,6±2
Acetamiprido	51,3±7	55,8±5	11,1±5	56,3±4	12,8±5	49,3±6	52,3±3	24,9±4	16,1±5
Imidacloprido	47,5±3	45,8±3	10,9±5	55,6±4	8,4±7	49,4±6	39,4±4	20,6±5	31,9±4
Tiacloprido	53,0±2	50,3±2	13,1±4	57,3±3	14,9±4	50,2±4	55,3±4	25,1±2	15,7±6
Flutriafol	51,7±2	41,6±6	0	52,0±4	22,4±5	43,3±4	25,5±2	33,7±4	53,9±4
Tiofanato-metílico	9,0±6	6,4±6	2,2±6	21,2±5	1,9±6	21,8±5	5,2±6	10,5±5	2,5±5
Azoxistrobina	0	0	11,2±5	0	0	53,7±4	0	0	0
Malationa	38,5±4	34,5±4	9,3±7	93,7±2	2,4±6	39,4±4	0	15,4±6	32,4±2
Acefato	97,4±2	31,3±2	91,5±2	75,3±2	67,3±5	123,2±2	62,8±3	108,5±3	84,6±2
Epoxiconazol	41,8±6	42,4±6	52,3±4	54,1±4	19,2±6	38,9±4	49,3±4	12,4±6	47,4±5
Piraclostrobina	45,4±6	43,8±6	10,2±6	56,3±4	13,9±6	55,6±3	26,3±5	16,3±5	31,3±4
Dimetoato	83,2±2	81,3±2	87,1±2	120,6±3	74,6±2	96,2±2	61,1±5	74,5±2	46,1±4
Difenoconazol	44,9±4	27,6±4	13,4±5	56,2±7	17,8±6	54,4±7	39,6±4	13,7±6	40,7±4
Abamectina	39,0±4	20,9±5	19,5±6	54,1±7	6,3±6	59,9±6	50,7±4	12,1±6	36,0±5
Lufenuron	47,7±4	46,0±4	2,5±6	55,9±6	9,7±7	43,2±4	24,7±5	14,3±5	32,2±3
Teflubenzuron	70,4±2	41,3±4	31,2±4	55,6±6	14,0±6	52,2±4	43,2±4	17,4±5	19,1±6
Bifentrina	55,6±4	42,6±6	14,9±6	56,1±6	7,8±6	52,0±3	28,5±5	13,3±6	13,5±4
Permetrina	56,2±3	43,3±4	12,9±6	56,5±5	8,5±7	51,0±3	28,5±4	13,7±6	35,0±6
	MEOH	ACN	MEOH:DCM	MEOH	ACN	MEOH:DCM	MEOH	ACN	MEOH:DCM

Tabela 8: Continuação

ANALITO	FLORISIL				PSA		SÍLICA		
Clotianidina	28,4±5	15,4±5	9,9±7	18,4±9	34,6±6	26,1±6	48,6±7	65,6±5	62,6±7
metomil	34,5±3	28,1±3	15,3±5	29,5±7	41,8±9	30,9±5	50,4±5	65,2±4	64,5±5
tiametoxam	30,5±4	14,2±4	10,9±4	16,4±13	22,7±4	24,7±8	41,0±9	64,6±4	59,3±8
Acetamiprido	29,2±4	24,5±4	9,4±6	19,3±5	34,4±5	25,7±6	48,9±5	60,5±8	62,8±9
Imidacloprido	26,6±4	19,3±5	9,2±5	15,6±6	28,2±7	22,6±3	42,7±8	91,2±5	60,0±5
Tiacloprido	29,1±5	24,2±12	10,2±3	20,7±5	37,6±6	25,8±2	50,5±5	64,1±8	63,2±6
Flutriafol	37,6±6	0	0	0	26,8±4	48,3±7	54,6±8	65,8±6	59,7±8
Tiofanato-metílico	6,4±3	6,7±16	2,5±7	5,4±4	7,5±3	10,9±10	3,5±4	8,7±13	12,4±6
Azoxistrobina	0	0	10,7±6	0	0	19,5±6	0	64,8±6	0
Malationa	24,4±4	19,3±13	8,7±6	11,6±5	25,4±6	55,4±4	51,4±6	57,3±8	60,1±3
Acefato	101,7±2	35,9±7	144,2±4	59,1±6	17,0±9	37,7±6	68,6±3	44,9±5	122,9±2
Epoxiconazol	19,1±8	16,4±8	11,1±9	12,6±6	28,2±5	17,3±5	42,4±8	62,5±6	60,8±6
Piraclostrobina	24,5±2	16,8±11	9,4±6	16,7±4	29,8±7	25,7±3	47,6±5	65,7±7	66,6±6
Dimetoato	75,4±7	77,8±11	43,0±3	58,5±3	65,1±6	114,5±5	74,4±3	94,5±4	95,3±2
Difenoconazol	43,7±2	17,5±7	9,3±2	16,5±4	28,9±4	26,3±6	53,4±6	60,4±6	58,8±8
Abamectina	18,6±7	10,5±7	6,9±6	13,5±6	12,0±6	25,6±7	34,8±7	46,8±8	52,1±5
Lufenuron	25,1±6	14,1±6	2,0±5	15,3±11	34,0±4	15,9±5	47,8±6	68,5±4	32,1±6
Teflubenzuron	51,0±3	13,4±12	31,4±7	17,4±7	39,4±3	27,3±4	64,2±5	39,1±6	79,5±7
Bifentrina	27,3±2	21,1±5	11,1±6	22,5±8	36,1±3	29,6±6	48,5±8	63,3±7	64,6±5
Permetrina	26,2±8	20,0±8	8,8±7	21,9±5	31,6±5	30,8±7	47,2±6	58,9±5	53,2±4
	MEOH	ACN	MEOH:DCM	MEOH	ACN	MEOH:DCM	MEOH	ACN	MEOH:DCM

Analisando os resultados obtidos na Figura 7 e Tabela 8, a não recuperação da azoxistrobina para a maior parte das condições avaliadas pode estar relacionada a presença de grupos em sua estrutura que favorecem ligações de hidrogênio. E, possivelmente, a força de eluição utilizada não foi suficiente para romper as ligações e recuperar os analitos [77,119].

Ao verificar as propriedades dos materiais utilizados como adsorvente do método, o PSA é caracterizado por ser um adsorvente que remove impurezas como ácidos graxos, açúcares e pigmentos polares presentes na matriz alimentar [120]. Florisil adsorve componentes polares em matrizes apolares, enquanto a alumina neutra é um adsorvente adequado para adsorver compostos lipídicos [121]. Os lipídios, proteínas, pigmentos, gorduras, carboidratos e outros componentes presentes na matriz podem ocasionar interferência [122].

Além disso, o PSA, alumina neutra e sílica apresentam características polares e ao trabalhar com compostos polares e de polaridade intermediária, pode resultar em adsorção irreversível em suas superfícies, dificultando a remoção dos analitos de interesse ao utilizar solventes polares como o metanol e acetonitrila que geralmente são utilizados na MSPD por apresentar compatibilidade com a técnica instrumental de análise [91,123].

O fato de obter bons valores de recuperação em presença da sílica nas condições que foram avaliadas pode estar relacionado a sua estrutura homogênea e distribuição uniforme dos sítios de adsorção que permite melhor retenção dos analitos, assim como o fato de utilizar o metanol na etapa de eluição dos analitos foi eficiente para romper as diferentes interações entre os analitos e adsorvente [91].

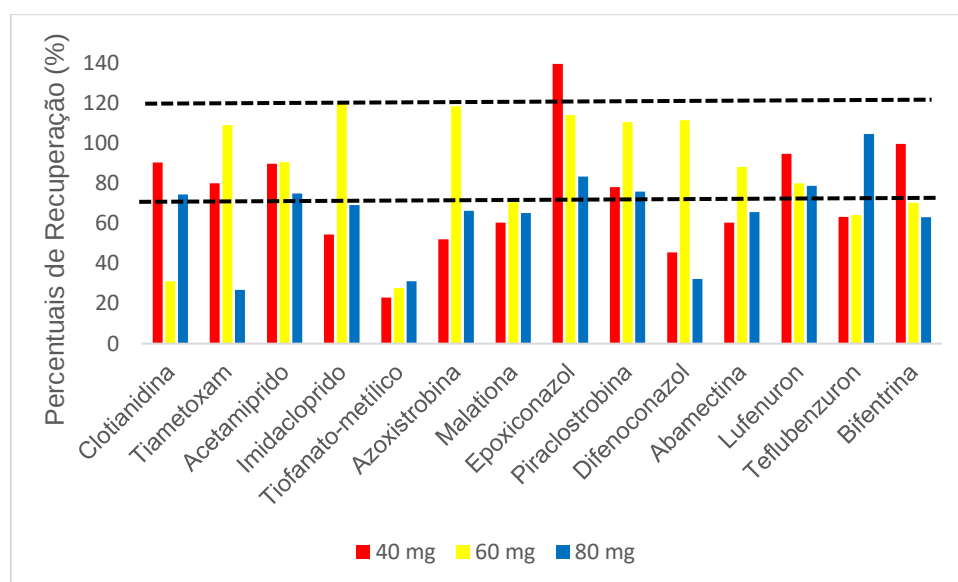
5.3.2. Seleção da quantidade de sílica para material adsorvente

A seleção da quantidade do material adsorvente também é um parâmetro importante que deve ser avaliado, pois a proporção matriz e dispersante afeta a área superficial entre amostra e solvente de eluição, melhorando a eficácia da extração e recuperação dos analitos [124,125].

Foram avaliadas as condições de 40, 60 e 80 mg de sílica como material adsorvente, juntamente com uma quantidade fixada de 40 mg de amostra para

obtenção de um homogeneizado solto. Essas quantidades de adsorvente foram adicionadas a amostra e trituradas em um almofariz por 3 min até a obtenção de um pó solto e homogêneo que foi transferido para uma ponteira de micropipeta, seguido de eluição dos analitos com o solvente orgânico, conforme esquema apresentado anteriormente na Figura 2. A Figura 10 apresenta os percentuais de recuperação para as condições avaliadas, nos quais os testes seguiram com os analitos que melhor apresentaram perfil de separação durante a etapa de otimização das condições instrumentais de análise.

Figura 10: Percentuais de recuperação ao utilizar diferentes quantidades de sílica. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



Ao analisar a Figura 10, pode-se constatar que ao utilizar a condição de 40 mg de sílica, 7 analitos apresentaram percentuais de recuperação acima de 70%, enquanto ao utilizar 60 mg de sílica, favoreceu a recuperação de 11 analitos, mas ao utilizar 80 mg de dispersante foi observado uma redução no quantitativo de analitos, recuperando apenas 7 dos 14 analitos em estudo. Ou seja, utilizar o dobro da quantidade de adsorvente proposta inicialmente reduziu os percentuais de recuperação para a maioria dos analitos, com exceção do teflubenzuron que

recuperou melhor na condição acima, mas não favoreceu aumento de percentual para os demais analitos.

A redução nos percentuais de recuperações pode estar relacionada ao fato do aumento de material sólido para uma pequena quantidade de eluente, além disso ao utilizar maior quantidade de adsorvente aumentou a quantidade de homogeneizado obtido. Logo, para o procedimento de extração era necessário exercer maior pressão na micropipeta para passagem do solvente durante o processo de dessorção dos analitos e, assim, tanto dificultava quanto aumentava o tempo de extração, o que também não favoreceria a avaliação de um maior volume de eluente.

Portanto, a quantidade de adsorvente que proporcionou melhores percentuais de recuperação foi ao utilizar a condição de 60 mg de adsorvente, na qual favoreceu uma condição de extração adequada para maior parte dos analitos. Esse fato pode estar relacionado a elevação da altura do enchimento da ponteira, permitindo melhorias na interação entre o solvente e a matriz, o que foi adequado por proporcionar bons percentuais de recuperação sem limitar o procedimento de extração [125].

Com este parâmetro definido foi avaliada variações no volume da acetonitrila para eluição dos analitos.

5.3.3. Avaliação do volume do solvente de eluição

O conhecimento sobre a natureza do solvente de eluição é necessário para dessorver preferencialmente os analitos e não os interferentes da matriz [126]. Os solventes orgânicos metanol e acetonitrila foram escolhidos devido a natureza polar e compatibilidade com a técnica instrumental. Além disso, acetonitrila é um solvente ideal ao trabalhar com cromatografia líquida de fase reversa devido a sua viscosidade e sua polaridade, além de apresentar uma miscibilidade com água e características o suficiente para maior eficiência na extração de pesticidas polares [89, 127].

Conforme apresentado na Figura 9 (B), ao utilizar acetonitrila como eluente, muitos analitos recuperaram acima de 60%. Logo, buscou-se para esse solvente

avaliar a variação de volume de 1000 μL para 1500 e 2000 μL para verificar se esse aumento de eluente favoreceria os percentuais de recuperação.

A Tabela 9 apresenta os percentuais de recuperação obtidos com o comparativo das condições avaliadas.

Tabela 9: Avaliação de diferentes volumes de acetonitrila como eluente para a recuperação dos analitos.

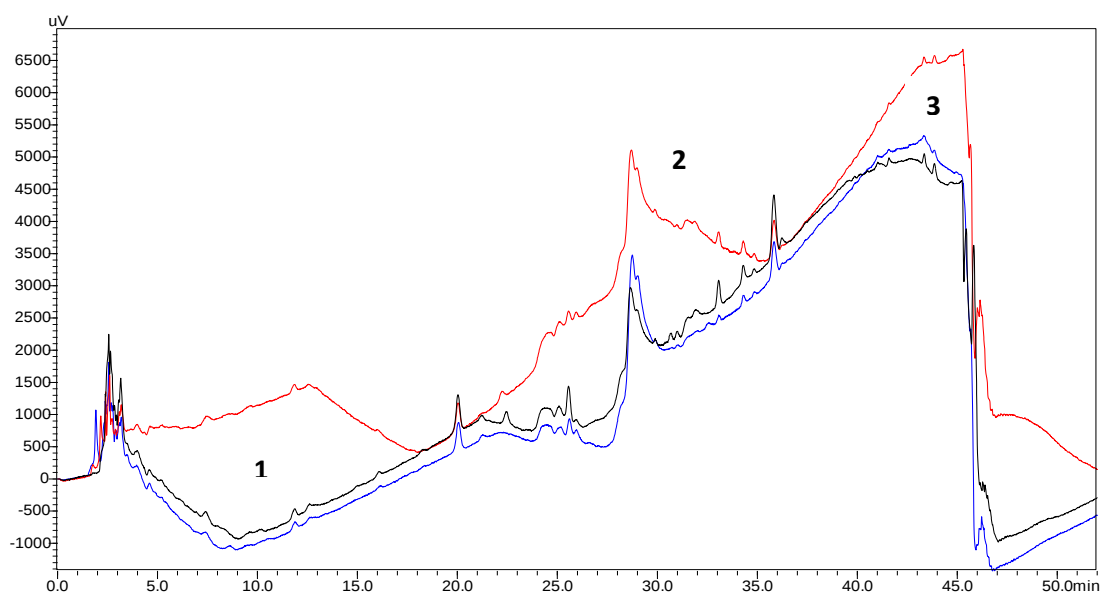
Analitos	Recuperação(%)		
	1000 µL	1500 µL	2000 µL
Clotianidina	65,6 ± 5	58,4 ± 6	50,1 ± 4
Tiametoxam	64,5 ± 4	45,6 ± 4	N.D.
Acetamiprido	60,5 ± 8	58,7 ± 7	56,1 ± 7
Imidacloprido	91,2 ± 5	58,0 ± 3	57,7 ± 2
Tiofanato-metílico	8,7 ± 13	12,9 ± 10	12,4 ± 10
Azoxistrobina	64,8 ± 6	56,6 ± 4	51,9 ± 3
Malationa	57,3 ± 8	52,9 ± 6	50,4 ± 6
Epoxiconazol	62,5 ± 6	59,2 ± 5	47,8 ± 5
Piraclostrobina	65,7 ± 7	62,4 ± 3	55,4 ± 3
Difenoconazol	60,4 ± 6	55,5 ± 2	52,8 ± 5
Abamectina	46,8 ± 8	41,4 ± 6	36,9 ± 5
Lufenuron	68,5 ± 4	59,4 ± 2	53,0 ± 3
Teflubenzuron	39,1 ± 6	65,9 ± 2	65,0 ± 2
Bifentrina	63,3 ± 7	61,1 ± 6	51,9 ± 7

N.D.= Não detectado

O aumento do volume do solvente de eluição não proporcionou um aumento de recuperação para a maioria dos analitos. Os resultados apresentados na Tabela 9 indicaram que a medida em que aumentou o volume de eluente, as recuperações diminuíram significativamente, com exceção do tiofanato-metílico e teflubenzuron. Além disso, maior volume de eluente necessitou de uma etapa adicional de evaporação do solvente em suave corrente de nitrogênio para posterior concentração em $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, e a adição desta nova etapa resulta em maior tempo de extração.

Entretanto, ao avaliar o branco dos extratos nas condições acima mencionada (Figura 11), foi observado que a medida em que aumentou o volume do eluente, surgiram picos adicionais no cromatograma nas regiões próximas ao tempo de retenção dos analitos. Ou seja, maior volume de ACN para eluição dos analitos pode também ter favorecido a eluição de interferentes da matriz, assim como contribuiu para o efeito matriz e isso pode ocasionar uma redução nos valores de recuperação dos analitos.

Figura 11: Cromatogramas dos extratos brancos em 220 nm (isento da contaminação por pesticidas) para as condições de 1000, 1500 e 2000 μL de acetonitrila como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



1- 1000 μL de ACN (cromatograma em preto); **2-** 1500 μL de ACN (cromatograma em vermelho) e **3-** 2000 μL de ACN (cromatograma em azul)

Portanto, ao fazer o comparativo dos resultados obtidos ao aumentar o volume de eluente não foram satisfatórios para os analitos em estudo, indicando que um menor volume de eluente resultou em melhores condições para o método de extração. Assim, a condição mais adequada para os volumes avaliados foi permanecer com 1000 μL de ACN e seguir a otimização do método analítico avaliando a eficiência com a utilização de outros solventes orgânicos, conforme é apresentado no tópico seguinte.

5.3.4. Avaliação de diferentes solventes de eluição

Seguindo a análise do solvente de eluição, foi avaliada uma mistura de solventes com uma polaridade intermediária ao utilizar mistura com o diclorometano (DCM) devido apresentar média polaridade. O DCM apresenta uma força de eluição de 0,32 e o metanol que é um solvente polar tem uma força eluente com valor eluotrópico equivalente a 0,73, em relação a sílica. Logo, a mistura desses solventes tem uma força eluente intermediária capaz de favorecer a eluição desses analitos, proporcionando maiores valores de recuperação [91]. Desse modo, para os adsorventes avaliados foi avaliado a mistura MeOH:DCM (50:50, v/v).

Os resultados apresentados na Figura 9 e Tabela 8 mostraram que para os adsorventes e condições avaliadas ao utilizar MeOH, ACN e MeOH:DCM (50:50, v/v), os analitos em estudo apresentaram percentuais de recuperação em torno de 70%. As melhores condições foram ao utilizar a sílica e alumina neutra como material adsorvente, devido apresentarem maiores percentuais de recuperação, mas ao utilizar a alumina neutra durante a etapa de maceração, não houve formação de um pó homogêneo, fato que seria necessário aumentar a quantidade desse material adsorvente. No entanto, este comportamento não foi observado ao utilizar a sílica gel, o que pode estar relacionado a presença de área em torno de $229 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e tamanho de partícula entre 70-230 mesh [128].

Considerando a avaliação do $\log_{\text{kow}}$, a maioria dos analitos em estudo apresentam de baixa a média polaridade. Logo, buscou-se avaliar misturas de solventes de modo a apresentar força eluotópica suficiente para romper a

interação dos analitos com a superfície do adsorvente e, dessa maneira, melhorar os percentuais de recuperação para os compostos.

Estudos mostram que os solventes como acetonitrila e acetato de etila fornecem menores quantidades de coextrativos em detrimento a outros solventes, principalmente ao trabalhar com matrizes complexas como os alimentos para bebês que apresentam muitos ingredientes crus das frutas, verduras e legumes que são utilizados em sua composição [129].

Para constituir a mistura de solventes foram escolhidos o diclorometano (DCM) e acetato de etila (EtOAc), devido apresentarem uma polaridade intermediária, além do metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) por ser um solvente polar, permitindo assim os solventes avaliados apresentarem diferentes forças de eluição. Portanto, a força eluente intermediária através da mistura desses solventes poderia favorecer a eluição dos analitos [91].

Dessa forma, foram avaliados os solventes de forma individualizada e a mistura de MeOH/DCM, MeOH/ACN e MeOH/ EtOAc em diferentes proporções, cujos valores de força eluotrópica para cada condição estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Força eluotrópica da mistura dos solventes em diferentes proporções [116].

