

Michela Cancellier

**USO DE MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E)
PARA A EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS E
CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE
MANANCIAIS E DETERMINAÇÃO POR HPLC-DAD**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek
da Rocha

FLORIANÓPOLIS
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Cancellier, Michela

USO DE MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BApE)
PARA A EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS E CONTAMINANTES
EMERGENTES EM AMOSTRAS DE MANANCIASIS E DETERMINAÇÃO
POR HPLC-DAD / Michela Cancellier ; orientador,
Eduardo Carasek da Rocha , 2018.

75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e
Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química,
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Química. 2. Preparo de amostras. 3. BAPE. 4.
Agrotóxicos. 5. Contaminantes emergentes. I. Carasek
da Rocha , Eduardo. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química.
III. Título.

Michela Cancellier

**USO DE MICROEXTRAÇÃO EM BARRA ADSORTIVA (BA μ E)
PARA A EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS E
CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE
MANANCIASIS E DETERMINAÇÃO POR HPLC-DAD**

Essa dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química.

Florianópolis, 30 de julho de 2018.

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof.^a Dra. Adriana Neves Dias
Instituto Federal Catarinense (IFC)

Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

AGRADECIMENTOS

Gratidão a Deus pela vida, por todas as superações e oportunidades concedidas.

À minha família, meus pais Darlene e Guerino, meu muito obrigada, vocês me ensinaram a voar!

Ao orientador Prof. Dr. Eduardo Carasek pela oportunidade, pela orientação e pela confiança.

Aos colegas do laboratório Cromaas: Morés, Ana Cristine, Gabi Corazza, Murara, Duda, Gabi Mafra, Daniela, Sângela, Leo, Josias, Mauana, Heloisa, Augusto, Leila, Andy, Natália, Vanessa, Naysla, João e Camila por toda colaboração, risadas e por todo carinho.

Minha imensa gratidão ao Lucas Morés pelos ensinamentos, pelo seu bom humor, pela companhia, por todo carinho, pela amizade que construímos e principalmente por toda colaboração no desenvolvimento desse trabalho!

À Gabriela Corazza pela correção da dissertação, suas sugestões foram muito valiosas, muito grata por toda atenção e carinho!

Ao Prof. Dr. Ivan por toda orientação e incentivo durante o estágio docente.

Ao Instituto Federal Catarinense, *campi* Videira e Camboriú, em especial aos amigos e colegas Tiago e Marcelo de Videira, Ana Cristina, Adriano, Renata, Amélia, Letícia Flohr, Letícia Rabelo, Tcheco, Luciana, Flávia, Amanda, Alexandre, Marcos, Isaias, Larissa, Roberta, Maria Amélia e Joeci de Camboriú por toda a oportunidade, incentivo e por poder me dedicar exclusivamente para a realização desse projeto.

Gratidão ao colega e amigo Joeci Godoi que assumiu as minhas funções para eu poder me dedicar integralmente, muito obrigada!

Às minhas queridas Letícia Rabelo e Amanda Faro, que além de serem amigas e colegas de trabalho foram companheiras nas coletas de água, minha imensa gratidão.

À minha amiga Fernanda Morgana pelos pousos, incentivos e por todo o carinho. Ao meu amigo Robert que me acompanhou nessa jornada da pós-graduação, conseguimos!

A todos aqueles que fizeram e fazem parte da minha vida, todos contribuíram para eu chegar até aqui, gratidão!

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), em especial ao Anschau e Silvano por toda atenção, orientação para coleta de água e empréstimo de equipamentos para realizar o trabalho.

À empresa Águas de Camboriú, em nome do Gabriel, pela parceria e contribuição para realização desse trabalho.

À UFSC e ao departamento de Pós-Graduação em Química pela oportunidade e pelo ensino de qualidade.