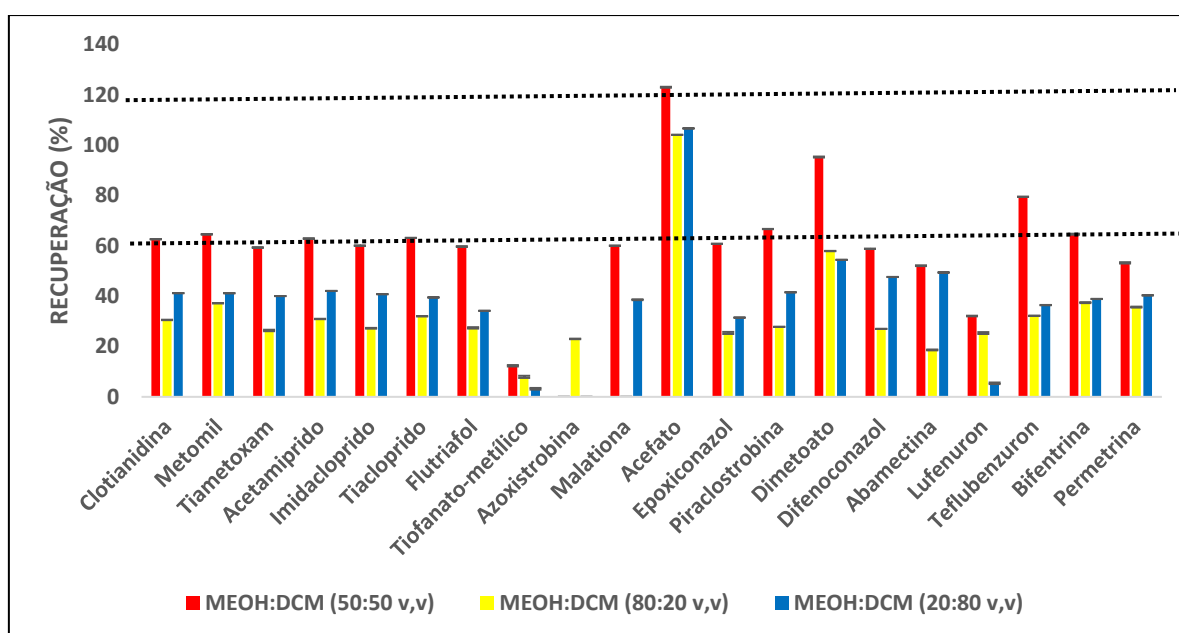
SOLVENTE	FORÇA ELUOTRÓPICA (ϵ°)
Diclorometano	0,32
MeOH: DCM (20:80, v/v)	0,40
Acetato de etila	0,43
MeOH: EtOAc (20:80, v/v)	0,49
Acetonitrila	0,50
MeOH: DCM (50:50, v/v)	0,52

MeOH: ACN (20:80, v/v)	0,54
MeOH: EtOAc (50:50, v/v)	0,58
MeOH: ACN (50:50, v/v)	0,61
MeOH: DCM (80:20, v/v)	0,65
MeOH: EtOAc (80:20, v/v)	0,67
MeOH: ACN (80:20, v/v)	0,68
Metanol	0,73

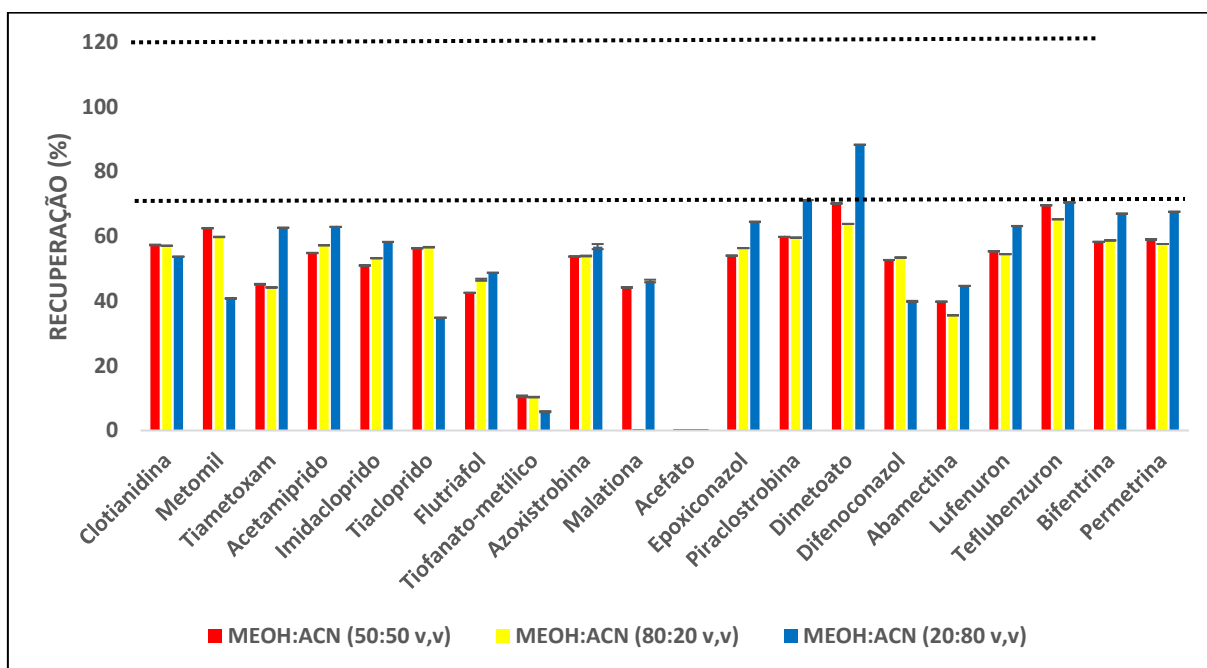
Com base nesses parâmetros, a Figura 12 apresenta os percentuais de recuperação para cada condição avaliada:

Figura 12: Percentuais de recuperação para as condições de 40 mg de amostra, 60 mg de sílica com nível de fortificação de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ e eluição com 1000 μL para cada mistura de solventes. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.

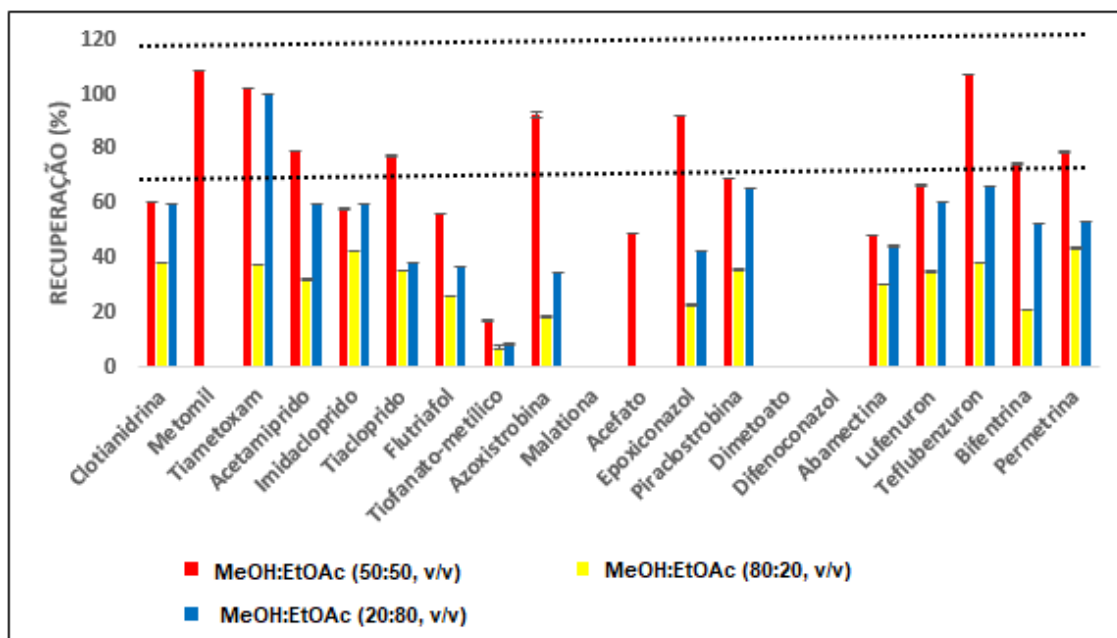
a) Eluição com diferentes proporções de MeOH:DCM



b) Eluição com diferentes proporções de MeOH:ACN



c) Eluição com diferentes proporções de MeOH: EtOAc



Os resultados apresentados nas Figuras 12 (a, b e c) mostraram que dos testes avaliados, as melhores condições para os solventes de eluição foi ao utilizar MeOH: EtOAc (50:50, v/v), nos quais dos pesticidas em estudo, o metomil, tiametoxam, acetamiprido, tiacloprido, azoxistrobina, epoxiconazol, piraclostrobina, teflubenzuron, bifentrina e permetrina tiveram recuperações acima de 70%. Com exceção do tiofanato-metílico, os demais analitos recuperaram acima de 40%.

Os valores de recuperação acima de 60% para boa parte dos analitos em presença da mistura de MeOH com acetato de etila (50:50, v/v) é justificado pelo fato desse solvente apresentar uma polaridade suficiente para extrair pesticidas mais polares [45], o que está de acordo com a maior parte dos analitos que apresentam de média a alta polaridade.

A não recuperação para o dimetoato na condição da mistura de MeOH: EtOAc pode ser justificada com base na presença do grupo amino na sua estrutura (Figura 3) que, conseqüentemente, acaba dificultando a extração em acetato de etila que é um solvente relativamente apolar [130]. Em relação ao difenoconazol, estudos de Fulton et al, 2018 também não recuperaram satisfatoriamente esse analito em presença do acetato de etila como eluente. Essa baixa recuperação, possivelmente, está associada a interação do analito com a sílica na condição avaliada [131].

A não recuperação da malationa pode estar relacionada a presença do grupo fosfato dissubstituído que pode ter ligado a superfície da sílica, além da polaridade do analito juntamente com a polaridade do adsorvente resultar em uma interação química forte com uma adsorção irreversível e a utilização dos solventes orgânicos MeOH:EtOAc como eluente não foi forte o suficiente para recuperar esse analito.

Após avaliação das misturas para os diferentes solventes e aumento do volume de acetonitrila como eluente, verificou-se que a condição mais adequada para o método μ -MSPD foi ao utilizar a sílica como adsorvente e o MeOH:EtOAc (50:50, v/v) como solvente de eluição, nos quais proporcionaram maiores percentuais de recuperação para os analitos em estudo. Para verificar a

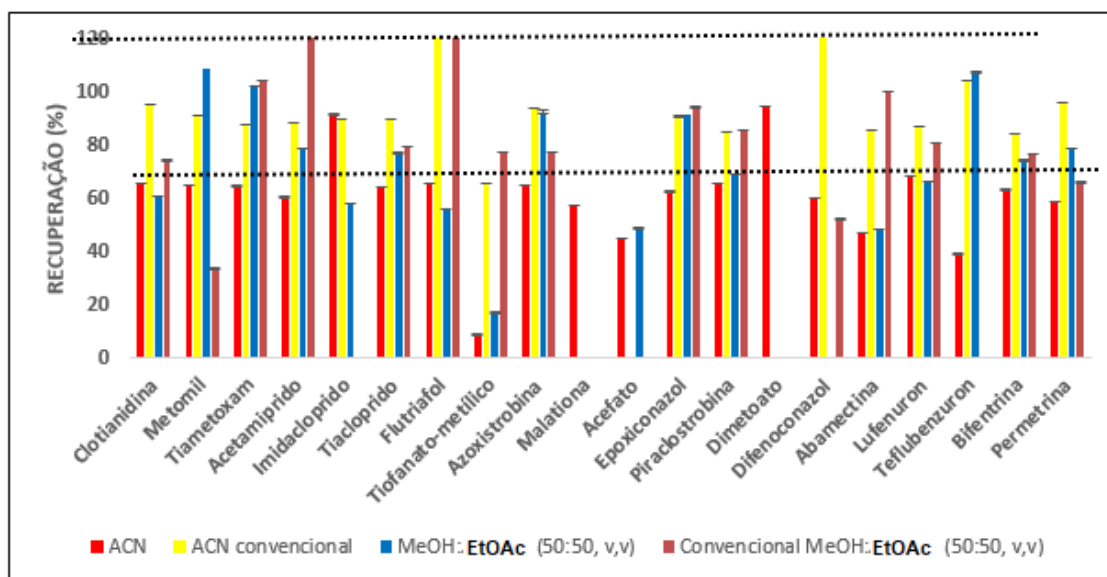
eficiência da técnica μ -MSPD, essa condição foi comparada com a MSPD convencional proposto por Barker *et al.* (2007) [132].

5.4. Comparação da μ -MSPD com o método convencional

Foram feitos comparativos das condições mais adequadas da μ -MSPD com a condição da técnica convencional desenvolvida por Barker *et al.* (2007) [132], na qual foi realizada utilizando da proporção 1:4 (500 mg de amostra com 200 mg de sílica como material adsorvente), seguindo a mesma relação de fortificação da amostra com $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ da mistura das soluções padrão dos analitos em estudo com 8 mL de MeOH:EtOAc (50:50 v,v), além da mesma condição ao utilizar a acetonitrila para eluição.

Como ao utilizar acetonitrila na etapa de eluição favoreceu bons percentuais de recuperação para os analitos, esse solvente também foi selecionado para avaliação no método convencional. Logo, a Figura 13 representa o comparativo dos dados obtidos ao utilizar a condição da μ -MSPD que apresentaram resultados satisfatórios para acetonitrila (ACN) e MeOH:EtOAc (50:50, v/v) com o método convencional.

Figura 13: Comparação dos percentuais de recuperação da μ -MSPD com a MSPD convencional. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



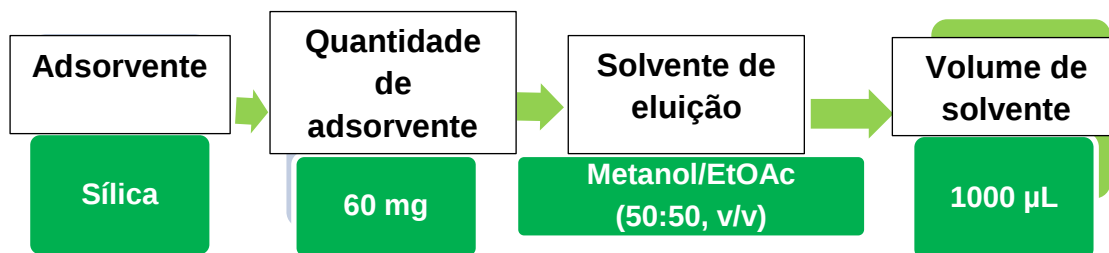
Os resultados apresentados na Figura 13 mostram que com exceção de alguns analitos, a MSPD convencional nas duas condições avaliadas apresentam resultados de recuperação superior a proposta miniaturizada, indicando que o aumento de amostra/adsorvente assim como aumento do volume de eluente favoreceram o processo de adsorção/dessorção, com exceção do acefato que não foi detectado ao utilizar o método convencional, mas a proposta miniaturizada ainda é capaz de proporcionar resultados satisfatórios.

Essa variação de recuperação dos analitos nas condições avaliadas pode ser justificada pelo fato que maior quantidade de amostra/adsorvente permite maior disponibilidade de sítios ativos para favorecer interações entre os analitos e materiais, de modo que acabe favorecendo as interações entre os grupos presentes nas estruturas e o material adsorvente. Da mesma forma que a redução da quantidade de amostra, adsorvente e solvente podem reduzir o favorecimento de diferentes interações existentes e necessitar de técnicas mais sensíveis para a detecção [69].

Contudo, mesmo utilizando uma proposta miniaturizada com menor quantidade de adsorvente e solvente de eluição, foi possível otimizar uma condição adequada para os analitos em estudo. A Figura 14 apresenta um

fluxograma com as condições mais adequadas para otimização do método de extração μ -MSPD com ponteiras de micropipeta.

Figura 14: Fluxograma com a condição mais adequada para o procedimento de extração dos analitos por μ -MSPD.



Após otimização do método de extração utilizando a sílica como material adsorvente, biocarvões de diferentes biomassas foram avaliados para verificar a eficiência como promissor material adsorvente no método de extração. Nos parágrafos subsequentes é apresentado as características desses materiais, assim como os parâmetros de otimização do método que foram avaliadas.

5.5. Avaliação da caracterização do biocarvão de diferentes biomassas

O tipo de matéria prima utilizado na composição de diferentes materiais carbonáceos influencia na obtenção de um material que apresente diferentes estruturas físico-químicas, grupos funcionais e tamanhos de poros capazes de favorecer diferentes interações entre o adsorvente e o analito [133].

Neste trabalho foram avaliados os biocarvões das biomassas de aguapé, sabugo de milho, semente de uva, mandioca e esterco bovino. O biocarvão (bc) do sabugo de milho é caracterizado por apresentar ânions em sua estrutura que são capazes de favorecer a adsorção de pesticidas catiônicos, além da presença de grupos ácidos como o ácido carboxílico e presença de carbonila e grupos alquilas em sua estrutura [134]. Esse biocarvão também foi caracterizado por apresentar área superficial de $99,59 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e volume poroso de $0,265 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ favorecendo assim a adsorção de variados analitos.

O biocarvão da semente de uva é caracterizado por apresentar menor quantidade de grupos funcionais em relação ao anterior que pode ter sido resultante da degradação térmica das sementes durante o processo de pirólise. Fato esse que favoreceu na perda de hidrogênio, nitrogênio e oxigênio ligados a estrutura. Além disso, ele apresentou área superficial e volume dos poros inferior em relação ao bc do sabugo de milho, ao considerar $81,1 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e volume dos poros de $0,062 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, respectivamente [135].

Em relação ao biocarvão de aguapé, ele foi caracterizado pela presença de variados grupos funcionais relacionados a compostos aromáticos, além de apresentar área superficial entre $8,1$ e $116 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ com porosidade em torno de $0,0043 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ e diâmetro de poro de $5,65 \text{ nm}$, permitindo assim eficiência de adsorção para diferentes analitos [136,137,138].

Já o biocarvão de esterco bovino apresenta grupos funcionais alifáticos com maior predominância de heteroátomos como o oxigênio. Os resultados de caracterização deste material mostraram uma área superficial de $470 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, volume de poros de $0,424 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, com diâmetro do poro de $18,12 \text{ nm}$ que em conjunto favorecem maior capacidade de adsorção [139].

Enquanto o biocarvão da mandioca apresenta elevada área superficial, volume e tamanho de poros, além de variados grupos funcionais capazes de favorecer diferentes interações eletrostáticas e ligações entre os analitos e a superfície do material adsorvente [140].

A Tabela 11 apresenta o comparativo das propriedades físicas de cada um dos biocarvões avaliados.

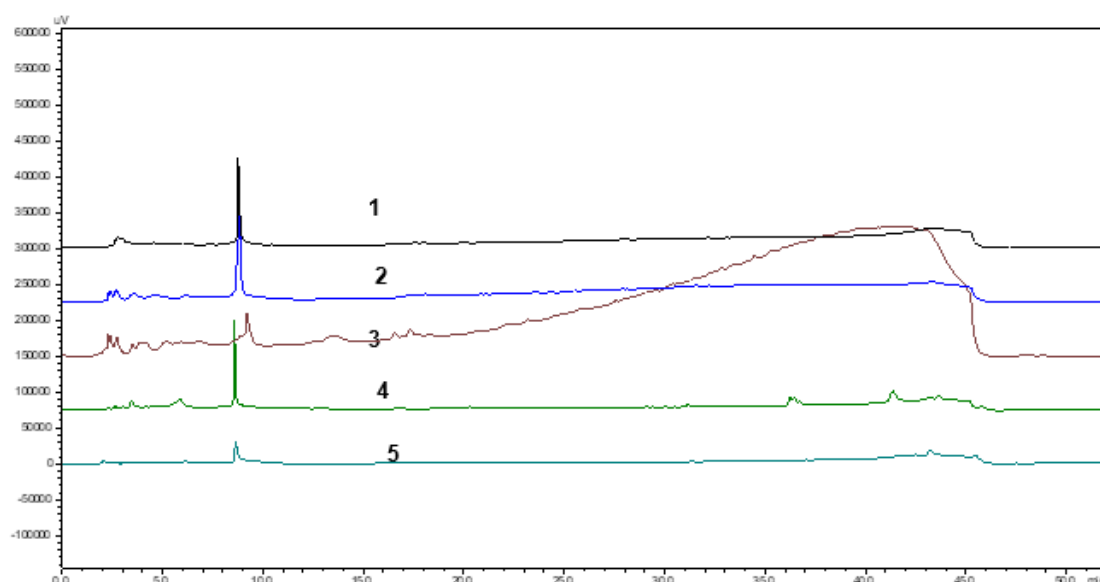
Tabela 11: Comparativo das propriedades físicas dos biocarvões avaliados

Biocarvão	Área superficial	Volume de poros
Aguapé	$8,1 - 116 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$	$0,0043 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$
Esterco bovino	$470 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$	$0,424 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$
Mandioca	-	-
Sabugo de milho	$99,59 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$	$0,265 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$

Semente de uva	81,1 m ² g ⁻¹	0,062 cm ³ g ⁻¹
----------------	-------------------------------------	---------------------------------------

Os materiais carbonáceos em estudo apresentaram caracterizações favoráveis para utilização como promissor material adsorvente na miniaturização da MSPD. Por conseguinte, foi analisado o branco desses materiais, a fim de verificar possíveis interferentes que pudessem competir na recuperação dos analitos. Os cromatogramas dos brancos estão registrados na Figura 15.

Figura 15: Cromatogramas dos brancos para os diferentes biocarvões. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



1-Biocarvão semente de uva, **2-** Biocarvão de mandioca, **3-** Biocarvão esterco bovino, **4-** Biocarvão sabugo de milho, **5-** Biocarvão de Aguapé

Ao avaliar os cromatogramas apresentados na Figura 15, mostram que os brancos dos materiais carbonáceos não apresentaram sinais significativos de interferentes em tempo de retenção próximos aos analitos.

Na tentativa de avaliar os resultados obtidos com base na semelhança entre os percentuais de recuperação dos analitos para cada material carbonáceo foram realizadas uma análise exploratória de dados para verificar o perfil de

agrupamento e, assim, avaliar se os biocarvões de diferentes biomassas seriam promissores materiais adsorventes para os analitos em estudo.

5.6. Análise exploratória de dados

Durante o desenvolvimento de métodos analíticos, diferentes parâmetros precisam ser ajustados para obtenção das melhores condições de análise, o que resulta em elevado número de resultados e o grande desafio é o gerenciamento e a interpretação do conjunto de dados com grande dimensionalidade. A quimiometria vem sendo utilizada de forma alinhada a outros métodos analíticos e a análise de componentes principais (PCA) e de agrupamento hierárquico (HCA) é um tipo de análise estatística amplamente utilizado para agrupamento com base em semelhanças obtidas.

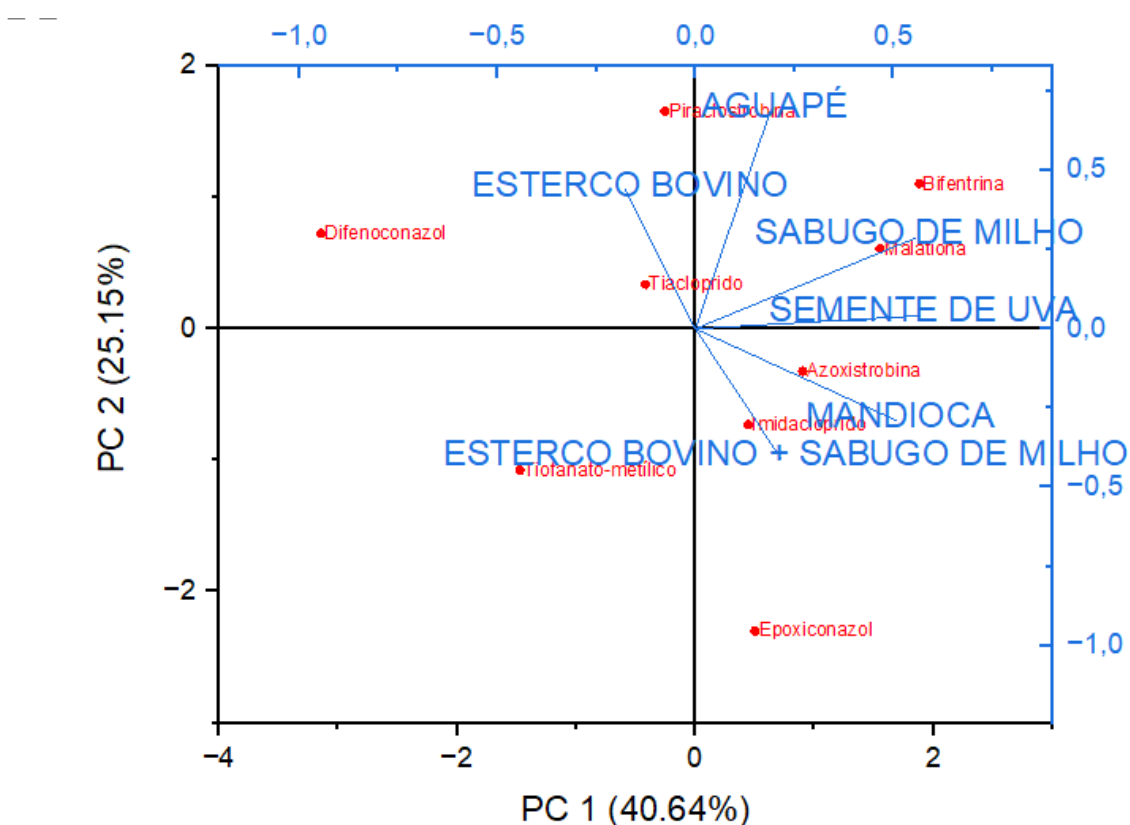
A PCA desempenha um papel importante na redução da dimensionalidade dos dados complexos, tornando-os mais simples e fáceis de analisar de modo a minimizar a perda de informação. Tanto a PCA quanto a HCA vem sendo utilizada nas análises de componentes presentes na amostra, além de apresentar ampla utilização na avaliação do efeito matriz [141-143].

Ao utilizar o biocarvão como material adsorvente da μ -MSPD, a análise exploratória de dados foi empregada para mensurar os dados obtidos para cada biocarvão de diferentes biomassas, de modo a verificar o agrupamento dos analitos em relação ao material carbonáceo. A PCA foi avaliada a partir dos percentuais de recuperação obtido para cada material carbonáceo e também ao utilizar a mistura do biocarvão do sabugo de milho com esterco bovino que foram selecionados por apresentarem melhores percentuais de recuperação. O escores da PCA permitiu observar que tanto para o biocarvão do sabugo de milho, quanto semente de uva e aguapé apresentaram maior agrupamento dos analitos, fato esse que pode estar relacionado aos referidos materiais carbonáceos apresentarem mais grupos funcionais em detrimento aos demais materiais e, por conseguinte, favoreceu melhores percentuais de recuperação para os analitos.

A PCA apresentada na Figura 16 permitiu constatar separação em dois grupos distintos PC1 (40,64%) e PC2 (25,15%), o que resulta em uma variância

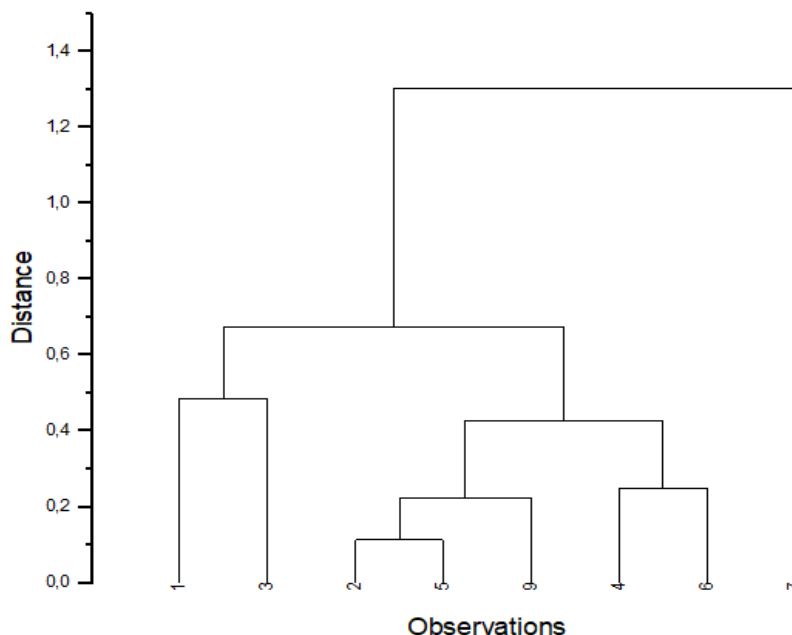
acumulada de 65,79%, com PC1 (positivo) e PC2 (negativo) em que o melhor agrupamento ocorreu para os grupos químicos dos neonicotinóides, organofosfato, benzimidazol, piretróide e estrobilurina, como o imidacloprido, tiacloprido, tiofanato-metílico, azoxistrobina, malationa, piraclostrobina e bifentrina. Ressalta-se que os pesticidas pertencentes ao grupo dos triazóis não apresentaram correlação de semelhança que fosse capaz de permitir o agrupamento.

Figura 16: Escores da PCA com o agrupamento dos analitos



Ao analisar a Figura 16 é possível constatar maior agrupamento ao longo da PC1 que influenciou positivamente na discriminação dos analitos com os materiais carbonáceos.

A Figura 17 apresenta a confirmação dos agrupamentos que foi realizada através da análise do dendograma obtido da HCA que mostra a similaridade dos analitos em relação ao material carbonáceo.

FIGURA 17: Dendograma da análise por agrupamento hierárquico

1- imidacloprido, 2- tiacloprido, 3- tiofanato-metílico, 4- azoxistrobina, 5- malationa, 6- epoxiconazol, 7- piraclostrobina, 8-bifentrina.

Observando a Figura 17 é possível constatar a prevalência de agrupamento por similaridade ao lado direito do dendograma que corresponde aos analitos pertencentes aos grupos químicos dos neonicotinóides, benzimidazol, estrobilurina, organofosfato e piretróides, o qual confirma a maior similaridade dos analitos com os materiais carbonáceos avaliados.

Após avaliação da PCA e HCA e constatar o agrupamento por similaridade para o estudo dos analitos ao utilizar os materiais carbonáceos como adsorvente do método de extração e como forma de garantir a continuidade dos estudos, testes foram realizados com a proposta de otimização do método de extração para obtenção das condições capazes de proporcionar percentuais de recuperação entre 70 – 120%.

5.7. Percentuais de recuperação do analitos em presença de diferentes materiais carbonáceos

Para os diferentes materiais carbonáceos foram avaliados os percentuais de recuperação ao utilizar a condição de 40 mg de amostra, 60 mg de biocarvão e 1 mL de metanol para eluição. A Tabela 12 apresenta os resultados que foram obtidos nas condições avaliadas.

Tabela 12: Percentuais de recuperação para os diferentes materiais carbonáceos

Analitos	BC Sabugo de milho	BC Agupapé	BC Mandioca	BC Esterco bovino	BC Semente de uva	BC Esterco bovino + Sabugo de milho
Abamectina	120,3 ± 8	67,3 ± 3	69,4 ± 8	66,4 ± 8	52,3 ± 4	72,4 ± 3
Acetamiprido	72,4 ± 5	50,4 ± 4	19,2 ± 6	40,5 ± 4	28,2 ± 8	82,2 ± 3
Azoxistrobina	56,2 ± 3	73,2 ± 8	54,5 ± 2	59,3 ± 3	67,4 ± 1	56,3 ± 3
Bifentrina	54,5 ± 9	57,4 ± 2	72,3 ± 2	82,4 ± 1	90,3 ± 2	56,2 ± 2
Clotianidina	90,6 ± 4	40,5 ± 1	15,2 ± 7	121,2 ± 1	37,2 ± 5	104,1 ± 8
Difenoconazol	50,3 ± 13	78,6 ± 3	18,7 ± 3	64,4 ± 5	99,1 ± 8	67,3 ± 2
Dimetoato	0	0	0	0	0	0
Epoxiconazol	116,2 ± 6	101,1 ± 2	63,4 ± 6	16,2 ± 5	59,3 ± 4	44,2 ± 1
Imidacloprido	62,5 ± 9	36,4 ± 3	44,3 ± 9	98,4 ± 6	76,2 ± 6	31,2 ± 4
Lufenuron	33,2 ± 6	69,3 ± 3	39,6 ± 2	64,3 ± 7	53,4 ± 8	0
Malationa	88,4 ± 9	43,2 ± 6	71,3 ± 3	75,2 ± 2	93,2 ± 2	32,3 ± 4
Piraclostrobina	70,5 ± 6	55,4 ± 3	58,2 ± 2	63,3 ± 5	86,4 ± 3	52,3 ± 4
Teflubenzuron	39,1 ± 9	94,6 ± 1	55,8 ± 3	81,2 ± 8	69,3 ± 5	38,4 ± 4
Tiacloprido	99,5 ± 3	66,2 ± 2	37,3 ± 9	55,3 ± 7	98,2 ± 1	21,2 ± 3
Tiametoxam	112,1 ± 6	24,3 ± 7	102,3 ± 1	53,1 ± 3	65,5 ± 6	29,4 ± 4
Tiofanato-metílico	120,1 ± 4	48,5 ± 6	38,2 ± 5	60,2 ± 2	30,2 ± 2	28,4 ± 2

Os resultados apresentados na Tabela 12 mostram os percentuais de recuperação para os analitos em presença dos biocarvões de diferentes biomassas. É possível observar maior quantidade de analitos com percentuais entre 70 – 120 % para o biocarvão do sabugo de milho, o que pode estar relacionado a elevada área superficial e presença de grupos funcionais em sua estrutura que favoreceram diferentes interações entre os analitos e o material adsorvente.

O biocarvão da semente de uva também apresentou percentuais de recuperação satisfatórios para a maioria dos analitos. Porém, a utilização deste material adsorvente liberava bio-óleo durante a etapa de eluição do método. Fato esse que aumenta a pigmentação do extrato e, consequentemente, poderia danificar a coluna cromatográfica. Necessitando adicionar uma etapa de limpeza ao método com o propósito de eliminar possíveis interferentes que comprometeria no efeito matriz.

Com o objetivo de ampliar a capacidade de adsorção foram avaliadas misturas do biocarvão do sabugo de milho e esterco bovino (50:50) por terem apresentado maior capacidade de agrupamento dos analitos tanto na PCA quanto HCA e por apresentarem melhores percentuais de recuperação em detrimento aos demais adsorventes. Eles foram escolhidos por apresentarem dentre os materiais selecionados elevada área superficial e volume dos poros. Mas os resultados obtidos na Tabela 12 indicam que a escolha não foi condizente para favorecer elevação nos percentuais de recuperação.

Por conseguinte, foram avaliados outros solventes para eluição dos analitos. Considerando que este parâmetro também é essencial no desenvolvimento de método analítico, variações na força eluotrópica foram estabelecidas a fim de buscar condições mais favoráveis de extração.

5.8. Avaliação do solvente de eluição

Foram avaliados os solventes orgânicos metanol, acetonitrila e metanol/acetato de etila (50:50, v/v) na etapa de eluição para cada material carbonáceo. Os gráficos apresentados nas Figuras 18(a), 18(b) e 18(c) mostram os percentuais obtidos em cada condição avaliada.

Figura 18(a): Percentuais de recuperação ao utilizar acetonitrila como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.

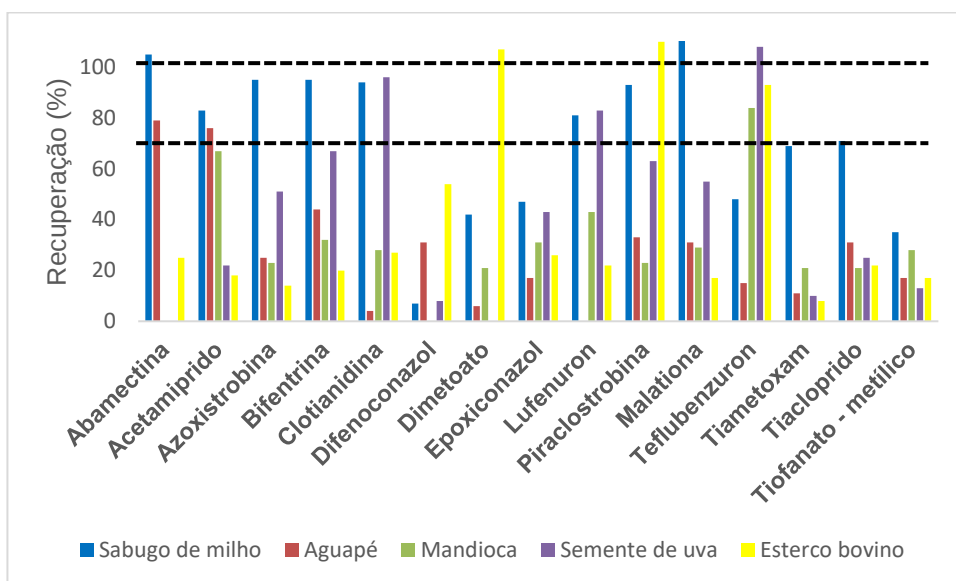


Figura 18(b): Percentuais de recuperação ao utilizar metanol como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.

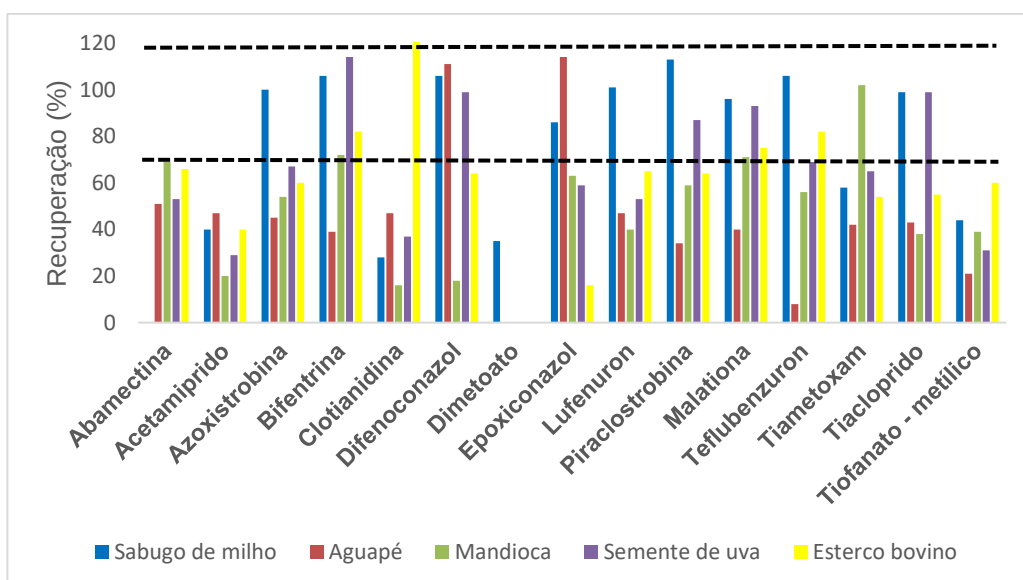
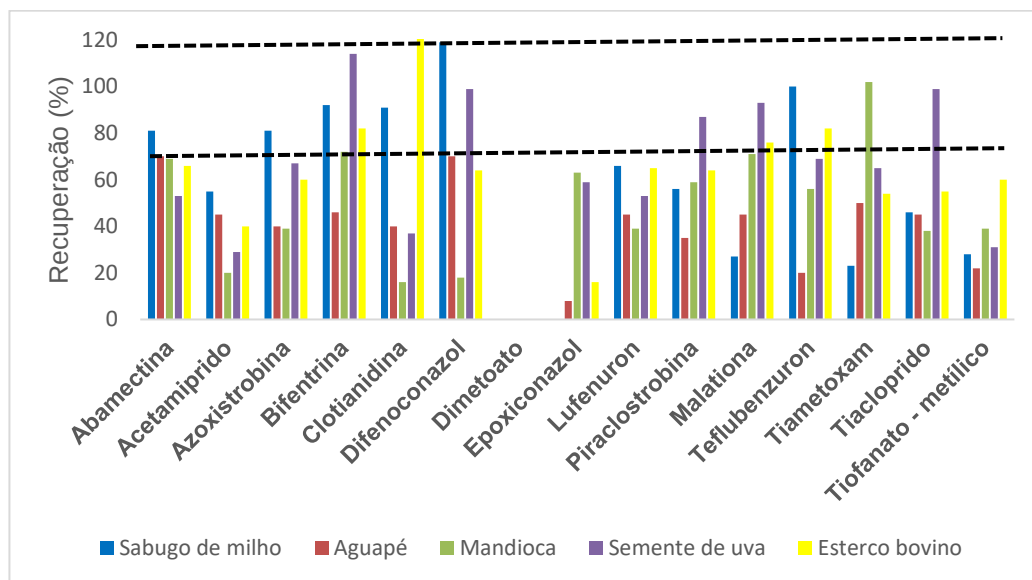


Figura 18(c): Percentuais de recuperação ao utilizar metanol/acetato de etila (50:50, v/v) como solvente de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



Ao comparar os percentuais de recuperação dos solventes avaliados para cada material carbonáceo foi possível observar que ao utilizar a acetonitrila (Figura 18a) ocorreu maior favorecimento dos percentuais de recuperação para os analitos pertencentes ao grupo químico da benzoilureia. Enquanto que ao utilizar o metanol (Figura 18b) na etapa de eluição favoreceu os analitos do grupo químico dos triazóis e, em presença da mistura do MeOH/EtOAc (Figura 18c), os percentuais de recuperação foram mais elevados para a bifentrina e difeconazol que pertencem aos grupos dos piretróides e triazóis, respectivamente.

Considerando as condições avaliadas para os diferentes materiais carbonáceos, foi possível observar que tanto o biocarvão do sabugo de milho quanto o biocarvão de esterco bovino e semente de uva apresentaram percentuais acima de 70 % para a maioria dos analitos.

O dimetoato não foi extraído ao avaliar o metanol/ EtOAc na etapa de eluição e isso pode estar relacionado ao fato do analito ser polar e a mistura de

solventes não apresentaram força eluente suficiente (Figura 18 c) para romper as interações do analito com os materiais carbonáceos, resultando em baixos percentuais de recuperação.

No entanto, ao utilizar o biocarvão da semente de uva foi possível observar coloração intensa no extrato que pode ser oriunda de resíduos de bio-óleo do material carbonáceo que não foi eliminado durante o processo de obtenção do material e acabou sendo extraído ao ser eluído com os solventes avaliados. Consequentemente, seguir com esse material necessitaria de uma etapa adicional de limpeza ao método de extração para evitar que pigmentos do extrato viesse a danificar a coluna cromatográfica.

A Figura 19 mostra a diferença de coloração dos extratos para o biocarvão da semente de uva, sabugo de milho e esterco bovino.