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvida uma metodologia para a determinação simultânea de 5 agrotóxicos utilizados na rizicultura e 2 contaminantes emergentes, aplicando a técnica de microextração adsorviva em barra (BA μ E) com separação e detecção por HPLC-DAD. Foram produzidas barras de 15 mm revestidas com material extrator disponível comercialmente para a técnica de DPX, denominado WAX. O material extrator foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e a morfologia foi obtida através de micrografias por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As otimizações foram realizadas em água ultrapura fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, através de abordagens univariadas e multivariadas. As condições ótimas de extração foram 140 minutos para tempo de extração e pH 3,5. As condições obtidas para a dessorção líquida foram uma mistura de solventes sendo Metanol:Acetato de Etila (60:40) (v/v) e tempo de dessorção de 35 minutos em banho ultrassônico. Para reutilizar as barras adsorvivas foi otimizado um procedimento de limpeza realizado antes das extrações, utilizando duas alíquotas de solventes Metanol:Acetato de Etila (60:40) (v/v) por 35 minutos em banho ultrassônico. As curvas de calibração foram realizadas na matriz da amostra bem como os ensaios de precisão e exatidão. Os valores de LODs e LOQs foram 1,51 a 2,27 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 5,00 a 7,50 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, com os valores de $R \geq 0,9803$. A exatidão e a precisão do método foram avaliadas através da recuperação relativa e das precisões intradia e interdia em três níveis de concentração em comum a todos os analitos conforme as curvas de calibração. Os resultados obtidos para a recuperação relativa estão de acordo com a faixa aceitável de 80 a 120% para todos os analitos em todos os níveis estudados, assim como para os resultados de precisão intradia e interdia também foram adequados, sendo menores que 22% para todos os analitos em todos os níveis estudados. A metodologia foi aplicada em vinte e quatro amostras coletadas na Bacia do Rio Camboriú e os analitos não foram detectados nessas amostras.

Palavras-chave: Preparo de amostras, BA μ E, agrotóxicos, contaminantes emergentes, água de rio.

ABSTRACT

In this work, a methodology for the simultaneous determination of 5 pesticides and 2 emerging contaminants used in the rice cultivation was developed, applying the adsorptive bar microextraction (BA μ E) technique, with separation and detection by HPLC-DAD. Bars of 15 mm were produced and coated with extractor material commercially available and applied in the DPX technique, designated WAX. The extractive material was characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), and the morphology was obtained through scanning electron microscopy (SEM). The optimizations were performed in ultrapure water spiked with 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ of all analytes and using univariate and multivariate procedures. The optimum extraction conditions were 140 minutes for extraction time and pH 3.5. The conditions obtained for liquid desorption comprised of a solvent mixture of Methanol: Ethyl Acetate (60:40) (v/v) and desorption of 35 minutes under ultrasonic bath. In order to reuse the adsorbing bars has been optimized a cleaning procedure and was carried out before extractions with two aliquots of Methanol: Ethyl Acetate (60:40) (v/v) and desorption time of 35 minutes in an ultrasonic bath. The calibration curves were performed in the sample matrix as well as the precision and accuracy evaluations. The values of LODs and LOQs were ranged from 1.51 to 2.27 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 5.0 to 7.5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively, with $R \geq 0.9803$. The accuracy and precision of the method were evaluated through relative recovery and the intraday and interday precisions and were performed at three levels of spiked in common to all analytes according to the calibration curves. The results obtained for the relative recovery agree with the acceptable range of 80% to 120% for all the studied levels, as well as for the intraday and interday precision tests were lower than the acceptable limit of up to 22%. The methodology was applied in twenty-four samples collected in the Camboriú River Basin and the results obtained did not detect the presence of the analytes.

Keywords: Sample preparation, BA μ E, pesticides, emerging contaminants, river water.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática da barra utilizada no procedimento de BAμE. Em (a) barra de polipropileno revestida com fase extratora aderida por um adesivo e em (b) micrografia da fase extratora obtida por MEV (Fonte: Adaptado de NOGUEIRA, 2013). 27
- Figura 2.** Representação das etapas da BAμE, em: (A) microextração por flutuação e em (B) dessorção líquida, onde: (1) frasco de amostragem; (2) vortex; (3) amostra; (4) barra de agitação magnética em Teflon; (5) dispositivo de BAμE; (6) frasco; (7) solvente para dessorção líquida (Fonte: Adaptado de NOGUEIRA, 2013). 28
- Figura 3.** Nova configuração da BAμE, em: (A) com fio de aço inoxidável; (B) regulador de voltagem e multímetro e (C) agitadores acoplados para realizar as extrações simultaneamente (Fonte: Autoria própria, 2018). 28
- Figura 4.** Planejamento *Simplex-Centróide* (Fonte: Adaptado de Hibbert, 2012). 32
- Figura 5.** Planejamento *Doehlert* (Fonte: Hibbert, 2012). 33
- Figura 6.** Procedimento para o preparo das barras adsorptivas e condicionamento (Fonte: Autoria própria, 2018). 37
- Figura 7.** Localização da amostragem na Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú/SC. 42
- Figura 8.** Cromatograma sobreposto dos brancos dos quatro sorventes avaliados. 45
- Figura 9.** Gráfico de barras construído a partir das áreas obtidas das extrações usando os quatro sorventes para avaliar a eficiência. 46
- Figura 10.** FTIR referente à WAX. 47
- Figura 11.** Micrografias obtidas por MEV para a barra de BAμE nova. Em (A) superfície da barra recoberta com WAX ampliada 100 vezes; em

(B) micrografia transversal da barra ampliada 40 vezes; e em (C) micrografia transversal da barra com medidas, ampliada 200 vezes. ... 48

Figura 12. Micrografia obtida por MEV para a barra adsortiva usada 20 vezes. Em (A) superfície da barra recoberta com WAX ampliada 100 vezes; e em (B) micrografia transversal da barra com medidas, ampliada 200 vezes..... 49

Figura 13. Cromatograma da injeção direta de 20 μL do mix de trabalho de 2 mg L^{-1} no HPLC-DAD em 230nm. 50

Figura 14. Superfície resposta obtida através do planejamento *Simplex-Centróide* para a otimização do solvente de dessorção líquida. 51

Figura 15. Gráfico de barras obtido para otimização do tempo de dessorção líquida..... 52

Figura 16. Superfície resposta obtida para a otimização do tempo de extração vs % de sal (NaCl), através do planejamento Doehlert. 53

Figura 17. Gráfico de barras obtido para a otimização univariada do pH. 54

Figura 18. Gráfico de barras obtido para a avaliação da etapa de limpeza. 55

Figura 19. Gráfico de barras obtido nos testes de estabilidade. 60

Figura 20. Gráfico de barras obtido para avaliar a reprodutibilidade entre as três barras..... 60