Figura 19: Materiais carbonáceos que apresentaram pigmentações intensas



Biocarvão da semente de uva



Biocarvão de esterco bovino



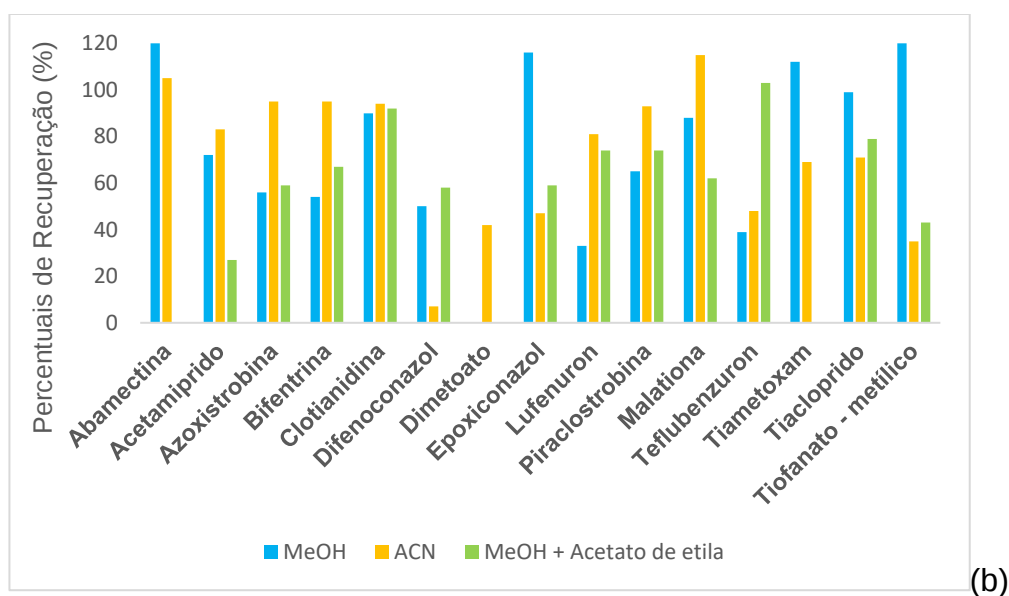
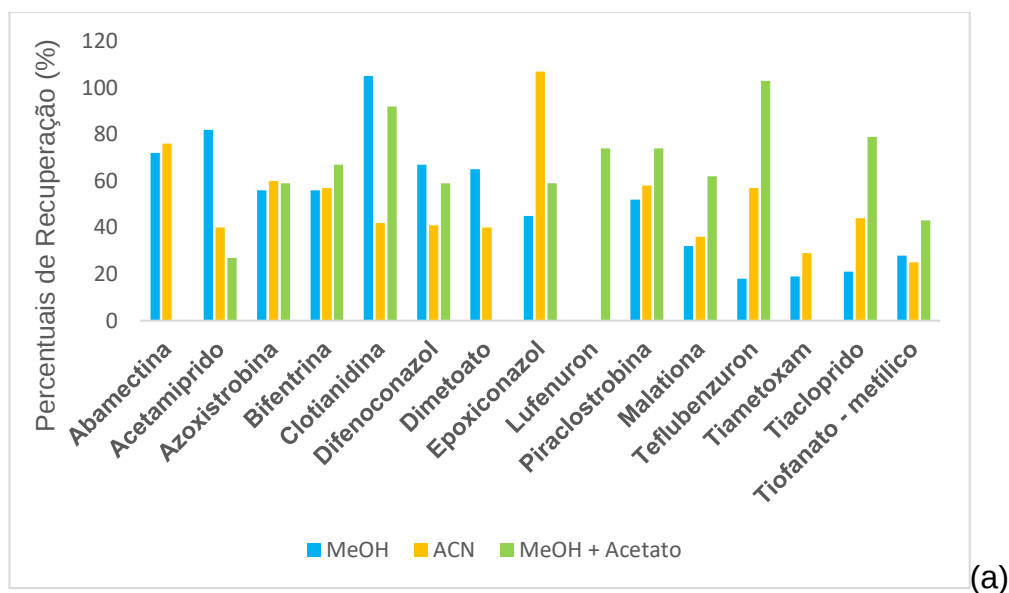
Biocarvão do sabugo de milho

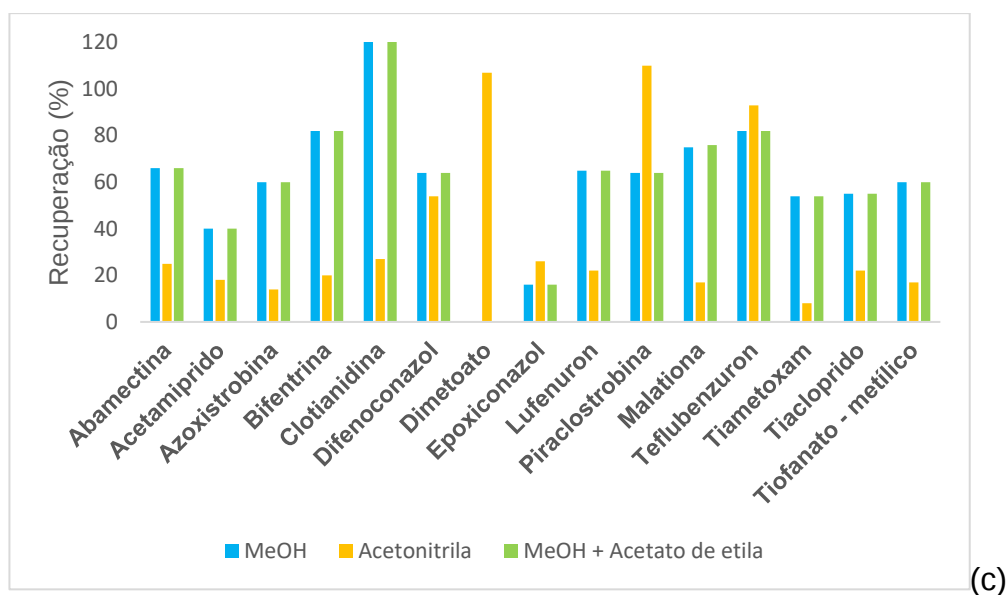
Fonte: Autoria própria

Como o biocarvão do sabugo de milho e esterco bovino também apresentaram condições favoráveis de recuperação dos analitos, buscou-se avaliar a capacidade de adsorção ao utilizar a mistura desses materiais, verificando se seriam capazes de fornecer melhorias na extração dos analitos, aumentando assim os percentuais de recuperação para os diferentes solventes orgânicos.

A Figura 20 apresenta o comparativo dos percentuais de recuperação ao utilizar a condição dos materiais carbonáceos em conjunto e individuais para os diferentes solventes.

Figura 20: Avaliação da mistura do biocarvão do sabugo de milho com esterco bovino (50:50, m/m) (a), biocarvão do sabugo de milho (b) e biocarvão de esterco bovino (c) com diferentes solventes de eluição. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.





Ao analisar a Figura 20 (a) é possível observar que ao utilizar a mistura do biocarvão do sabugo de milho com esterco bovino na proporção 50:50 não indicou melhorias nos resultados obtidos. Assim a etapa de otimização do método de extração seguiu utilizando somente o biocarvão do sabugo de milho como material adsorvente e buscou-se avaliar qual solvente de eluição melhor favoreceria os percentuais de recuperação dos analitos ao utilizar o material carbonáceo acima supracitado.

A Tabela 13 apresenta os percentuais de recuperação obtidos ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho com os diferentes solventes utilizados individualmente ou através de misturas durante a etapa de eluição dos analitos.

Tabela 13: Percentuais de recuperação (%) dos analitos ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho e diferentes solventes orgânicos

Analitos	MeOH	ACN	MeOH/ACN	MeOH/EtOAc	MeOH/DCM
Abamectina	120,3±8	105,2±6	50,2±5	0	46,4±9
Acetamiprido	72,4±5	83,3±3	71,3±3	27,2±11	44,3±9
Azoxistrobina	56,2±3	95,4±2	79,2±3	59,3±9	56,2±6
Bifentrina	54,5±9	95,6±2	92,4±2	67,5±5	71,2±3
Clotianidina	90,6±4	94,3±4	28,1±10	92,2±3	36,5±11
Difenconazol	50,3±13	7,2±16	102,1±2	58,2±7	65,3±9
Dimetoato	0	42,3±6	20,3±12	0	7,2±12

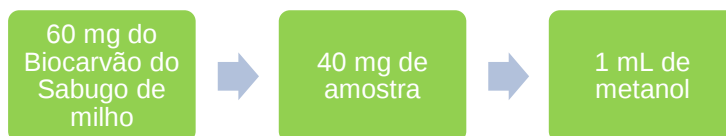
Epoxiconazol	116,2±6	47,3±8	68,2±4	59,4±6	32,4±6
Lufenurom	33,5±6	81,2±3	0	74,3±3	0
Piraclostrobina	70,2±6	93,4±4	77,4±2	74,4±3	41,5±5
Malationa	88,4±9	115,2±3	85,2±3	62,8±6	59,3±3
Teflubenzurom	39,5±9	48,4±8	113,5±2	103,2±2	36,6±2
Tiametoxam	112,1±6	69,3±3	96,2±3	0	82,1±2
Tiacloprido	99,1±3	68,2±2	62,4±4	79,1±2	31,6±5
Tiofanato- metílico	120,2±4	35,4±8	37,4±9	43,2±9	26,2±7

Ao utilizar o metanol, 9 dos 15 analitos avaliados recuperaram acima de 70%, enquanto que ao utilizar acetonitrila ou mistura do metanol/acetonitrila favoreceu apenas a recuperação de 8 analitos entre 70 – 120%. O metanol/acetato de etila e metanol/diclorometano também foram avaliados, mas os resultados não foram condizentes de melhorias no método, pois a maioria dos analitos não recuperaram acima de 70%.

Os melhores percentuais de recuperação em presença do metanol na etapa de eluição está relacionado ao grupo hidroxila presente no respectivo solvente que é capaz de interagir com os grupos funcionais dos analitos como doadores das ligações de hidrogênio, enquanto que estes atuaram como aceptores dessas ligações [144].

Assim, a miniaturização da dispersão da matriz em fase sólida foi estabelecida ao utilizar a condição de 60 mg do biocarvão do sabugo de milho com 1 mL de metanol para eluição dos analitos, conforme é apresentado na Figura 21.

Figura 21: Fluxograma com a condição mais adequada para o procedimento de extração dos analitos por μ -MSPD utilizando o biocarvão do sabugo de milho.



Após conclusão desta etapa, os métodos analíticos foram validados com base nos parâmetros estabelecidos pela ANVISA [119] tanto para o procedimento de extração ao utilizar a sílica quanto utilizando o biocarvão do sabugo de milho como material adsorvente da μ -MSPD. Os tópicos subsequentes apresentam os resultados que foram obtidos para os parâmetros avaliados.

5.9. Validação do Método Analítico

Após otimização com a condição mais adequada do método analítico, ele precisa ser validado com base em normativas que estabelecem parâmetros que devem ser validados durante esta etapa para que eles sejam confiáveis e aptos para posterior aplicação em amostras reais.

Neste trabalho os parâmetros como a linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão, efeito matriz, limite de detecção e limite de quantificação foram validados para garantir que o método desenvolvido está de acordo com as normativas estabelecidas pelo INMETRO e ANVISA [119,145].

5.10. Linearidade e sensibilidade

A linearidade é definida como a capacidade do método em obter resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um determinado intervalo da curva analítica.

Este parâmetro foi avaliado após aferição da massa dos padrões e preparo de uma solução estoque de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol. Em seguida, foi preparada uma solução intermediária contendo a mistura dos analitos de interesse na concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e, posteriormente, diluída para 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em 5 mL com posteriores diluições sucessivas para o preparo das concentrações da curva analítica.

Para a construção e avaliação da curva analítica no solvente foram definidas e preparadas as soluções nas seguintes concentrações: 0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Essas concentrações foram preparadas a partir de diluições da concentração de 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para as concentrações mais baixas foram diluídas a partir da solução de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Foi avaliada a linearidade através da construção da curva analítica, utilizando 11 pontos, a qual foi injetada em triplicata.

Com base em algumas normativas como a ANVISA (2003), é aceitável que o coeficiente de determinação da reta (r^2) seja superior a 0,99. O INMETRO (2010) considera satisfatório r^2 maior que 0,9 [119,145].

A Tabela 14 apresenta os resultados relacionados a equação da reta, o coeficiente de determinação e o intervalo de concentração para cada analito na curva no solvente.

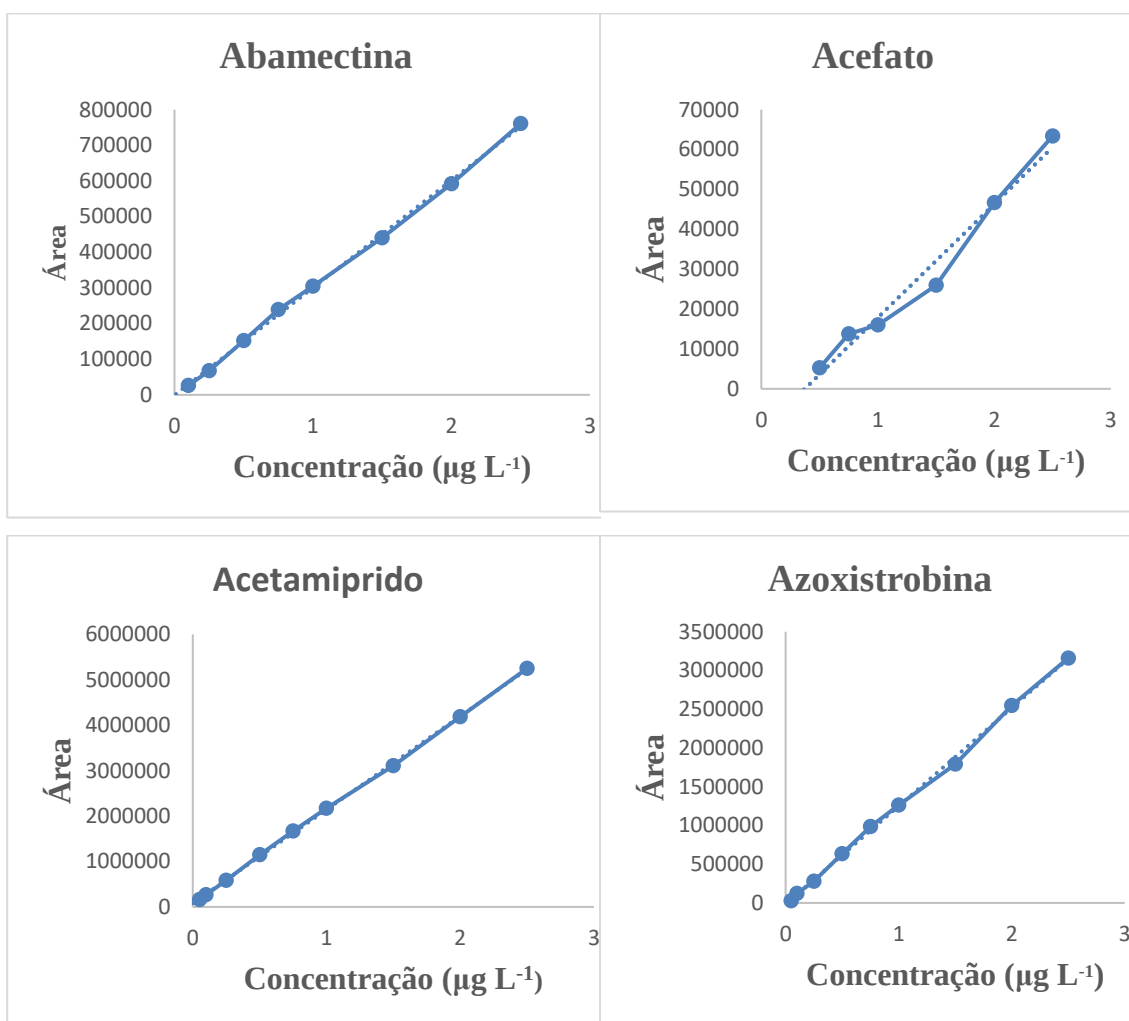
Tabela 14- Equação da reta, coeficiente de determinação (r^2) e intervalo de concentração dos pesticidas estudados ao utilizar a sílica como material adsorvente da μ -MSPD.

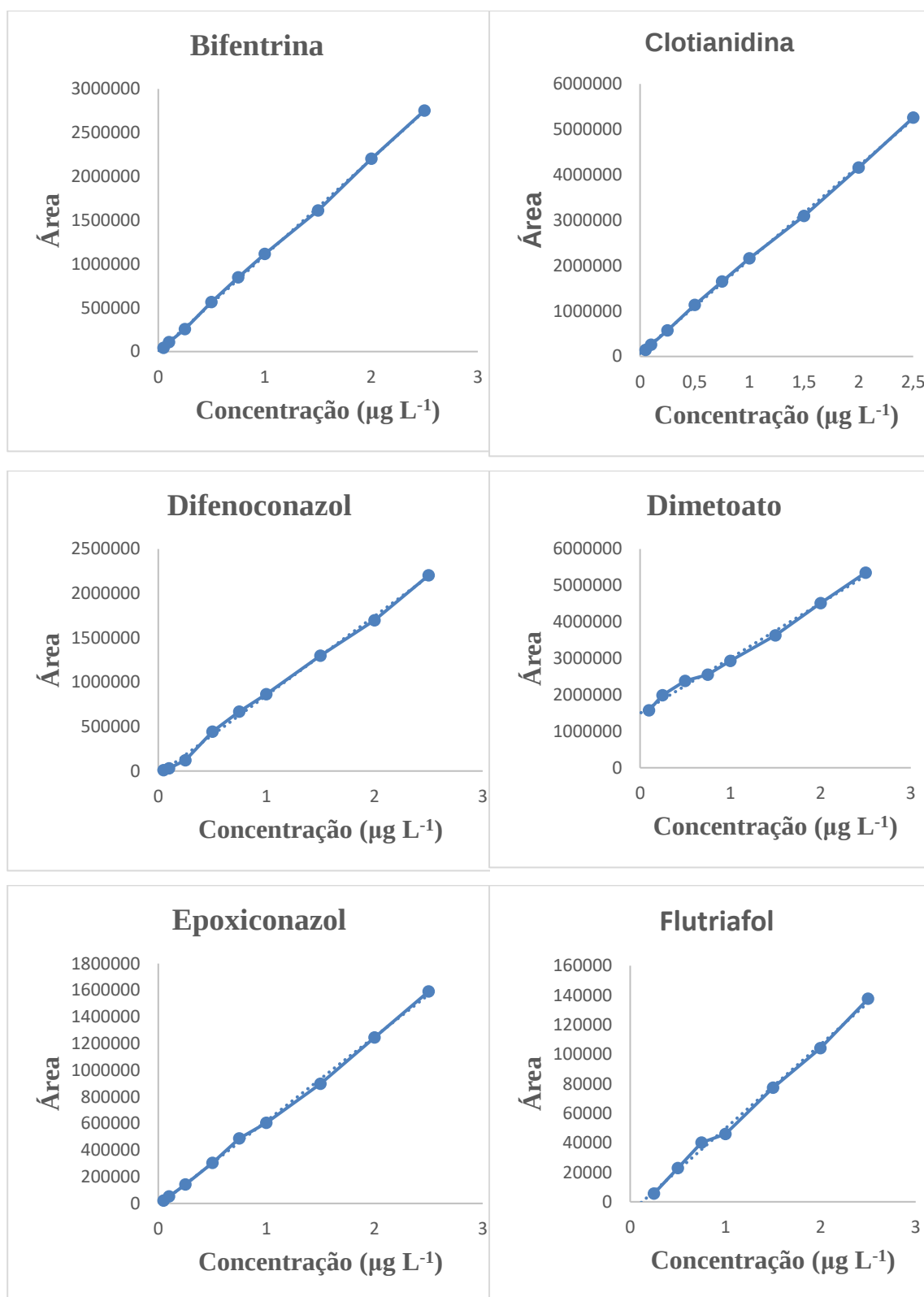
Pesticida	Equação de regressão	Coeficiente de determinação (r^2)	Intervalo de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Abamectina	$y = 301471x - 1220,2$	0,9988	0,1 - 2,5
Acefato	$y = 28476x - 10640$	0,9753	0,5 – 2,5
Acetamiprido	$y = 2\text{E}+06x + 80089$	0,9996	0,05 - 2,5
Azoxistrobina	$y = 1\text{E}+06x - 16722$	0,9986	0,05 – 2,5
Bifentrina	$y = 1\text{E}+06x - 1551,7$	0,9996	0,05 – 2,5
Clotianidina	$y = 2\text{E}+06x + 65675$	0,9996	0,05 – 2,5
Difenoconazol	$y = 892514x - 41756$	0,9980	0,05 – 2,5
Dimetoato	$y = 2\text{E}+06x + 1\text{E}+06$	0,9939	0,1 – 2,5
Epoxiconazol	$y = 631998x - 13512$	0,9988	0,05 – 2,5
Flutriafol	$y = 56859x - 7140,7$	0,9960	0,25 – 2,5
Imidacloprido	$y = 1\text{E}+06x + 5040,9$	0,9996	0,05 – 2,5
Lufenuron	$y = 838692x - 6627,2$	0,9993	0,05 – 2,5
Metomil	$y = 2\text{E}+06x + 265189$	0,9994	0,05 – 2,5
Permetrina	$y = 659260x - 5113,6$	0,9997	0,05 – 2,5
Piraclostrobina	$y = 863798x - 4471,4$	0,9996	0,05 – 2,5
Teflubenzurom	$y = 2\text{E}+06x + 542176$	0,9982	0,05 - 2,5
Tiacloprido	$y = 2\text{E}+06x + 111480$	0,9995	0,05 – 2,5
Tiametoxam	$y = 784526x + 369,25$	0,9995	0,05 – 2,5
Tiofanato - metílico	$y = 814722x - 8672,2$	0,9996	0,05 - 2,5

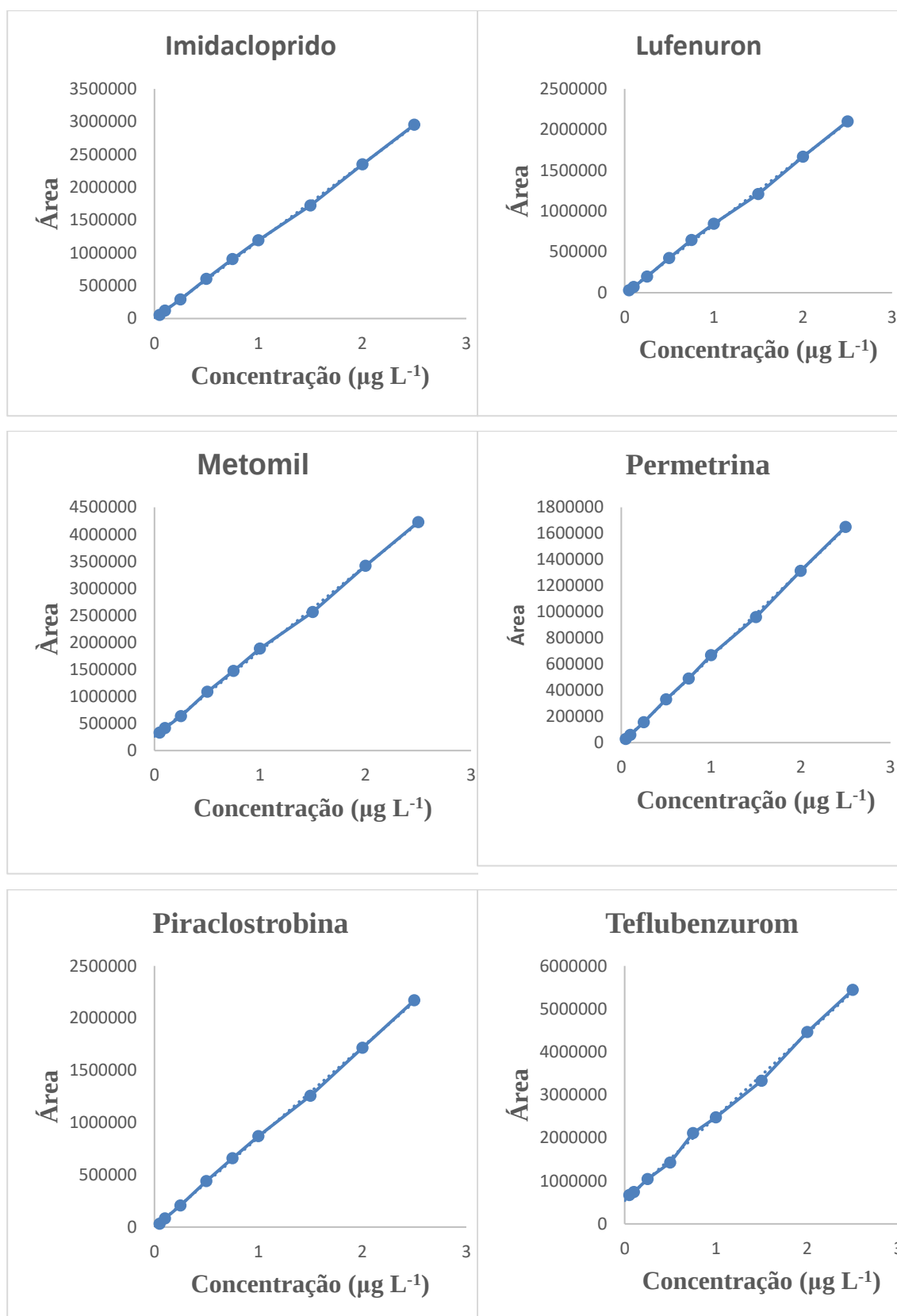
Através da equação da reta é possível avaliar a sensibilidade da técnica instrumental ao verificar o coeficiente angular. Quanto mais elevado for esse valor de coeficiente, maior é o indicativo de que o método é sensível para avaliar o analito. Através do coeficiente angular de cada equação é possível observar esse parâmetro satisfatório para a maioria dos analitos, apresentando menor sensibilidade para o acefato.