Figura 21. Cromatogramas obtidos das análises de algumas amostras.63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compilação das Portarias do Ministério da Saúde que regulam a potabilidade da água para consumo humano (Adaptado de CARNEIRO <i>et al</i> , 2015).	19
Tabela 2. Agrotóxicos estudados nesse trabalho, estrutura química, pKa, log K _{ow} , subgrupos e VMP em água destinada ao consumo humano, segundo Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde.....	22
Tabela 3. Estrutura química, pKa, log K _{ow} e subgrupos dos contaminantes emergentes estudados nesse trabalho.	24
Tabela 4. Planejamento <i>Simplex-Centróide</i> para a otimização do solvente de dessorção.	39
Tabela 5. Planejamento <i>Doehlert</i> adotado para o estudo do tempo de extração vs % sal.	40
Tabela 6. Coordenadas geográficas dos pontos amostrais.....	43
Tabela 7. Formulário para descrição dos locais de amostragem.	44
Tabela 8. Parâmetros analíticos de mérito do método proposto.	56
Tabela 9. Recuperações relativas e precisões intradia e interdía para os analitos.	57
Tabela 10. Agrotóxicos estudados e VMP em água destinada para o consumo humano.	58
Tabela 11. Comparação do método proposto para determinação dos analitos estudados em amostras aquosas com os dados da literatura. ...	59
Tabela 12. Descrições dos pontos amostrais.	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- μ E - Microextração adsortiva, do inglês *Adsorptive Microextraction*.
ABRASCO – Associação Brasileira de Saúde Coletiva.
AcET – Acetato de Etila, do inglês *Ethyl Acetate*.
ACN – Acetonitrila, do inglês *Acetonitrile*.
AOAC – Associação Oficial de Químicos Analíticos, do inglês *Association of Official Analytical Chemists*.
BA μ E - Microextração adsortiva em barra, do inglês *Bar Adsorptive Microextraction*.
BZF – Benzofenona, do inglês *Benzophenone*.
CFN – Cafeína, do inglês *Caffeine*.
CRB – Carbofurano, do inglês *Carbofuran*.
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente.
DAD - Detector por Arranjo de Diodos, do inglês *Diode Array Detection*.
DPX – Extração em Ponteiros Descartáveis do inglês, *Disposable Pipette Extraction*.
EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.
ETA – Estação de Tratamento de Água.
FTIR - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier, do inglês *Fourier Transform Infrared*.
HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*.
IA – Ingrediente Ativo.
LLE - Extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*.
LOD - Limite de detecção, do inglês *Limit of Detection*.
LOQ - Limite de quantificação, do inglês *Limit of Quantification*.
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura.
MeOH – Metanol, do inglês *Methanol*.
MMA – Ministério do Meio Ambiente.
MS – Ministério da Saúde.
MSA μ E - Microextração Adsortiva em Multiesferas, do inglês *Multispheres Adsorptive Microextraction*.
MSR – Metodologia de Superfície de Resposta.
PDM – Pendimetalina, do inglês *Pendimethalin*.
PMT – Parationa Metílica, do inglês *Methyl Parathion*
R – Coeficiente de correlação linear, do inglês *Linear Correlation Coefficient*.

R (%) - Ensaios de recuperação.

RDSE – Extração por sorção de disco rotativo, do inglês *Rotative Disk Sorptive Extraction*.

RSD (%) - Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*.

SBSE - Extração Sortiva em Barra de Agitação, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*.

SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*.

SPME - Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Microextraction*.

TBZ – Tebuconazol, do inglês *Tebuconazole*.

TFL – Trifluralina, do inglês *Trifluralin*.

U.P. - Ultrapura.

USEPA - Agência de Proteção Ambiental Americana, do inglês *United States Environmental Protection Agency*.

UV - Ultravioleta, do inglês *Ultraviolet*.

VMP – Valor Máximo Permitido.

WAX – Trocador aniônico fraco, do inglês *Weak Anion Exchange*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1	RECURSOS HÍDRICOS	18
2.2	RIZICULTURA.....	19
2.3	ANALITOS	20
2.3.1	<i>Agrotóxicos</i>	20
2.3.2	<i>Contaminantes emergentes</i>	23
2.4	PREPARO DE AMOSTRA EM QUÍMICA ANALÍTICA...25	
2.5	MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA	26
2.6	OTIMIZAÇÃO DA BAME.....	29
2.7	SORVENTE EM PREPARO DE AMOSTRAS.....	29
2.8	OTIMIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	30
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL.....	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	35
4.1	REAGENTES E MATERIAIS	35
4.2	INSTRUMENTAÇÃO	35
4.3	ESCOLHA E CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SORVENTE.....	36
4.4	PREPARO DAS BARRAS ADSORTIVAS	37
4.5	OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE BAME	38

4.5.1	<i>Otimização dos parâmetros de dessorção líquida</i>	38
4.5.2	<i>Otimização dos parâmetros de extração</i>	39
4.6	OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE LIMPEZA	40
4.7	PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO	40
4.8	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E DA REPRODUTIBILIDADE DAS BARRAS.....	41
4.9	APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO CAMBORIÚ	41
4.9.1	AMOSTRAGEM	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1	ESCOLHA E CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SORVENTE.....	45
5.2	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO.....	49
5.3	PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO E APLICAÇÃO DO MÉTODO	55
5.4	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E REPRODUTIBILIDADE DAS BARRAS ADSORTIVAS.....	59
5.5	APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO CAMBORIÚ	61
6	CONCLUSÃO	64
7	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

O preparo da amostra a fim de isolar, concentrar os analitos e eliminar os interferentes que podem prejudicar a análise da amostra é uma etapa muito importante do procedimento analítico. Mesmo com toda a tecnologia disponível, a análise da amostra bruta ainda não é recomendada, pois pode danificar o equipamento e o resultado obtido pode não ser confiável, além de não ser possível detectar analitos presentes em baixas concentrações (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$), por isso, são desenvolvidas técnicas para superar esses desafios (DIAS, 2015a; BORGES, 2015; DIMPE, 2016; MAFRA, 2018).

Diversas técnicas de preparo de amostras são aplicadas para a análise de compostos orgânicos, e, embora apresentem ampla vantagem e aplicação, novas configurações são desenvolvidas para suprir algumas limitações e desvantagens, tais como: dispositivos frágeis, custo elevado, fases extratoras não compatíveis com os compostos a serem analisados além de grande volume de resíduos gerados durante o procedimento. As novas configurações, além de se adequarem aos novos conceitos relacionados às questões ambientais, reduzem o tempo de preparo, introduzem novos materiais alternativos e desenvolvem dispositivos de baixo custo, possibilitando alterar a fase extratora conforme os analitos estudados. Nesse contexto, a partir da década de 1990, o conceito de química verde foi introduzido nos procedimentos analíticos e as técnicas miniaturizadas foram desenvolvidas (DIAS 2015a; DIAS, 2015b; BORGES, 2015).

As técnicas de SPME e SBSE baseadas em sorção são destaques desse contexto, e, embora de grande aplicação, apresentam algumas limitações, como por exemplo, fragilidade dos aparatos e perda de material sorvente durante o procedimento com agitação da amostra, sendo assim, a técnica de microextração adsortiva foi introduzida, com destaque para a BA μ E (NENG, 2010; NOGUEIRA, 2013). A técnica BA μ E baseia-se na amostragem por flutuação, onde um dispositivo cilíndrico de polipropileno revestido com o material sorvente é inserido em um frasco de vidro contendo a amostra (DIAS, 2015a; DIAS, 2015b BORGES, 2015; NENG, 2010; NOGUEIRA, 2013). Sob agitação constante ocorre a extração dos analitos, podendo ser realizada várias extrações simultâneas utilizando um regulador de tensão acoplado aos agitadores (MAFRA *et al*, 2018).

Muitas dessas técnicas de preparo de amostra estão consolidadas para a determinação de substâncias que apresentam risco potencial à saúde,

como por exemplo, agrotóxicos (TALEBIANPOOR *et al*, 2017; NANTIA *et al*, 2017; PIRI-MOGHADAM *et al*, 2017; ASATI *et al*, 2017) e contaminantes emergentes, sendo esses, substâncias que não possuem regulamentação sobre suas concentrações máximas permitidas no ambiente (USEPA, 2008; DIMPE, 2016). O monitoramento dessas substâncias é imprescindível, pois há um aumento na aplicação de agrotóxicos e descarte inadequado de contaminantes emergentes, causando danos à manutenção da vida devido à poluição ambiental, além de atuarem sobre o sistema endócrino (TANKIEWICZ, 2011; CANELA *et al*, 2014; SOUZA, 2018)

Nesse estudo foi aplicada a técnica de BAμE e como fase extratora foi utilizada um material disponível comercialmente denominado WAX, para determinação simultânea de dois contaminantes emergentes: cafeína (CFN) e benzofenona (BZF) e cinco agrotóxicos utilizados na rizicultura: carbofurano (CRB), parationa metílica (PMT), tebuconazol (TBZ), trifluralina (TFL) e pendimetalina (PDM) em amostras de água de manancial da Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú/SC-Brasil.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 RECURSOS HÍDRICOS

A gestão dos recursos hídricos, conforme a Política Nacional, estabelece o uso múltiplo das águas, desde que não haja prejuízo a sua qualidade, sendo o uso prioritário para o abastecimento humano e a dessedentação de animais (BRASIL, 2009; BRASIL, 2005).