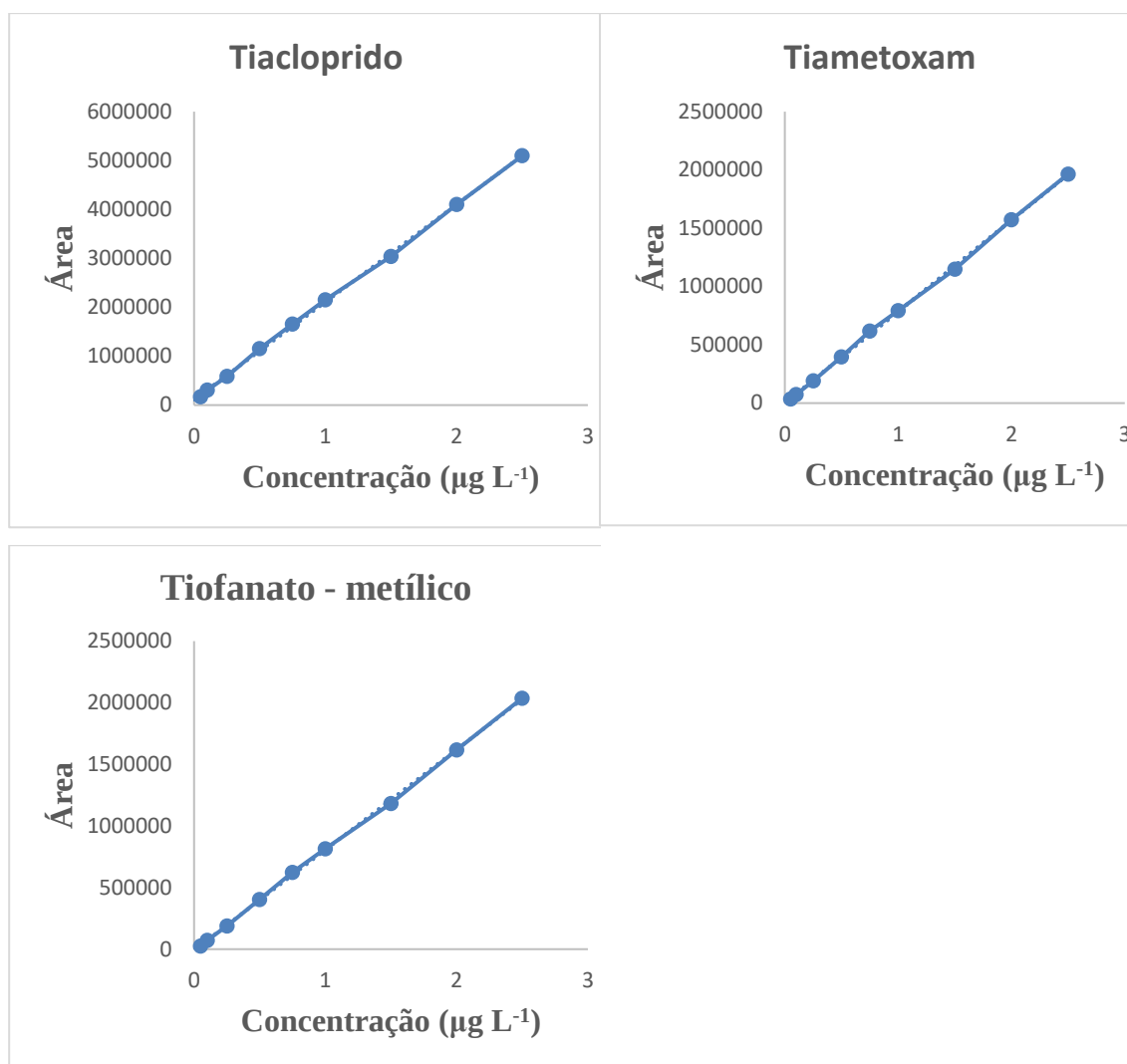
Com base nos resultados e nas curvas analíticas apresentadas na Figura 22 verifica-se que o método LC – DAD/UV-Vis permitiu o estudo dos pesticidas no intervalo de concentração que foi avaliado.

Figura 22: Curvas analíticas dos pesticidas em estudo para validação da sílica. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.





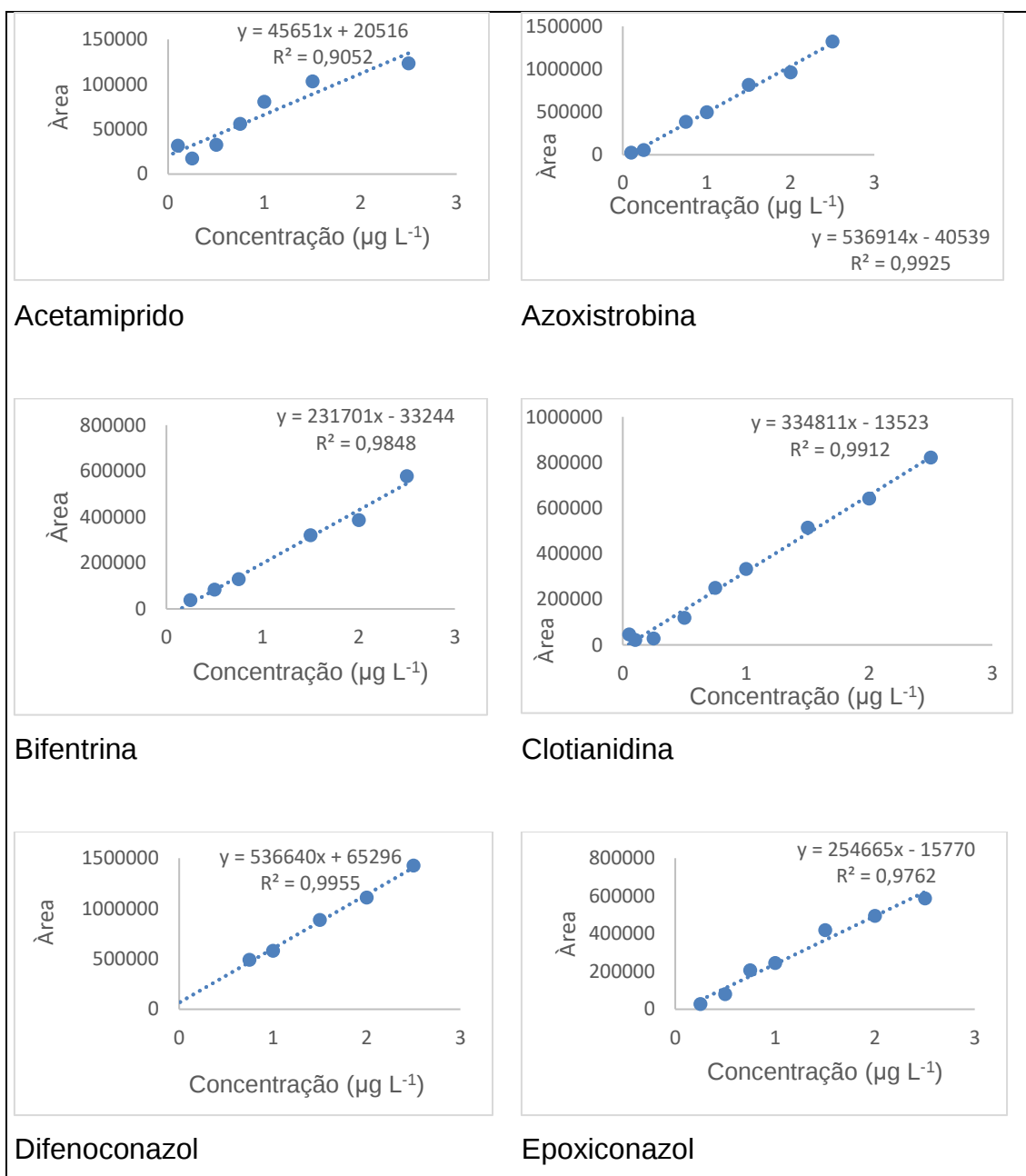


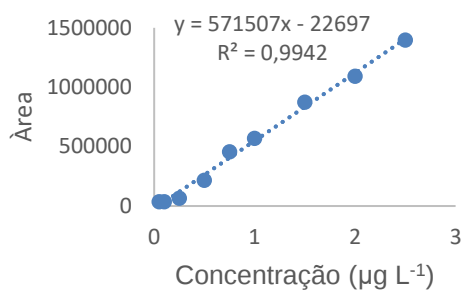


Os gráficos apresentados na Figura 22 através da correlação entre a concentração do analito e área do sinal obtido mostram que foi possível avaliar a linearidade do método desenvolvido para cada analito. Logo, pode-se considerar a obtenção de um método linear no intervalo de concentração.

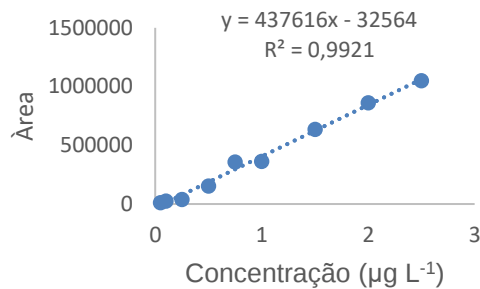
Enquanto, a Figura 23 apresenta a segunda curva analítica avaliada e os dados obtidos para os experimentos de validação do método ao utilizar o biocarvão.

Figura 23: Curva analítica para os analitos em estudo para validação com o biocarvão do sabugo de milho. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.

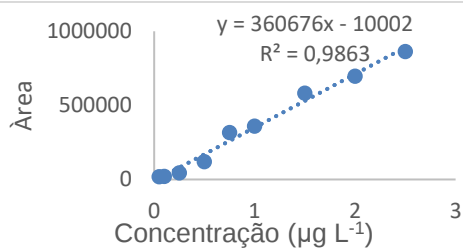




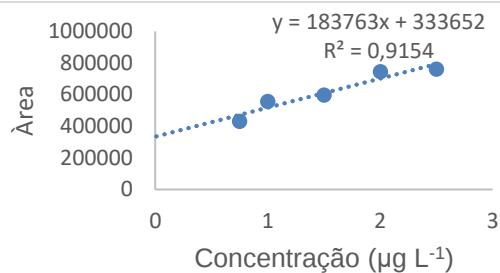
Imidacloprido



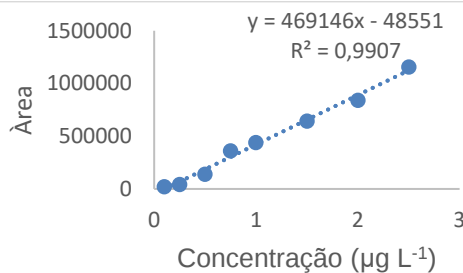
Malationa



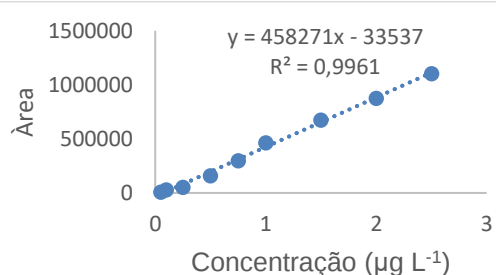
Piraclostrobina



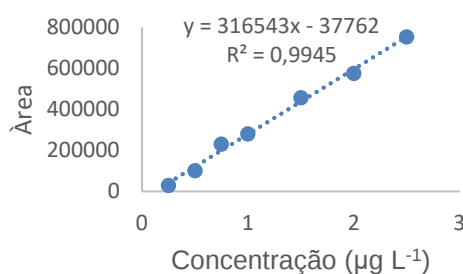
Teflubenzurom



Tiametoxam



Tiacloprido

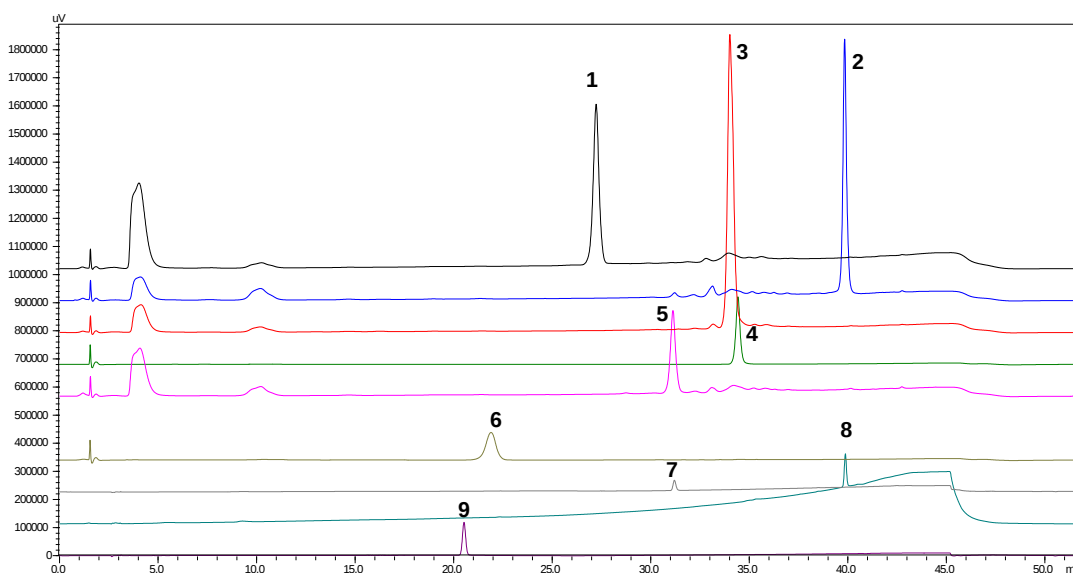


Tiofanato - metílico

Através da equação da reta foi avaliado a sensibilidade da técnica instrumental, verificando o coeficiente angular. Ao avaliar essa curva analítica, o método apresentou maior sensibilidade de resposta para detecção do imidacloprido, dentro do intervalo de concentração de 0,01 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Por problemas relacionados a coeluição dos analitos e alterações nas condições instrumentais de análise, conforme apresentado no tópico 4.10, nem todos os analitos avaliados nos ensaios de recuperação seguiram para a validação do método, tanto para a sílica quanto para o biocarvão. Pois a utilização da coluna com menores dimensões não permitiu a separação de todos os analitos em estudo e ao tentar ajustar o gradiente não favoreceu a separação, mas resultou em coeluição dos analitos. Logo, a condição mais adequada foi seguir com o gradiente de 5 – 100% de solvente orgânico e a Figura 24 apresenta o perfil de separação obtido para os analitos que seguiram nos demais experimentos de validação do método.

Figura 24: Cromatogramas com o perfil de separação dos analitos. Para as condições instrumentais de análise, utilizou-se gradiente exploratório 35 – 100 % B com tempo de análise em 52 minutos.



1-Azoxistrobina, 2- bifentrina, 3- difenoconazol, 4- piraclostrobina, 5- epoxiconazol, 6- tiofanato - metílico, 7- malationa, 8- teflubenzuron, 9- tiacloprido

5.11. Seletividade (Efeito Matriz)

A seletividade é a capacidade que o método possui para quantificar a presença do analito em detrimento de outros analitos e interferentes da matriz ou reagentes utilizados no método. Ou seja, o método é considerado seletivo quando consegue distinguir o analito de interesse em presença de outros [119,145]. Este parâmetro é avaliado através do efeito matriz que avalia possíveis interferentes que podem aumentar ou suprimir o sinal do analito [119,145,146].

O efeito matriz é avaliado através da razão dos coeficientes angulares das curvas no extrato e solvente [119]. Foram realizadas extrações do branco da amostra e as curvas no extrato foram elaboradas através de 50 µL do padrão de pesticidas em 450 µL do branco da amostra nas mesmas concentrações que foram utilizadas para os testes de linearidade. Se a seletividade não for assegurada, tanto a linearidade quanto a precisão serão afetadas [145].

O efeito matriz é avaliado através do RCA que é a razão dos coeficientes angulares (RCA) em que o valor igual a 1 é um indicativo que não ocorre uma influência da matriz e, assim, o método é seletivo. Quando o RCA é menor que 1, indica supressão de sinal do analito por interferentes, enquanto o RCA superior a 1 é um indicativo de aprimoramento de sinal do analito, mas que mesmo assim não comprometeu na determinação do analito em interesse [147,148]. A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos para o efeito matriz.

Tabela 15: Analitos, intervalo de concentrações, equação da reta para o extrato da matriz e solvente, coeficientes de determinação e razões entre coeficientes angulares para os pesticidas com a sílica.

Curva no Extrato da Matriz				Curva no Solvente				
Analitos	Intervalo de Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação da Reta	r^2	Analitos	Intervalo de Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação da Reta	r^2	RCA
Abamectina	0,05 – 2,5	$y = 5.10^5 - 9527,2$	0,997	Abamectina	0,05 – 2,5	$y = 6.10^5 + 11471$	0,983	0,89
Acetamiprido	0,05 – 2,5	$y = 1.10^5 + 20087$	0,988	Acetamiprido	0,05 – 2,5	$y = 6.10^5 - 45,345$	0,995	0,64
Azoxistrobina	0,01 – 2,5	$y = 4.10^6 + 2\text{E}+06$	0,977	Azoxistrobina	0,01 – 2,5	$y = 4.10^4 + 59977$	0,912	1,00
Bifentrina	0,025 – 2,5	$y = 2.10^6 + 1\text{E}+06$	0,968	Bifentrina	0,025 – 2,5	$y = 4.10^6 - 309957$	0,988	0,50
Clotianidina	0,05 – 2,5	$y = 7.10^4 + 18279$	0,945	Clotianidina	0,05 – 2,5	$y = 3.10^5 + 25076$	0,990	0,72
Difenoconazol	0,05 – 2,5	$y = 1.10^5 + 325848$	0,957	Difenoconazol	0,05 – 2,5	$y = 6.10^5 + 785873$	0,968	0,84
Epoxiconazol	0,01 – 2,5	$y = 1.10^7 + 2\text{E}+06$	0,990	Epoxiconazol	0,01 – 2,5	$y = 9.10^6 + 8.10^6$	0,978	1,11
Imidacloprido	0,025 – 2,5	$y = 4.10^6 - 50580$	0,980	Imidacloprido	0,025 – 2,5	$y = 3.10^6 + 158650$	0,984	0,75
Lufenurom	0,025 – 2,5	$y = 6.10^5 - 60824$	0,990	Lufenurom	0,025 – 2,5	$y = 6.10^5 - 31333$	0,984	1,01
Malationa	0,05 – 2,5	$y = 5.10^5 + 12622$	0,983	Malationa	0,05 – 2,5	$y = 1.10^6 - 85810$	0,994	0,59
Piraclostrobina	0,01 – 2,5	$y = 4.10^6 - 26449$	0,990	Piraclostrobina	0,01 – 2,5	$y = 3.10^6 - 32637$	0,983	1,33
Teflubenzuron	0,05 – 2,5	$y = 1.10^6 - 283648$	0,946	Teflubenzuron	0,05 – 2,5	$y = 2.10^6 - 68442$	0,978	0,50
Tiofanato-metílico	0,05 – 2,5	$y = 3.10^6 - 482078$	0,994	Tiofanato-metílico	0,05 – 2,5	$y = 3.10^6 - 562293$	0,976	1,00

Os resultados de efeito matriz apresentados na Tabela 15 indicam que ocorreu supressão de sinal do analito em até 41 % para a malationa e aprimoramento do sinal em 33 % para a piraclostrobina que podem ser oriundos de compostos da própria matriz. Além disso, a absorção dos analitos pode ser afetada pelos solventes da fase móvel, levando a aumentos ou diminuições na absorção de luz UV-Vis para cada analito [149]. Enquanto a Tabela 16 apresenta os resultados obtidos que permitiram a avaliação do efeito matriz para cada analito para a seletividade do método ao utilizar o biocarvão.

Tabela 16: Analitos, intervalo de concentrações, equação da reta para o extrato da matriz e solvente, coeficientes de determinação e razões entre coeficientes angulares para os pesticidas com o biocarvão.