O uso múltiplo da água envolve diversas atividades antrópicas, tais como: o uso para a garantia da sobrevivência e atividades industriais. Porém, algumas ações como o descarte de produtos químicos no meio ambiente e uso inadequado da água comprometem esse recurso, impactando de forma negativa na sua disponibilidade e qualidade. Foi a partir desse contexto que se estabeleceram diretrizes sobre a gestão da água, as quais identificam substâncias ou grupos de substâncias que devem ser monitoradas para que não excedam concentrações que podem prejudicar a saúde do homem e o meio ambiente (SOUZA *et al* 2018; BRASIL, 2005; BRASIL, 2011a).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) nas Resoluções 357/2005, 430/2011 e a Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde, dentre outras legislações, dispõe de procedimentos que classificam os corpos d'água enquadrando-os conforme seu uso preponderante, bem como estabelecem limites de lançamentos de efluentes, controlam a qualidade da água para consumo humano e o padrão de potabilidade, além de estabelecer os valores máximos permitidos (VMP) de determinadas substâncias que podem estar presentes (BRASIL, 2015; BRASIL, 2011a; BRASIL, 2011b). De acordo com a Resolução 357/2005 do Conama, as águas doces classificadas em: classe especial, classe 1, classe 2 e classe 3 são destinadas, dentre outros usos, para o abastecimento humano seguindo as recomendações para tratamento. As fontes de água doce superficial ou subterrânea utilizada para o abastecimento público ou desenvolvimento de outras atividades econômicas são denominadas de mananciais. A preservação dos mananciais deve ser realizada para a manutenção da qualidade e disponibilidade desse recurso, e as bacias hidrográficas, que são regiões ou áreas que compreendem diversos cursos d'água, quando compreendem os mananciais, deve ser administrada de forma a atender toda demanda, mas, priorizar, em situação de escassez, o abastecimento humano e a dessedentação de animais (BRASIL, 2011c)

Com as atualizações das Portarias do Ministério da Saúde, o número de substâncias químicas permitidas presentes na água destinada ao consumo humano foi ampliado. Isso representa o aumento do uso dessas substâncias nos processos produtivos industriais, agrícolas e na desinfecção doméstica, e conseqüentemente, presentes também no solo e no ar, podendo alterar o equilíbrio ambiental (CARNEIRO *et al*, 2015). Na Tabela 1 estão compiladas as portarias do Ministério da Saúde que regulam a potabilidade da água para consumo humano:

Tabela 1. Compilação das Portarias do Ministério da Saúde que regulam a potabilidade da água para consumo humano (Adaptado de CARNEIRO *et al*, 2015).

Portaria	Substâncias Químicas Avaliadas				
	Agrotóxicos	Produtos químicos inorgânicos (metais pesados)	Produtos químicos orgânico (solventes)	Produtos químicos secundários da desinfecção domiciliar	Algicidas
56/1977	12	10	0	0	0
36/1990	13	11	07	02	0
518/2004	22	13	13	06	0
2.914/2011	27	15	15	07	Para uso em mananciais e ETA.

O Conama na Resolução 357/2005 (Brasil, 2005), art. 4º trata da classificação das águas doces e seus usos. Essa pode ser destinada ao abastecimento humano, proteção de comunidades aquáticas, recreação, irrigação de culturas, como por exemplo a rizicultura, caracterizando o uso múltiplo da água.

2.2 RIZICULTURA

O arroz tem sua origem na parte norte do sudeste da Ásia, e seu plantio era realizado próximo às bacias hidrográficas para garantir a irrigação (IKEHASHI, 2007). No Brasil, o arroz foi inserido pela frota de

Pedro Álvares Cabral, mas seu cultivo data após 1530, na região nordeste do país. Somente em 1904 ocorreu a primeira lavoura empresarial de arroz irrigado, no estado do Rio Grande do Sul. No que se refere às culturas anuais, o cultivo de arroz é o terceiro em área cultivada no Brasil com destaque para seu planejamento e gestão de políticas (NETO, 2015; GASPARINI, 2010).

O Brasil está entre os dez maiores produtores de arroz do mundo, concentrando sua produção na região sul do país, com destaque para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, responsáveis por 70% e 10% da produção nacional, respectivamente. Dentre os sistemas de cultivo de arroz, temos o cultivo sequeiro, também chamado de “cultivo em terras altas” e o cultivo de arroz irrigado, predominante no estado de Santa Catarina (SOSBAI, 2016; NETO, 2015; GASPARINI, 2010).

Devido à água ser o principal insumo para o cultivo do arroz, a rizicultura está relacionada a diversos problemas, tais como: conflito pelo uso da água, erosão sedimentar e compactação do solo. Além da monocultura que prevalece nessas áreas, ocorre também a proliferação de insetos e plantas indesejadas, sendo que uma das formas de controle é a aplicação de agrotóxicos e esses podem ser conduzidos até os recursos hídricos, prejudicando assim a qualidade da água (SOSBAI, 2016; NETO, 2015; GASPARINI, 2010).

2.3 ANALITOS

2.3.1 *Agrotóxicos*

Segundo a Lei Federal 7.802/1989, agrotóxicos são todos os produtos utilizados em ambientes agrícolas, urbanos, florestas, entre outros locais, para alterar a flora e/ou fauna com o objetivo de preservá-los da ação danosa de agentes nocivos. Pesticidas, defensivos agrícolas, praguicidas, remédios de planta e veneno são alguns sinônimos para agrotóxicos (BRASIL, 1989; PERES, 2003; LONDRES, 2011).

Segundo o Dossiê ABRASCO (Carneiro *et al*, 2015), o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo. Seu consumo também pode ser correlacionado ao aumento do consumo de medicamentos, ora consumidos devido à intoxicação por agrotóxicos, ora pela ingestão de alimentos não saudáveis, de acordo com o aumento da incidência de intoxicações no país apresentado no Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos (BRASIL, 2016d).

De acordo com os dados da OMS/2016, ocorrem aproximadamente 800 mil mortes por ano em decorrência de suicídio.

Dentre os métodos utilizados, o envenenamento pela ingestão de agrotóxicos é responsável por 30% dos casos. Além da ingestão, cerca de 3 a 5 milhões de pessoas são contaminadas com agrotóxicos anualmente, podendo esse número ser ainda maior, pois, há dificuldades em registrar as ocorrências (PERES, 2003; LONDRES, 2011).

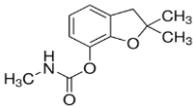
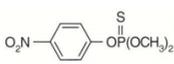
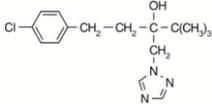
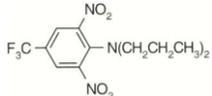
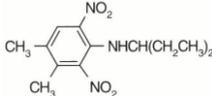
Os agrotóxicos são classificados de acordo com a praga que combatem ou com a ação do seu ingrediente ativo. Sendo que de acordo com a praga que combatem podem ser classificados em: inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos), herbicidas (combatem plantas invasoras), rodenticidas e/ou raticidas (combatem ratos), acaricidas (combate ácaros), nematicidas (combate nematoides), moluscicidas (combate moluscos) e fumigantes (combate bactérias do solo). Dentre os agrotóxicos foram escolhidos para esse trabalho os empregados na rizicultura recomendados pela Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Aproximadamente 430 ingredientes ativos (IAs) e 1400 formulações de agrotóxicos estão registrados no MAPA e autorizados pelos Ministério da Saúde (MS) e Ministério do Meio Ambiente (MMA) para a comercialização e o consumo. Dentre os agrotóxicos comercializados, os herbicidas correspondem a 45%, os fungicidas a 14%, os inseticidas a 12% e as demais categorias a 29% (CARNEIRO *et al*, 2015).