Curva no extrato da matriz				Curva no solvente				
Analitos	Intervalo de concentração $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação da Reta	r^2	Analitos	Intervalo de concentração $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação da Reta	r^2	RCA
Azoxistrobina	0,1 – 2,5	$y = 5.10^5x + 1.10^5$	0.99	Azoxistrobina	0,1 – 2,5	$y=5.10^5x - 40539$	0.99	0.99
Bifentrina	0,25 – 2,5	$y = 2.10^5x - 2160$	0.95	Bifentrina	0,25 – 2,5	$y=2.10^5x - 33244$	0.98	1.08
Difenoconazol	0,25 – 2,5	$y = 3.10^5x + 531673$	0.93	Difenoconazol	0,25 – 2,5	$y=5.10^5x + 65296$	0.99	1.46
Epoxiconazol	0,25 – 2,5	$y = 2.10^5x - 7913,6$	0.95	Epoxiconazol	0,25 – 2,5	$y=2.10^5x - 15770$	0.97	0.88
Imidacloprido	0,1 – 2,5	$y = 2.10^5x + 250585$	0.91	Imidacloprido	0,1 – 2,5	$y=5.10^5x - 22697$	0.99	0.51
Malationa	0,01 – 2,5	$y = 3.10^5x + 82542$	0.96	Malationa	0,01 – 2,5	$y=4.10^5x - 32564$	0.99	0.77
Piraclostrobina	0,01 – 2,5	$y = 3.10^5x + 48687$	0.96	Piraclostrobina	0,01 – 2,5	$y=3.10^5x - 10002$	0.98	0.84
Tiacloprido	0,01 – 2,5	$y = 3.10^5x + 60668$	0.93	Tiacloprido	0,01 – 2,5	$y=4.10^5x - 33537$	0.99	0.78
Tiofanato-metílico	0,01 – 2,5	$y = 2.10^5x + 78844$	0.93	Tiofanato-metílico	0,01 – 2,5	$y=3.10^5x - 37762$	0.99	0.74

Avaliando a seletividade do método para o biocarvão, pode-se constatar que os resultados apresentados na Tabela 16 mostram que a maior supressão de sinal ocorreu para o imidacloprido com um efeito matriz de 49 %, indicando que interferentes da amostra podem ter atuado reduzindo o sinal do analito, enquanto o difenoconazol apresentou um aprimoramento de sinal do analito em 46 %. Os resultados mostram que mesmo com um efeito matriz para maioria dos analitos ainda foi possível identificar a presença deles em detrimento aos interferentes.

5.12. Exatidão e Precisão

Tanto a exatidão quanto a precisão são parâmetros que estão relacionados à concordância entre os resultados de medições replicadas com valores tidos como verdadeiros. A não obtenção de resultados aceitáveis pode estar relacionado a erros durante a análise que são oriundos de preparo inadequado da amostra, instabilidade do analito, supressão de sinal e outros fatores que podem interferir nos resultados [150].

A exatidão de um método analítico é medida através do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo e o valor aceito como verdadeiro. Este parâmetro deve contemplar três níveis de concentração dentro do intervalo da curva analítica, abrangendo os níveis baixo, médio e alto. Além de expressar o grau de concordância dos resultados obtidos levando em consideração o mesmo analista, mesmo equipamento e mesmas condições de trabalho [119].

A precisão está relacionada ao erro aleatório de um sistema de medição e é um componente da incerteza da medição. A precisão é medida através da repetibilidade que é avaliada com a precisão intradia, ou seja, ao longo de um dia de trabalho e a precisão intermediária que é avaliada em diferentes dias de ensaios não necessariamente consecutivos [119, 145].

Ao contrário da exatidão, a precisão não se relaciona a um valor de referência e sim, ao desvio padrão relativo (RSD), variância (s^2) ou coeficiente

de variação que precisa ser menor que 20 %. O método de extração foi otimizado utilizando o nível de fortificação de $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim, os testes de exatidão e precisão foram avaliados dentro das concentrações estabelecidas na curva analítica, nos níveis de concentração de 0,25; 0,50 e $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$, resultantes da resposta do analito, de modo a abranger níveis mais baixos em relação ao utilizado durante a otimização do método, mas sem comprometer a eficiência do mesmo ao utilizar a sílica como material adsorvente. Enquanto para o biocarvão foram utilizados os níveis de concentração de 0,05; 0,25 e $0,75 \mu\text{g L}^{-1}$.

A Tabela 17 apresenta os percentuais de recuperação obtidos e desvio padrão relativos para os três níveis de fortificação que foram avaliados para cada analito em relação ao adsorvente comercial e alternativo que foi avaliado.

Tabela 17: Valores de Recuperação média (%) e desvio padrão relativo (RSD %) avaliados em diferentes níveis de concentração para os ensaios de exatidão e precisão ao utilizar a sílica e o biocarvão do sabugo de milho.

Sílica				Biocarvão Sabugo de Milho			
Pesticida	Nível de fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)	Pesticida	Nível de fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação + RSD (%)	
Abamectina	0,25	54	6	Azoxistrobina	0,75	66	± 4
	0,50	47	5		0,25	83	± 2
	0,75	54	4		0,05	108	± 5
Acetamiprido	0,25	86	4	Bifentrina	0,75	45	± 7
	0,50	112	3		0,25	69	± 4
	0,75	98	5		0,05	40	± 4
Azoxistrobina	0,25	70	6	Difenoconazol	0,75	36	± 4
	0,50	112	3		0,25	30	± 6
	0,75	74	3		0,05	35	± 6
Bifentrina	0,25	56	8	Epoxiconazol	0,75	17	± 5
	0,50	68	4		0,25	100	± 4
	0,75	61	3		0,05	109	± 4
Clotianidina	0,25	67	3	Malationa	0,75	59	± 6
	0,50	65	2		0,25	64	± 4
	0,75	94	2		0,05	50	± 5

Difenoconazol	0,25	66	3	Piraclostrobina	0,75	77	±6
	0,50	70	4				
	0,75	74	5		0,25	70	±2
Epoxiconazol	0,25	97	4	Teflubenzurom	0,05	65	±4
	0,50	62	6		0,75	103	±3
	0,75	66	4		0,25	99	±4
Imidacloprido	0,25	111	5	Tiacloprido	0,05	77	±4
	0,50	83	2		0,75	45	±5
	0,75	77	7		0,25	98	±4
Lufenurom	0,25	77	5	Tiofanato- metílico	0,05	40	±4
	0,50	77	2		0,75	82	±6
	0,75	60	7		0,25	70	±3
Malationa	0,25	35	4		0,05	74	±3
	0,50	46	7				
	0,75	54	9				
Piraclostrobina	0,25	74	8				
	0,50	72	6				
	0,75	77	2				
Teflubenzurom	0,25	106	8				
	0,50	69	6				
	0,75	82	2				
Tiametoxam	0,25	70	8				
	0,50	73	6				
	0,75	72	2				
Tiofanato- metílico	0,25	74	2				
	0,50	76	8				
	0,75	83	4				

Os resultados mostraram exatos para os três níveis de fortificação avaliados com percentuais de recuperação acima de 70 %, com exceção da abamectina e malationa, que tiveram resultados abaixo, mas que ainda apresentarm RSD de até 20 %.

A precisão está relacionada à concordância entre os valores medidos das replicadas através de condições específicas e a proximidade com os erros de medição, de modo a obter resultados abaixo de 20 %. Pode ser avaliada através da precisão intermediária e intradia, em que a primeira se relaciona ao grau de concordância dos resultados através de diferentes condições operacionais (analista, laboratório, equipamentos ou dias diferentes) e a segunda está relacionada a repetibilidade do método ao avaliar a dispersão dos resultados ao longo de um dia de trabalho [119,145].

A precisão intermediária foi avaliada através do nível médio (Nível 2) de concentração $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ para o biocarvão, mas com ensaios em quintuplicata nas condições de mesmo analista, equipamento, laboratório, mas em dias distintos de execução. Enquanto a precisão intradia (repetibilidade) foi avaliada nas mesmas condições, mas com avaliação da execução dos testes ao longo de um dia de trabalho.

A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos para os testes de precisão nas condições que foram avaliadas tanto para a sílica quanto para o biocarvão.

Tabela 18: Percentuais de Recuperação média (%) e Desvio Padrão Relativo (DPR %) avaliados para a precisão intermediária e repetibilidade (intradia)

Sílica			Biocarvão do Sabugo de Milho		
Pesticidas	Precisão Intradia (%) (n = 5)	Precisão interdia (%) (n = 15)	Pesticidas	Precisão Intradia (%) (n = 5)	Precisão interdia (%) (n = 15)
Abamectina	47 ± 5	59 ± 3	Azoxistrobina	113 ± 7	104 ± 2
Acetamiprido	112 ± 3	102 ± 3	Bifentrina	69 ± 5	73 ± 6
Azoxistrobina	73 ± 3	70 ± 4	Difenoconazol	70 ± 5	69 ± 5
Bifentrina	68 ± 4	69 ± 3	Epoxiconazol	71 ± 9	66 ± 4
Clotianidina	65 ± 2	67 ± 3	Malationa	64 ± 8	66 ± 6
Difenoconazol	70 ± 4	71 ± 5	Piraclostrobina	70 ± 5	68 ± 5
Epoxiconazol	92 ± 6	96 ± 6	Teflubenzurom	99 ± 4	93 ± 3
Imidacloprido	83 ± 2	93 ± 5	Tiacloprido	98 ± 5	102 ± 5
Lufenurom	77 ± 2	83 ± 3	Tiofanato-metílico	70 ± 3	72 ± 3
Malationa	46 ± 7	48 ± 4			
Piraclostrobina	77 ± 2	81 ± 4			
Teflubenzurom	69 ± 6	70 ± 3			
Tiametoxam	73 ± 6	72 ± 3			
Tiofanato-metílico	55 ± 8	53 ± 6			

Analisando os resultados da Tabela 18 é possível confirmar que o método foi preciso para as condições avaliadas ao longo de um dia de trabalho ou através de ensaios realizados em dias distintos, pois apresentaram RSD abaixo de 20 % e não apresentaram alterações significativas nos resultados.

5.13. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O Limite de Detecção (LD) é a menor quantidade ou concentração de analito presente na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Este parâmetro pode ser avaliado através da relação sinal/ruído, percepção visual, estimativa a partir da curva analítica e estimativa a partir do desvio padrão do branco [119,145,146].

Enquanto o Limite de Quantificação (LQ) está relacionado a menor quantidade do analito presente na amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis. Este parâmetro também pode ser avaliado com base nas estimativas apresentadas do parâmetro anterior.

Neste trabalho foi adotado a avaliação do LD e LQ através da estimativa a partir da curva analítica, em que o LD foi avaliado através da seguinte relação:

$$LD = 3,3 s/b$$

Em que, s = desvio padrão da resposta do branco e b = Coeficiente angular da curva analítica

Já o LQ foi estimado através da seguinte equação:

$$LQ = 10 s/b$$

Para estimativa do desvio padrão (s) em ambos os parâmetros foram calculadas a partir das respostas obtidas através das menores concentrações dos testes de exatidão e os coeficientes angulares foram obtidos através da equação da reta do extrato da matriz que foi utilizada para avaliação da seletividade do método desenvolvido.

A Tabela 19 apresenta os resultados apresentados para o LD e LQ dos analitos em estudo.

Tabela 19: Limite de detecção e quantificação obtidos pelo método da curva de calibração com concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Sílica			Biocarvão do Sabugo de Milho		
Pesticidas	Limite de Detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pesticidas	Limite de Detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de Quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Abamectina	0,32	0,96	Azoxistrobina	0,31	0,93
Acetamiprido	0,31	0,93	Bifentrina	0,22	0,66
Azoxistrobina	0,88	1,53	Difenoconazol	0,32	0,96
Bifentrina	0,29	0,87	Epoxiconazol	0,30	0,90
Clotianidina	0,38	1,14	Malationa	0,29	0,89
Difenoconazol	0,60	1,80	Piraclostrobina	0,27	0,81
Epoxiconazol	0,26	0,78	Teflubenzurom	0,40	1,20
Imidacloprido	0,27	0,79	Tiacloprido	0,28	0,86
Lufenuron	0,31	0,93	Tiofanato-metílico	0,31	0,89
Malationa	0,41	0,12			
Piraclostrobina	0,30	0,90			
Teflubenzurom	0,42	1,26			
Tiametoxam	0,40	1,20			

Os resultados apresentados na Tabela 19 mostram que o LD variou entre 0,26 – 0,60 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto o LQ variou entre 0,78 – 1,23 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a sílica e o LD variou entre 0,22 – 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o LQ entre 0,66 – 1,20 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o biocarvão. Assim, com exceção do epoxiconazol, foi possível obter baixos LD e LQ ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho como material adsorvente do método de extração. Até o momento deste trabalho não existem normativas estabelecendo o limite máximo de pesticidas em alimentos pastosos para bebês.

O LD e LQ dos métodos desenvolvidos neste trabalho foram comparados com outros trabalhos disponíveis na literatura, conforme é apresentado na Tabela 20.

Tabela 20: Comparação do método desenvolvido neste trabalho com demais métodos analíticos para análise de pesticidas em alimentos pastosos infantis 123

Método Analítico	Composição da Matriz	Pesticida	Grupo Químico	Recuperação	LD/LQ	Referência
-UHPLC-QqQ-MS	Carne	Alacloro	Multiclasse	96 – 100%	0.0005–0.05 µg L ⁻¹ /	[8]
	Peixes	Ametrina			0.01 – 0.1 µg L ⁻¹	
	Cereais	Atrazina				
		Carbofurano				
		Clorpirifós				
		Outros				
QuEChERS/GC-MS	Frutas	Azoxistrobina	Organofosforado	88 – 114%	0.005–0.01 µg L ⁻¹ /	[34]
		Atrazina	Triazina		0.01–0.05 µg L ⁻¹	
		Difenoconazol	Piretróide			
		Dimetoato				
		Diuron				
		Malationa				
		Outros				
QuEChERS-DLLME SALLE/UHPLC-MS/MS	Frutas	Atrazina	Piretróides	70 – 121%	0.005–0.01 µg L ⁻¹ /	[106]
		Azoxistrobina			0.01–0.05 µg L ⁻¹	
		Clorpirifós				
		Diuron				
		Dimetoato				
		Outros				

DLLME – GC-IT/MS	-	Bromofos Clorpirifós Malationa Metacrifos Outros	Organofosforados	90 – 110%	0.0002–0.0047 µg L ⁻¹ / 0.0023–0.0085 µg L ⁻¹	[107]
QuEChERS – GC-Q-Orbitrap	Frutas Vegetais Carne Cereais	Bifentrina Bromopropilato Permetrina Procimidona	Multiclasse	87 – 120%	0.00005 µg L ⁻¹ 0.002–0.01 µg L ⁻¹	[54]
QuEChERS – LC – GC – MS/MS	Frutas Vegetais	Acefato Acetamiprido Aldicarb Azoxistrobina Outros	Multiclasse	70 – 108%	0.001–0.011 µg L ⁻¹	[50]
µ-MSPD/HPLC-DAD/UV-VIS	Frutas Carne Vegetais	Abamectina Acetamiprido Difenoconazol Lufenuron Outros	Multiclasse	62 – 112%	0,26 – 0,60 µg L ⁻¹ / 0,78 – 1,23 µg L ⁻¹ / 0,22 – 0,40 µg L ⁻¹ / 0,66 – 1,20 µg L ⁻¹	Este trabalho

O método analítico desenvolvido neste trabalho foi comparado com outros métodos da literatura e, ao analisar a Tabela 20 foi possível constatar que a proposta de preparo da amostra e extração dos analitos por μ -MSPD apresentou baixos valores de recuperação tanto ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho quanto ao uso da sílica ao comparar com os demais métodos disponíveis na literatura.

Apesar do reduzido número de analitos que foram validados ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho como material adsorvente do método de extração em detrimento da sílica, tanto este material alternativo quanto o adsorvente comercial favoreceu a extração de analitos pertencentes a sete diferentes grupos químicos (Estrobilurina, piretróide, triazol, organofosforado, benzoilureia, neonicotinóide e benzimidazol). O que ressalta a eficiência da utilização do material carbonáceo na μ -MSPD.

Em seguida, após validação, os métodos desenvolvidos foram aplicados em amostras reais de diferentes marcas e composições para avaliar a presença destes pesticidas em estudo.

5.14. Aplicação em Amostras Reais

A proposta de miniaturização da MSPD desenvolvida neste trabalho tanto para a sílica quanto para o biocarvão foram aplicadas em quatorze amostras de alimentos pastosos para bebês a base de frutas, cereais e vegetais que são comercializados em cidades do estado de Sergipe, Brasil. Mas não foram detectados nenhum dos analitos em estudo nas amostras avaliadas no mesmo tempo de retenção dos analitos, conforme é apresentado na Tabela 21.

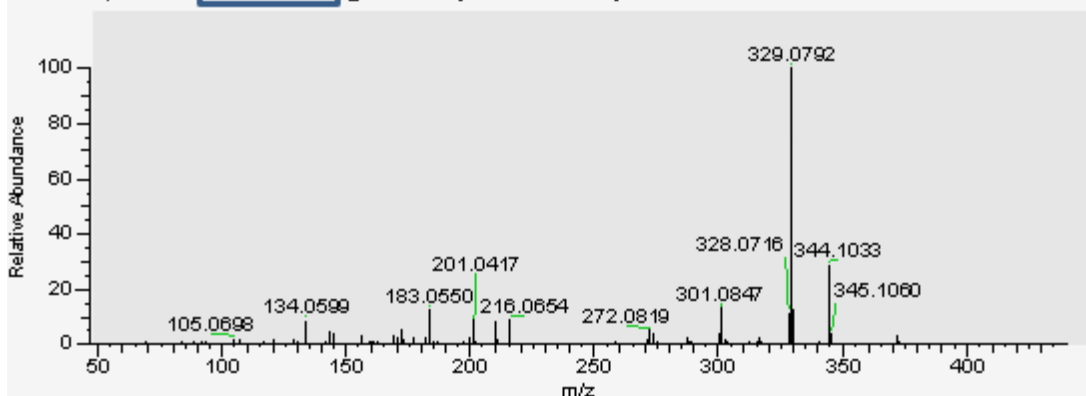
Tabela 21: Aplicação do método em amostras reais

	Azoxistrobina	Bifentrina	Difenoconazol	Epoxiconazol	Malationa	Piraclostrobina	Teflubenzurom	Tiacloprido	Tiofanato - metílico
Amostra 1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 8	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 11	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 12	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 13	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Amostra 14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

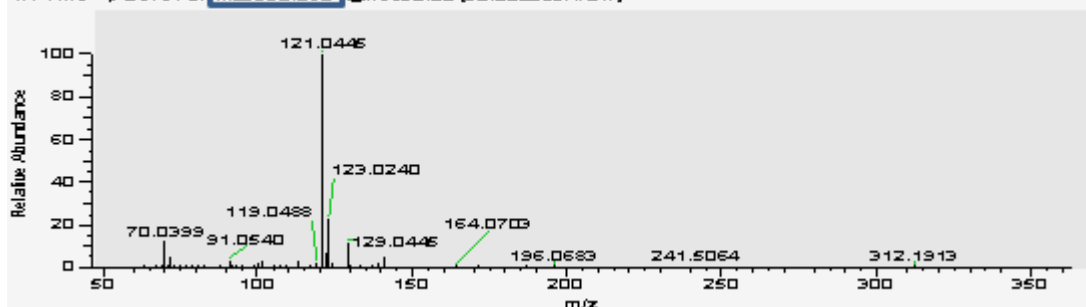
N.D. = Não detectado

Alguns analitos como a azoxistrobina, difenoconazol, epoxiconazol, malationa e piraclostrobina foram monitorados através da m/z (razão massa/carga) ao utilizar a cromatografia líquida com espectrometria de massas utilizando o analisador de massas do tipo Orbitrap no modo SIM com energia de colisão de 30 V, mas não foi confirmada a presença desses analitos nas amostras avaliadas, conforme mostra alguns dos espectros abaixo.

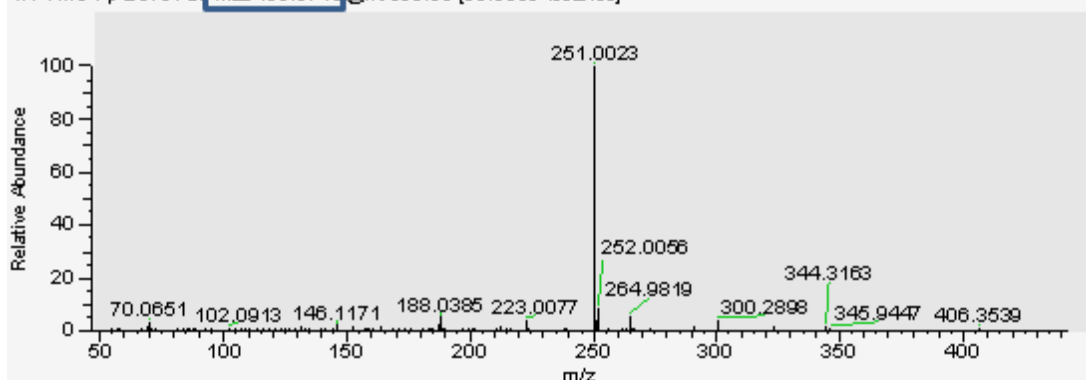
20260602_Amostra12_R2#2404 RT: 6.83 AV: 1 NL: 1.76E+006
T: FTMS + p ESI d Full ms2404.1238 @hcd30.00 [50.0000-433.2263]



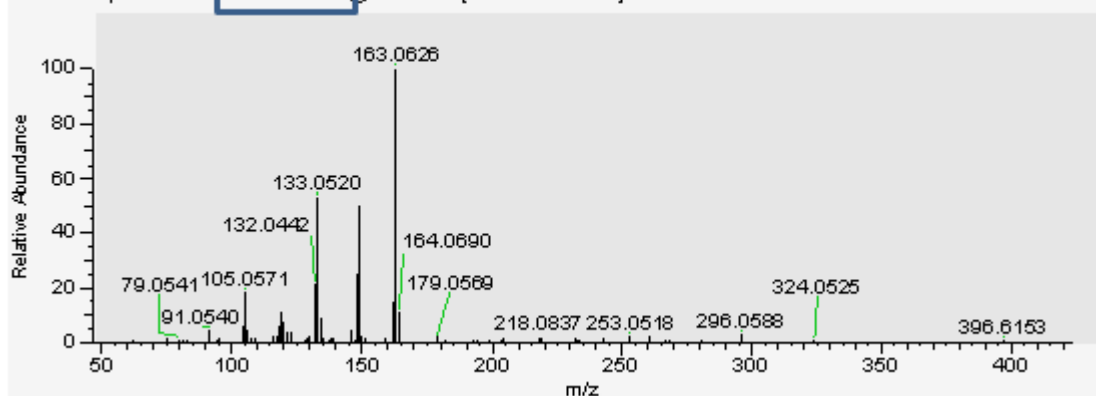
20260602_Amostra13_R1#2449 RT: 7.32 AV: 1 NL: 0
T: FTMS + p ESI d Full ms2330.0801 @hcd30.00 [50.0000-357.7017]



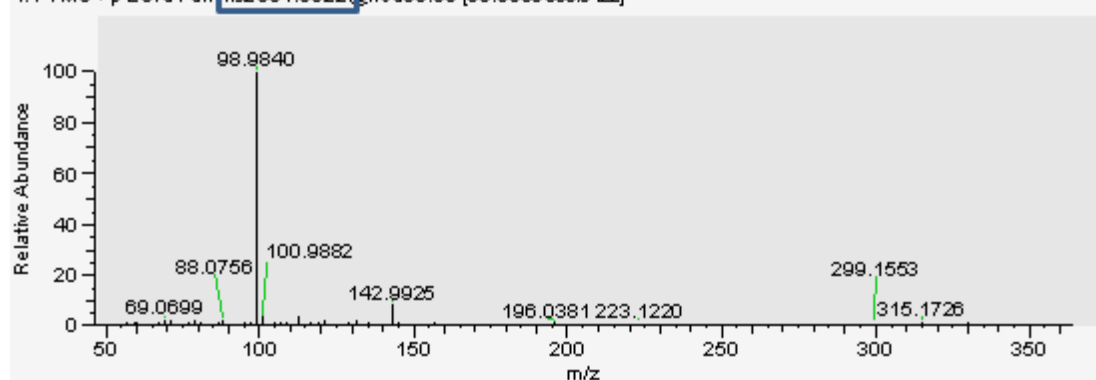
20260602_Amostra13_R2#2982 RT: 7.87 AV: 1 NL: 5.90E+006
T: FTMS + p ESI d Full ms2406.0719 @hcd30.00 [50.0000-435.2133]



20260602_Amostra5_R1#2825 RT: 7.70 AV: 1 NL: 2.07E+006
T: FTMS + p ESI d Full ms2 388.1058 (2hcd30.00 [50.0000-416.8879])



20260602_Amostra12_R2#2127 RT: 6.97 AV: 1 NL: 6.57E+005
T: FTMS + p ESI d Full ms2 331.0022 (2hcd30.00 [50.0000-358.6422])



m/z= 404,12 – Azoxistrobina, m/z= 330,08 – Epoxiconazol, m/z= 406,07 - Difenconazol, m/z= 331,04 - Malationa, m/z= 388,10 – Piraclostrobina

Apesar de não ter determinado a presença dos analitos em estudo acima do LD e LQ do presente método nas amostras avaliadas, ressalta-se a necessidade em continuar os estudos nesta matriz complexa e ampliar o método para análise de outros pesticidas pertencentes a variados grupos químicos e que são utilizados nas diferentes culturas.

6. CONCLUSÃO

Com base nos experimentos realizados, pode-se concluir que foi possível obter as condições instrumentais de análise por meio dos gradientes de eluição (35-100 %) composto por metanol:água com vazão de fase móvel 1,0 mL min⁻¹, coluna Shim-pack UC X RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) e (5-100 %) composto

por metanol:água com vazão de fase móvel 0,3 mL min⁻¹, coluna Shim-pack UC X RP C18 (150 x 2,1 mm, 3 µm) que permitiu a avaliação dos pesticidas em 52 minutos. A cromatografia líquida com o detector DAD/UV-Vis permitiu a análise da abamectina, acetamiprido, azoxistrobina, bifentrina, clotianidina, difenoconazol, epoxiconazol, imidacloprido, lufenuron, malationa, piraclostrobina, teflubenzurom, tiametoxam e tiofanato-metílico.

Para o procedimento de extração, foi possível propor dois métodos de MSPD miniaturizados utilizando o adsorvente alternativo biocarvão do sabugo de milho nas condições de 60 mg de biocarvão, 40 mg de alimentos para bebês com nível de fortificação de 1 µg mL⁻¹ e 1000 µL de metanol e para o adsorvente comercial sílica foram utilizadas as mesmas condições, mas com 1000 µL de MeOH/EtOAc (50:50, v/v) como solvente de eluição que mostrou eficiência na extração dos analitos com recuperação acima de 60 %.

A análise por agrupamento utilizando a PCA e HCA foram utilizadas para avaliar a eficiência de materiais carbonáceos de diferentes biomassas para adsorção dos analitos e foi possível constatar que o biocarvão do sabugo de milho melhor favoreceu o agrupamento dos analitos com base no perfil de semelhança dos resultados obtidos.

A µ-MSPD foi comparada nas mesmas condições com a MSPD convencional e os resultados mostraram coerência em termos da eficiência de extração, com proximidade nos valores de recuperação na faixa de 70 – 120 %, ressaltando a necessidade em avaliar novas proporções amostra/adsorvente de modo a aumentar a recuperação dos analitos.

A validação do método foi efetuada ao avaliar os parâmetros de linearidade e sensibilidade através das curvas analíticas dos pesticidas foi possível obter coeficientes de correlação acima de 0,99, conforme estabelecido pela ANVISA e INMETRO, indicando que se trata de um método linear e sensível para os analitos em estudo, além de verificar a seletividade, precisão, exatidão e baixos LD e LQ para os analitos avaliados.

Após validação, o método analítico foi aplicado em quatorze amostras de alimentos infantis a base de frutas, vegetais e carnes, mas não foram

encontrados os analitos em estudo nas amostras avaliadas que estivessem acima do limite para o método desenvolvido neste trabalho.

Por fim, pode-se concluir que os resultados obtidos foram satisfatórios para uma proposta de μ -MSPD tanto ao utilizar o biocarvão do sabugo de milho quanto ao utilizar a sílica como adsorvente comercial e, em ambas as condições, utilizando menores quantidades de amostra, adsorvente e volume de solvente orgânico para eluição dos analitos com o uso de ponteiras de micropipeta, indicando que foi possível obter um método miniaturizado.

Além disso, o desenvolvimento dos métodos foi eficiente para as propostas deste trabalho e o levantamento da literatura apresentado mostra o déficit de trabalhos com proposta de miniaturização de métodos de extração de analitos para esta matriz complexa. Logo, ressalta-se a necessidade de monitoramento da presença de pesticidas nestes alimentos e de uma legislação no Brasil estabelecendo o limite máximo de resíduos para os pesticidas nos alimentos para bebês, devido a toxicidade desses compostos.

7. PERSPECTIVAS DO TRABALHO

Mediante os resultados, o presente trabalho tem as seguintes perspectivas:

- Comparar o método de extração desenvolvido neste trabalho com o QuEChERS;

8. REFERÊNCIAS

[1] Diretrizes da OMS para alimentação complementar de lactentes e crianças pequenas de 6 a 23 meses de idade. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2023. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO . ISBN-13: 978-92-4-008186-4.

- [2] Treviño, M.J.S., Coelho, M.P., Lopez, A.G.R., Zarazúa, S., Madureira, L.A.S., Majchrzak, T., Wasylka, J.P. How pesticides affect neonates? Exposure, health implications and determination of metabolites. *Science of the Total Environment* 856, 158859, 2023.
- [3] Nougadère, A., Sirot, V., Cravedi, J.P., Vasser, P., Freidt, C., Fussel, R.J., Hu, R., Leblanc, J.C., Jean, Julien, Riviere, G., Sarda, X., Merlo, M., Hulin, M. Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and Young children – Results of the French infant total diet study. *Environment International* 137, 105529, 2020.
- [4] Moazzen, M., Shariatifar, N., Arabameri, M., Hosseini, H., Ahmadloo, M. Measurement of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Baby Food Samples in Tehran, Iran With Magnetic – Solid – Phase – Extraction and Gas-Chromatography/Mass Spectrometry Method: A Health Risk Assessment. *Frontiers in Nutrition*, v.9, p.833158, 2022.
- [5] Sharma, A.K., Sharma, D., Chopra, A.K. An overview of pesticides in the development of agriculture crops. *Journal of Applied and Natural Science*. 101-109, 2020.
- [6] Sun, S., Zhang, C., Hu, R. Determinants and overuse of pesticides in grain production a comparison of Rice, maize and wheat in China. *China Agricultural Economic Review*. Vol. 12, n.2, p. 367-379, 2020.
- [7] Narendan, S., Meyyanathan, S. Sample treatment and determination of pesticide residues in potato matrices: A review. *Potato Research*, 1-21. 2018.
- [8] Pérez, M.L.G., González, R.R., Vidal, J.L.M., Frenich, A.G. Analysis of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to orbitrap high resolution mass spectrometry. *Talanta* 131, 1-7, 2015.
- [9] Vinãs, P., Campillo, N., Castillo, N. M., Córdoba, M.H., Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Chromatography A* 1216, 140-146, 2009.

- [10] Georgakopoulos, P., Zachari, R., Mataragas, M., Athanasopolus, P., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N. Optimization of octadecyl (C18) sorbent amount in QuEChERS analytical method for the accurate organophosphorus pesticide residues determination in low-fatty baby foods with response surface methodology. *Journal Food Chemistry* 128, 536-542, 2011.
- [11] Liu, J., Ji, C., Liu, X., Li, X., Wu, H., Zeng, D. Fe₃O₄ nanoparticles as matrix solid-phase dispersion extraction adsorbents for the analysis of thirty pesticides in vegetables by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 1165, 122532, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122532>.
- [12] Georgakopoulos, P., Zachari, R., Mataragas, M., Athanasopoulos, P., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N. *Food Chemistry* 128, 536-542, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.042>.
- [13] Grzeskowiak, A.Z., Grzeskowiak, T., Ligor, M., Frankowski, R. Achievements and Challenges of Matrix Solid-phase dispersion usage in the extraction of plants and food samples. *Processes*, 12 (6), 1146, 2024. <https://doi.org/10.3390/pr12061146>.
- [14] Mujahid M, Latif S, Ahmed M, Shehzadi W, Imran M, Ahmad M, Asari A, Jehangir M and Mahmud Z. Modified matrix solid phase dispersion-HPLC method for determination of pesticide residue in vegetables and their impact on human health: a risk assessment. *Frontiers in Chemistry*. 10:1084350, 2022. doi: 10.3389/fchem.2022.1084350.
- [15] Freitas, S.S., Serafim, F.A.T., Lanças, F.M. Determination of target pesticide residues in tropical fruits employing matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction followed by high resolution gas chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Vol. 29, n.5, 1140-1148, 2018. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180041>.
- [16] Płotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M., Namieśnik, J., Miniaturized solid-phase extraction techniques. *Trends in Analytical Chemistry*. 73, 19–38, 2015.

- [17] Rutkowska, M., Płotka-Wasyłka, J., Sajid, M., Andruch, V., Liquid–phase microextraction: a review of reviews. *Microchemical Journal*, 149, 103989, 2019.
- [18] Burato, J.S.S., Medina, D.A.V., Toffoli, A.L., Maciel, E.V.S., Lanças, F.M. Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. *Journal of Separation Science*, 43:2002-225, 2020.
- [19] Nascimento, R.S., Santos L.F.S., Navickiene, S. Effectiveness of water Hyacinth biochar as a potential adsorbent in solid-phase extraction together with liquid Chromatography-Mass spectrometry for determination of pesticide residues in lager beer. *Food Analytical Methods*. 17:1183-1188, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12161-024-02639-0>.
- [20] Singh, M., Rano, S., Roy, S., Mukherjee, P., Dalui, S., Gupta, G.K., Kumar, S., Mondal, M.K. Characterization of organophosphate pesticide sorption of potato peel biochar as low cost adsorbent for chlorpyrifos removal. *Chemosphere* 297, 134112, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134112>.
- [21] Yan, J., Quan, G. 1 dez. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 205, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32827961>.
- [22] Holanda, M.A.S., Menezes, J.M.C., Coutinho, H.D.M., Teixeira, R.N.P. *Journal of Environmental Management* 345, 118719, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118719>.
- [23] Yan, J., Quan, G. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 205, 2020 . Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32827961>.
- [24] Eidelman, A. I., & Schanler, R. J. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*, 129(3), e827–e841, 2012.
- [25] FAO/WHO Standard for processed cereal-based foods for infants and young children. CODEX STAN 74-1981, Internatio, 2017.
- [26] Roess, A. A., Jacquier, E. F., Catellier, D. J., Carvalho, R., Lutes, A. C., Anater, A. S., & Dietz, W. H. Food consumption patterns of infants and toddlers:

Findings from the Feeding Infants and Toddlers Study (FITS). *The Journal of Nutrition*, 148(suppl_3), 1525S–1535S, 2018.

[27] Jeelani, P., Ghai, A., Saikia, N., Kathed, M., Mitra, A., Krishnan, A., Sharma, A., Chidambaram, R. Baby Foods Based on Cereals. In: Gutiérrez, T. (eds) *Food Science, Technology and Nutrition for Babies and Children*. Springer, Cham, p.59-97, 2020.

[28] Viñas, P., Campillo, N., Castillo, N.M., Córdoba, M.H. Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 140-146, 2009.

[29] Calabretti, A., Calabrese, M., Campisi, B., Bogoni, P. Quality and safety in commercial baby foods. *Journal of Food and Nutrition Research*, vol 5, n. 8, 587-593, 2017.

[30] Paiva, E.L., Morgano, M.A., Bragotto, A.P.A. Occurrence and determination of inorganic contaminants in baby food and infant formula. *Current Opinion in Food Science*, 30:60-66, 2019.

[31] Piacentini, K.C., Ferranti, L.S., Pinheiro, M., Bertozzi, B.G., Rocha, L.O. Mycotoxin contamination in cereal-based baby foods. *Current Opinion in Food Science*, 30:73-78, 2019.

[32] Nobile, M., Arioli, F., Pavlovic, R., Ceriani, F., Lin, S.K., Panzeri, S., Villa, R., Chiesa, L.M. Presence of emerging contaminants in baby food. *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 37, n. 1, 131-142, 2020.

[33] Lambert, M., Inthavong, C., Desbourdes, C., Hommet, F., Sirot, V., Leblanc, J.C., Hulin, M., Guérin, T. Levels of furan in foods from the first French Total Diet Study on infants and toddlers. *Journal Food Chemistry*, 266, 381–388, 2018.

[34] Petrarca, M.H., Fernandes, J.O., Godoy, H.T., Cunha, S.C. Multiclass pesticide analysis in fruit-based baby food: A comparative study of sample preparation techniques previous to gas chromatography-mass spectrometry. *Journal Food Chemistry* 212, 528-536, 2016.

- [35] Hulin, M., Bemrah, N., Nougadère, A., Volatier, J. L., Sirot, V., & Leblanc, J. C. Assessment of infant exposure to food chemicals: The French total diet study design. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(7), 1226–1239, 2014.
- [36] Labord, A., Tomasina, F., Bianchi, F., Bruné, M. N., Buka, I., Comba, P., & Landrigan, P.J. Children's health in Latin America: The influence of environmental exposures. *Environmental Health Perspectives*, 123(3), 201–209, 2015.
- [37] Nougadère, A., Sirot, V., Cravedi, J.P. Vasseur, P., Feidt, C., Fussell, R.J., Hulin, M. Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and young children—results of the French infant total diet study. *Journal Environment International*, 137, 105529, 2020.
- [38] Stepán, R., Tichá, J., Hajslová, J., Kovalczuk, T., Kocourek, V. Baby food production chain: Pesticide residues in fresh apples and products. *Food Additives & Contaminants*, 22, 1231–1242, 2005.
- [39] Torović, L., Vuković, G., Dimitrov, N. Pesticide active substances in infant food in Serbia and risk assessment. *Food Additives & Contaminants. Part B*, 14, 30–39, 2020.
- [40] Mielech, A., Jakubik, A.P., Socha, K. Assessment of the risk of contamination of food for infants and toddlers. *Nutrients*, 13, 2358, 2021.
- [41] Wang X, Wang L, Li F, Teng Y, Ji C, Wu H. Toxicity pathways of lipid metabolic disorders induced by typical replacement flame retardants via data-driven analysis, in silico and in vitro approaches. *Chemosphere* 287(Pt 4):132419,132419, 2022.
- [42] Patisaul HB, Behl M, Birnbaum LS, Blum A, Diamond ML, Rojello Fernandez S, Hogberg HT, Kwiatkowski CF, Page JD, Soehl A, Stapleton HM. Beyond cholinesterase inhibition: developmental neurotoxicity of organophosphate ester

flame retardants and plasticizers. *Environmental Health Perspectives* 129(10):105001, 2021.

[43] Wu, H., Zhou, M., Zheng, B., Song, N., Wei, D., Lei, C., Sun, N., Qian, M. Selective accelerated solvent extraction for multi-residue analysis of organophosphate esters in cereal-based baby food. *Food Analytical Methods*, 15:2994-3002, 2022.

[44] European Comission. Directiva 2006/125/CE Concerning cereal-based foods intended for infants and Young children. *Jornal Oficial da União Européia*. 05 de dezembro de 2006.

[45] Hercegová, A., Domotorová, M., Matisová, E. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, 1153, 54-73, 2007.

[46] Singh, S., Rawat, M., Malyan, S.K., Singh, R., Kumar, V., Singh, K., Kashyap, S., Kumar, S., Sharma, M., Panday, B.K., Pandey, R.P. Global distribution of pesticides in freshwater resources and their remediation approaches. *Journal of Environmental Research*, 225, 115605, 2023.

[47] Alcântara, D.B., Fernandes, T.S.M., Nascimento, H.O., Lopes, A.M., Menezes, M.G.G., Lima, A.C.A., Carvalho, T.V., Grinberg, P., Milhome, M.A.L., Oliveira, A.H.B., Becker, H., Zocolo, G.J., Nascimento, R.F. Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in diferente types of fruits: A nover view from the last decade. *Journal Food Chemistry*, v. 298, p.124958, 2019.

[48] Prata, R., Ruiz, L.R., Petrarca, M.H., Godoy, H.T., Frenich, A.G., González, R.R. Targeted and non-targeted analysis of pesticides and aflatoxins in baby foods by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry. *Journal Food Control*, v.139, p.109072, 2022.

- [49] Atlas dos agrotóxicos 2024. Disponível em: <<https://br.boell.org/sites/default/files/2024-05/240416-atlas-do-agrotoxico-2024-segunda-edicao.pdf>> Acesso em 01 de janeiro de 2025.
- [50] Isci, G., Golge, O., Kabak, B. Infant and toddler health risks associated with pesticide residue exposure through fruit and vegetable based baby food. *Journal of Food Composition and Analysis* 137, 106870, 2025.
- [51] ANVISA. Monografias de Agrotóxicos. Disponível em:<<https://bit.ly/2YgxJt2>>. Acesso em: 04 de janeiro de 2025.
- [52] Fabunmi, Oluwatobi, "A More Efficient Method for Extracting and Analyzing Pesticides in Baby foods". Master of Science in Chemical Sciences Theses. 24, 2019.
- [53] Lozano, A., Ucles, S., Ferrer, C., and Alba, A. R.F. Pesticide residues anlysis in fruit and vegetable based baby foods using GC-Orbitrap MS. *Journal of AOAC International*, vol. 101, n. 2, 2018.
- [54] Prata, R., Ruiz, R.L., Nascimento, L, E, S., Petrarca, M.H., Godoy, H.T., Frenich, A.G., Arrebola, F.J. Method validation for GC-measurable pesticides and PAHs in baby foods using QuEChERS-based extraction procedure. *Journal of Food Composition and Analysis* 129, 106062, 2024.
- [55] Radowan, A.A. Analytical techniques for determining pesticide residues in food: a comprehensive review. *International Journal of Materials Technology and Innovation*. Vol. 4, p. 42-74, 2024.
- [56] Samsidar, A., Siddiquee, S., Shaarani, S.Md. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology* 71, 188-201, 2018.
- [57] Bhattacharyya, S., et al., Establishment of modified QuEChERS-GC–MS–LC–MS/MS method for simultaneous screening of multi-class multi-pesticide residues in betelvine and consumer risk assessment. *Microchemical Journal*, 179: p. 107444, 2022.

- [58] Musarurwa, H., Chimuka, L., Pakade, V.E., Tavengwa, N.T. Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84, 103314, 2019.
- [59] Danek, M., Fang, X., Tang, J. Plonka, J., Barchanska, H. Simultaneous determination of pesticides and their degradation products in potatoes by MSPD-LC-MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 104, 104129, 2021.
- [60] Hercegová, A., Dömötörövá, M., Matisová, E. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, p. 1153(1), 54-73, 2007.
- [61] Radowan, A.A. Analytical techniques for determining pesticide residues in food: a comprehensive review. *International Journal of Materials Technology and Innovation*. Vol. 4, p. 42-74, 2024.
- [62] Ortega, P.P., Ortega, F.J.L., Lopez, B.G., González, D.M., Reyes, J.F.G., Díaz, A.M. Screening of Over 600 pesticides, veterinary drugs, food-packaging contaminants, mycotoxins, and other chemicals in food by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOFMS). *Journal Food Analytical Methods*, 10:1216-1244, 2017.
- [63] Lozano, A., Uclés, S., Uclés, A., Ferrer, C., Amadeo, R., Alba, F. Pesticide Residue Analysis in fruit and vegetable based baby foods using GC-Orbitrap MS. *Journal of AOAC International*, vol. 101, n.2, 2018.
- [64] Leandro, C.C., Hancock, P., Fussell, R.J., Keely, B.J. Comparison of ultra-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography for the determination of priority pesticides in baby foods by tandem quadrupole mass spectrometry. *Journal Chromatography A*, 1103, 94, 2006.

- [65] Curbelo, G.M.A., Ramos, M.A., Herrera, A.V.H., Borges, J.H. Pesticide residue analysis in cereal-based baby foods using multi-walled carbon nanotubes dispersive solid-phase extraction. *Analytica and Bioanalytical Chemistry*. 404, 183, 2012.
- [66] Leandro, C.C., Hancock, P., Fussell, R.J., Keely, B.J. Ultra performance liquid chromatography for the determination of pesticide residues in foods by tandem quadrupole mass spectrometry with polarity switching. *Journal of Chromatography A*, 1144, 161, 2007.
- [67] Radowan, A.A., Analytical techniques for determining pesticide residues in food: a comprehensive review. *International Journal of Materials Technology and Innovation*. Vol. 4, p. 42-74, 2024.
- [68] Barker, S. A., Long, A. R., Short, C. R. Isolation of Drug Residues from Tissues by Solid Phase Dispersion. *Journal Chromatography A.*, 475, 353-361, 1989.
- [69] Deen, A.K. An overview of recent advances and applications of matrix solid-phase dispersion. *Separation & Purification Reviews*, vol. 53, n.1, 100-117, 2024.
- [70] Hoff, R.B., Pizzolato, T.M. Combining extraction and purification steps in sample preparation for environmental matrices: A review of matrix solid phase dispersion (MSPD) and pressurized liquid extraction (PLE) applications. *Trends in Analytical Chemistry* 109, 83-96, 2018.
- [71] Wu, X., Zhang, X., Yang, Y., Liu, Y., Chen, X. Development of a Deep Eutectic solvent-based Matrix Solid Phase Dispersion Methodology for the Determination of Aflatoxins in Crops. *Food Chemistry*, 291, 239–244, 2019.
- [72] Gholami, H., Ghaedi, M., Arabi, M., Ostovan, A., Bagheri, A. R., Mohamedian, H. Application of Molecularly Imprinted Biomembrane for Advancement of Matrix Solid-Phase Dispersion for Clean Enrichment of

Parabens from Powder Sunscreen Samples: Optimization of Chromatographic Conditions and Green Approach. *ACS Omega*. 4, 3839–3849, 2019.

[73] Biosic, M., Varga, F., Dabic, D., Topalovic, I., Satovic, Z., Grdisa, M. Matrix solid-phase Dispersion Optimization for Determination of Pyrethrin Content in Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum Cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.) by Liquid Chromatography. *Industrial Crops and Products*, 145, 111999, 2020.

[74] Kemmerich, M., Demarco, M., Bernardi, G., Prestes, O. D., Adaime, M. B., Zanella, R. Balls-in-tube Matrix Solid Phase Dispersion (BiT-MSPD): An Innovative and Simplified Technique for Multiresidue Determination of Pesticides in Fruit Samples. *Journal Chromatography A*. 1612, 460640, 2020.

[75] Guo, P., Chen, G., Shu, H., Li, P., Yu, P., Chang, C., Wang, Y., Fu, Q. Monodisperse Molecularly Imprinted Microsphere Cartridges Coupled with HPLC for Selective Analysis of Dexamethasone and Hydrocortisone in Cosmetics by Using Matrix solid-phase Dispersion. *Analytical Methods*. 11(29), 3687–3696, 2019.

[76] Deen, A.K. An overview of recent advances and applications of matrix solid-phase dispersion. *Separation & Purification Reviews*, vol. 53, n.1, 100-117, 2024.

[77] Grzeskowiak, A. Z., Grzeskowiak, T., Ligor, M., Frankowski, R. Achievements and Challenges of Matrix Solid-Phase Dispersion Usage in the Extraction of Plants and Food samples. *Processes*, 12, 1146, 2014.

[78] Santos, E.O., Gonzales, J.O., Ores, J.C., Marube, L.C., Caldas, S.S., Furlong, E.B., Primel, E.G. San as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. *Food Chemistry* 297,124926, 2019.

- [79] Ghorbani, M., Aghamohammadhassan, M., Chamsaz, M., Akhlaghi, H., Pedramrad, T. Dispersive solid phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry* 118, 793-809, 2019.
- [80] Arena, A., Zoccali, M., Ferracane, A., Mondello, L. Improvements in materials for microextraction techniques in pesticide analysis of fruit juices: Update of the last decade. *Trends in Analytical Chemistry* 180, 117911, 2024.
- [81] Yuan, Y., Zhang, Y., Wang, M., Cao, J., Yan, H. Green synthesis of superhydrofolic resin/graphene oxide for efficient analysis of multiple pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal Food Chemistry* 450, 139341, 2024.
- [82] Mirzajani, R., Ramezani, Z., Kardani, F. Selective determination of thidiazuron herbicide in fruit and vegetable samples using molecularly imprinted polymer fiber solid phase microextraction with ion mobility spectrometry detection (MIPF-SPME-IMS) *Microchemical Journal* 130, 93-101, 2017.
- [83] Santos, L. F. S., da Silva, M. G., Gaujac, A., Navickiene, S. A Miniaturized Matrix solid-phase Dispersion Methodology (μ -MSPD) for Determination of β -carboline Alkaloids in Tobacco Samples by UPLC-ESI-Q-TOF/MSE. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 218, 114871, 2022.
- [84] Carro, N., Lopez, A., Cobas, J., Garcia, I., Ignacio, M., Mouteira, A. Development and Optimization of a Method for Organochlorine Pesticides Determination in Mussels Based on Miniaturized Matrix Solid-Phase Dispersion Combined with GC/MS. *Journal of Analytical Chemistry*. 76, 603–612, 2021.
- [85] Loncaric, A., Matanovic, K., Ferrer, P., Kovac, T., Sarkanj, B., Babojelic, M. S., Lores, M. Peel of Traditional Apple Varieties as a Great Source of Bioactive Compounds: Extraction by micro-matrix solid-phase Dispersion. *Journal Foods*. 2020.
- [86] She, Q., Jin, R., Xue, J., Lu, Y., Dai, Z. Analysis of trace levels of fish tissue using micro-scale pipette tip-matrix solid phase dissipation and fast liquid

chromatography tandem mass spectrometry. *Journal Food Chemistry* 194, 508-515, 2016.

[87] Chu, C., Jiang, L., Mao, H., Yan, J. A simple and environmentally-friendly method by pipette-tip matrix solid-phase dispersion microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the simultaneous determination of lignans and terpenes. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 20, 100384, 2021.

[88] Majors, R. E. Solid-Phase Extraction. In: PAWLISZYN, J.; LORD, H. L. *Hand book of Sample Preparation*, New Jersey: John Wiley & Sons, 2010.

[89] 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 AOAC International*. 86, 412–431, 2003.

[90] Mol, H. G. J., Rooseboom, A., Dam, R. V., Roding, M., Arondeus, K. & Sunarto, S. Modification and re-validation of the ethyl acetate-based multi-residue method for pesticides in produce. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 1715–1754, 2007.

[91] Lanças, F.M. *Extração em Fase Sólida (SPE)*. São Carlos; RiMa; p. 93, 2004.

[92] Korrani, Z.S., Khalili, E., Kamyab, H., Ibrahim, W.A.W., Hashim, H. A new solid phase extraction sorbent developed based on cyanopropyl functionalized silica nanoparticles for organophosphorus pesticides determination. *Environmental Research* 238, 117167, 2023.

[93] Zhao, C., Zhang, Z., Deng, Q., Song, G., Wu, Y., Zhang, H., Li, X., Ma, X., Tan, B., Yin, Y., Jiang, Q. Adsorption of deoxynivalenol by APTS-TEOS modified eggshell poder. *Journal Food Chemistry* 391, 133259, 2021.

[94] Fei, Jj., Zhao, Ly., Wu, Xh. *et al.* Microextração em fase sólida em tubo com uma coluna monolítica híbrida para a pré-concentração de metais em concentrações ultratraço antes da determinação simultânea por ICP-

MS. *Microchim Acta* 187, 356, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04329-0>.

[95] Korrani, Z.S., Khalili, E., Kamyab, H., Ibrahim, W.A.W., Hashim, H. A new solid phase extraction sorbent developed based on cyanopropyl functionalized silica nanoparticles for organophosphorus pesticides determination. *Environmental Research* 238, 2023,. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117167>.

[96] Zhou, Y., Cao, S., Xi, C., Li, X., Zhang, L., Wang, G., A three dimension magnetic biochar composite-based quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for multi-pestices analysis of vegetables. *Journal of Chromatography*. 2020. DOI 10.1016/j.chroma.2019.460770.

[97] Zhang, S., Hua, Z., Yao, W., Lu, T., Chen, Y., Fang, Z. Use of corn straw-derived biochar for magnetic solid-phase microextraction of organophosphorus pesticides from environmental samples. *Journal of Chromatography A* 1660. 2021.<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462673> 0021-9673.

[98] Behbahan, A.K., Mahdavi, V., Roustaei, R., Bagheri, H. Preparation and evaluation of various banana-based biochars together with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of diverse pesticides in fruiting vegetables. *Food Chemistry*. 2021. *Food Chemistry*. DOI 10.1016/j.foodchem.2021.130085.

[99] Shi, Z., Li, Q., Xu, D., Huai, Q., Zhang, H. Graphene-based pipette tip solid-phase extraction with ultra-high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry for the analysis of carbamate pesticide residues in fruit juice. *Journal of Separation Science*, 39, 4391-4397, 2016.

[100] Springer, V., Jacksen, J., Ek, P., Lista, A. G., Emmer, A., Determination of fluoroquinolones in bovine milk samples using a pipette-tip SPE step based on multiwalled carbon nanotubes prior to CE separation. *Journal of Separation Science*, 37, 158–164, 2014.

[101] See, H. H., Marsin Sanagi, M., Ibrahim, W. A., Naim, A. A., Determination of triazine herbicides using membraneprotected carbon nanotubes solid phase membrane tip extraction prior to micro-liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217, 1767–1772, 2010.

[102] Npukdee, K.C., Thammakhet, C., Thavarungkul, P., Kanatharana, P. Novel pipette-tip graphene/poly (vinyl alcohol) cryogel composite extractor for the analysis of carbofuran and carbaril in water. *Journal of Environmental Science and Health, part B* 49, 713-721, 2014.

[103] Yuan, Y., Wang, Y., Zhang, Y., Yin, J., Han, Y., Han, D., Yan, H. Miniaturized centrifugation accelerated pipette-tip matrix solid-phase dispersion based on poly (deep eutectic solventes) surface imprinted graphene oxide composite adsorbent for rapid extraction of anti-adipogenesis markers from *Solidago decurrens* Lour. *Journal of Chromatography A* 1715, 2024.

[104] Curbelo, M.A.G., Ramos, M.A., Herrera, V.H., Borges, J.H. Pesticide residue analysis in cereal-based baby foods using multi-walled carbon nanotubes dispersive solid-phase extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404:183-196, 2012.

[105] Curbelo, G.M.A., Borges, J.H., Miguel, T.M.B., Delgado, M.A.R. Determination of organophosphorus pesticides and metabolites in cereal-based baby foods and wheat flour by means of ultrasound-assisted extraction and hollow-fiber liquid phase microextraction prior to gas chromatography with nitrogen phosphorus detection. *Journal Chromatography A* 1313, 166-174, 2013.

[106] Petrarca, M.E., Cartagena, A.C., Masiá, A., Godoy, H.T., Picó, Y. Comparison of green sample preparation techniques in the analysis of pyrethrins and pyrethroids in baby food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1497, 28-37, 2017.

[107] Notardonato, I., Salimei, E., Russo, M.V., Avino, P. Simultaneous determination of organophosphorus pesticides and phtalates in baby food

samples by ultrasound-vortex assisted liquid-liquid microextraction and GC-IT/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410:3285-3296, 2018.

[108] IUPAC PPDB – International Union of Pure and Applied Chemistry. Pesticides Properties Data Base. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>> Acesso em: 10 de dezembro de 2024.

[109] PUBCHEM. PubChem Data Base. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>> Acesso em: 12 de junho de 2026.

[110] Carmo, D.A., Carmo, A.P.B., Pirez, J.M.B.; Oliveira, J.L.M. Comportamento ambiental e toxicidade dos herbicidas atrazina e simazina. *Revista Ambiente & Água*, v. 8, n. 1, p. 133–143, 2013.

[111] Milhome, M.A.L., Souza, D.O.B., Lima, F.A.F., Nascimento, R.F. Avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas por pesticidas aplicados na agricultura do Baixo Jaguaribe, CE. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 14, n. 3, p. 363–372, 2009.

[112] Baird, C., Cann, M. *Environmental Chemistry*. 5 ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2012.

[113] SHIMADZU: Coluna cromatográfica Shim-pack UC-X RP. <https://www.shimadzu.eu.com/columns-sfc>. Acesso em: 01 de junho de 2026.

[114] Kostianen, R., Kauppila, T. J. Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, p. 685-699, 2009.

[115] Rebane, R., Kruve, A., Liigand, J., Gornischeff, A., Leito, I. Ionization efficiency ladders as tools for choosing ionization mode and solvent in liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 33: 1834-1843, 2019.

[116] Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Dolan, J.W. Introduction to modern liquid chromatography. 3 ed. EUA: Editora John Wiley & Sons, 2010.

[117] Chuang, J.A., Hart, K., Chang, J.S., Boman, L.E., Emon, J. M.V., Reed, A.W. Evalution of analytical methods for determining pesticides in baby foods and adult duplicate-diet samples. *Analytica Chimica Acta* 444, 87-95, 2001.

[118] Sun, R., Lu, F., Yu, C., Yang, Y., Qiao, L., Liu, A. Peanut shells-derived biochars as adsorbents for the pipette-tip solid-phase extraction of endocrine-disrupting phenols in water, milk and beverage. *Journal of Chromatography A* 1673, 463101, 2022.

[119] Brasil. Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, nº166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. 75
https://www.in.gov.br/materia//asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-129 2017-07-25-resolucaordc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412. Acesso em 07 de dezembro de 2024.

[120] Yin Z, Yuan B, Lyu W, Huang Q, Simon JE, Wu Q (2022) Method development and validation for analysis of phenolic compounds in fatty complex matrices using enhanced matrix removal (EMR) lipid cleanup and UHPLC-QqQ-MS/MS. *Journal Food Chemistry* 373(Pt A):131096, 131096, 2021.

[121] Yang J, Zahng Q, Su L. Advances in the development of detection techniques for organophosphate ester flame retardants in food. *Se Pu* 38(12):1369–1380, 2020.

[122] Wu, H., Zhou, M., Zheng, B., Song, N., Wei, D., Lei, C., Sun, N., Qian, M. Selective accelerated solvent extraction for multi-residue analysis of organophosphate esters in cereal-based baby food. *Food Analytical Methods*,15:2994-3002, 2022.

- [123] Ferenc, A.Z., Biziuk, M. Solid phase extraction technique – trends, opportunities and applications. *Polish Journal of Environmental Studies*. v. 15, n. 5, 677-690, 2006.
- [124] Gallo, V.; Posta, S.D.; Gentili, A.; Gherardi, M.; Gara, L.; Fanali, C. *Separation Science Plus*. 2023;6:2200140. <https://doi.org/10.1002/sscp.202200140>.
- [125] Posta, S.D.; Gallo, V.; Limiti, E.; Trombetta, M.; Gherardi, M.; Gentili, A.; Gara, L.; Fanali, C. *Advances in Sample Preparation* 13, 2025, 100153. <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2025.100153>.
- [126] Jardim, I.C.F.S. Extração em fase sólida: Fundamentos teóricos e novas estratégias para a preparação de fases sólidas. *Scientia Chromatographica*. v.2, n 1, 13-25, 2010.
- [127] Sinha, S.N., Vasudev, K., Vardhana, R.M.V. Quantification of organophosphate insecticides and herbicides in vegetable samples using the “Quick Easy Cleap Effective Rugged and Safe” (QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. *Journal Food Chemistry*, 132, 1574-1584, 2012.
- [128] Mosallanejad, S.; Dlugogorski, B.Z.; Kennedy, E.M.; Stockenhuber, M. On the chemistry of Iron oxide supported on alumina and sílica catalysts. *ACS Omega*, 3, 5362-5374, 2018.
- [129] Leandro, C.C., Fussell, R.J., Keely, Brendan, J. Determination of priority pesticides in baby foods by chromatography tandem quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1085, 207-212, 2005.
- [130] Banerjee, K., Oulkar, P.D., Dasgupta, S., Patil, S.B., Patil, S.H., Savant, R., Adsulte, P.G. Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for

pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1173, 98-109, 2007.

[131] Fulton, R.R., Mohamad, A.A. Pressurized solvent extraction with ethyl acetate and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of selected conazole fungicides in match. *Toxics*, 6, 64, 2018.

[132] Barker, S.A. Matrix solid phase dispersion (MSPD). *Journal of Biochemistry Biophys. Methods* 70, 151-162, 2007.

[133] Chi, N.T.L.; Anto, S.; Ahamed, T.S.; Kumar, S.S.; Shanmugam, S.; Samuel, M.S.; Mathimani, T.; Brindhadevi, K.; Pugazhendhi, A. *Fuel*, v.87, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119411>.

[134] Soares, P.R.L. Produção de biocarvão e sua aplicação para extração em fase sólida de pesticidas em água. Mestrado. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Sergipe, 2022.

[135] Granja, H.S., Silva, J.O.S., Andrade, Y.B., Farrapeira, R.O., Sussuchi, E.M., Freitas, L.S. *Talanta*, 2025, 126784, DOI: 10.1016/j.talanta.2024.126784.

[136] Carregosa, I.S.C., Carregosa, J.C., Silva, W.R., Santos, T.M., Jr. A.W. Thermochemical conversion of aquatic weed biomass in a rotary kiln reactor for production of bio-based derivatives. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 173, 2023, 106048. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2023.106048>.

[137] Rebane R, Krueve A, Liigand J, Gornischeff A, Leito I. *Rapid Commun Mass Spec* 33:1834–1843 (2019). <https://doi.org/10.1002/r cm.8545>.

[138] Ji, X., Liu, Y., Gao, Z., Lin, H., Xu, X., Zhang, Y., Zhu, K., Zhang, Y., Sun, H., Duan, Efficiency and mechanism of adsorption for imidacloprid removal from water by Fe-Mg co-modified water hyacinth-based biochar: Batch adsorption, fixed-bed adsorption, and DFT calculation. *Journal Separation and Purification Technology* 330, 2024, 125235. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.125235>.

- [139] Monteiro, M.D.S., Santos, M.V.Q., Almeida, W.S., Santos, J.F., Martins, T., Wisniewski, A., Sussuchi, E.M. *Materials Chemistry and Physics* 333, 2025, 130351. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2024.130351>.
- [140] Li, X., Luo, J., Deng, H., Huang, P., Ge, C., Yu, H., Xu, W. Effect of cassava waste biochar on sorption and release behavior of atrazine in soil. *Science of the Total Environment* 644 (2018) 1617-1624. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.239>.
- [141] Suchi Chawla HKP, Gor HN, Vaghela KM, Solanki PP, Shah PG Evaluation of matrix effects in multiresidue analysis of pesticide residues in vegetables and spices by LC-MS/MS. *Journal AOAC International*, 2017, 100(3):1–8. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0048>.
- [142] Shendy, AH, Eltanany, BM, Al-Ghobashy, MA et al. Acoplamento de GC-MS/MS à Análise de Componentes Principais para Avaliação do Efeito de Matriz: Determinação Eficiente de Níveis Ultrabaixos de Resíduos de Pesticidas em Alguns Alimentos Funcionais. *Food Anal. Methods* 12 , 2870–2885, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01643-z>.
- [143] Nguyen, Q.T., Nguyen, T.T., Le,V., Nguyen, N.T., Truong, N.M., Hoang, M.T., Pham, T.P.T., Bui, Q.M. Towards a Standardized Approach for the Geographical Traceability of Plant Foods Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) and Principal Component Analysis (PCA). *Foods* 2023, 12(9), 1848; <https://doi.org/10.3390/foods12091848>.
- [144] Dozein, S.V.; Masrournia, M.; Haghi, Z.; Bozorgmehr, M.R. Development of a new magnetic dispersive solid – phase microextraction coupled with GC-MS for determination of five organophosphorus pesticides from vegetable samples. *Food Analytical Methods*. 2021. 14:674-686. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01906-0>
- [145] DOQ-CGCRE-008. Orientação sobre validação de Métodos analíticos: documento orientativo. INMETRO, Revisão: 07,Jul.2018.
- [146] SANTE, Commission of the European Communities. Document n°

SANTE/11813/2017. Guidance document on analytical quality control and 84 method validation procedures for pesticides and analysis in food and feed. Uppsala, Suécia, 2017.

[147] Posta, S.D., Gallo, V., Limiti, E., Trombetta, M., Gherardi, M., Gentili, A., Gara, L., Fanali, C. *Advances in Sample Preparation* 13, 2025, 100153. <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2025.100153>.

[148] Pérez, R.A.; Albero, B.; Tadeo, J.L., 531-549. Matrix Solid phase dispersion, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816906-3.00019-4>.

[149] Santos, L.F.S., Souza, N.R.S., Ferreira, J.A., Navickiene, S. A reversed-phase high-performance liquid chromatography method combined with matrix solid-phase dispersion extraction for the determination of teflubenzuron, lufenuron and bifenthrin residues in lyophilized coconut water. *Journal of Composition and Analysis* 26. 2012. 183-188. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.03.007>.

[150] Kruve, A., Rebane, R., Kipper, K., Oldekop, M. L., Evard, H., Herodes, K., Ravio, P.; Leito, I. Review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: Part I. *Analytica Chimica Acta*, v. 870, p. 29-44, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.016>.