Na década de 1960, houve no Brasil a introdução da “revolução verde” (BRASIL, 2016), a qual aplicou em alguns países de terceiro mundo novas práticas agrícolas fazendo uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos para aumentar a produtividade (PARAVIL, 2003). Essa prática resultou em impactos negativos tanto na saúde do homem quanto ao meio ambiente, através de intoxicações crônicas e agudas, invalidez e ambientes contaminados, refletindo no investimento de políticas públicas para sanar esses problemas (BOMBARDINI, 2017).

A Legislação Federal define quais agrotóxicos podem ser utilizados em cada cultura. De acordo com o MAPA, há cerca de 100 ingredientes ativos permitidos para uso no cultivo de arroz (BRASIL, 2016b). Devido aos seus efeitos de toxicidade aguda, ou seja, efeitos tóxicos produzidos rapidamente após a exposição, a Portaria 2.914/2011/MS estabelece os valores máximos permitidos (VMP) em água para consumo humano de 27 desses agrotóxicos (BRASIL, 2011). Na Tabela 2, estão apresentados os cinco agrotóxicos que foram estudados nesse trabalho, suas estruturas químicas, algumas propriedades físico-químicas, seus subgrupos e VMP em água potável.

Tabela 2. Agrotóxicos estudados nesse trabalho, estrutura química, pKa, log K_{ow}, subgrupos e VMP em água destinada ao consumo humano, segundo Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde.

Agrotóxicos	Estrutura Química	pKa	log K _{ow}	Sub Grupo	VMP µg L ⁻¹	Ref.
Carbofu-rano (CRB)		11,9	1,76	Carbamato	7	Sigma Aldrich, 2016; Brasil, 2016c; Makehelwala, 2012.
Parationa Metílica (PMT)		-	3,00	Organo fosforado	9	Sigma Aldrich, 2016; Brasil, 2016c; University, 2016.
Tebuconazol (TBZ)		4,50	3,70	Triazol	180	Sigma Aldrich, 2016; Brasil, 2016c; University, 2016.
Trifluralina (TFL)		5,3	4,86	Dinitro-anilina	20	Sigma Aldrich, 2016; Brasil, 2016c; Chelme-Ayala, 2010.
Pendimetalina (PDM)		2,8	5,20	Dinitro-anilina	20	Sigma Aldrich, 2016; Brasil, 2016c; University, 2016.

Carbofurano (metilcarbamato de 2,3-di-hidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-ilo) é classificado como um inseticida e uma substância perigosa aos seres humanos, pois prejudica o sistema nervoso central. Embora já tenha sido banido no Canadá e na União Europeia, ainda é intensivamente aplicado em países em desenvolvimento devido à sua alta eficácia e baixo custo (JIRASIRICHOTEA *et al*, 2017; BRASIL, 2016c).

Parationa metílica (fosforotioato de O,O-dimetil O-4-nitrofenilo) também é um inseticida altamente tóxico proibido na União Europeia

desde 2005 e no Brasil está proibido desde 2015 (OLIVEIRA *et al*, 2017; BRASIL, 2016c).

Tebuconazol ((RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil pentan -3-ol) é um fungicida considerado pela USEPA como uma substância carcinogênica humana devido à sua alta toxicidade para organismos aquáticos (ALTENHOFEN, 2017; BRASIL, 2016c).

A trifluralina (α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidina) e a pendimetalina (N-(1-etilpropil)-2,6-dinitro-3,4-xilidina) são herbicidas amplamente utilizados na agricultura. A trifluralina foi proibida na União Europeia desde março de 2008 devido à sua alta toxicidade em ambientes aquáticos. A pendimetalina também é considerada pela USEPA como substância carcinogênica humana, além de moderadamente persistente e bioacumulativa (ALSHALLASH, 2014; GALLI *et al*, 2011; ROHIT, 2017; BRASIL, 2016).

Além destes agrotóxicos, outras substâncias potencialmente nocivas à saúde humana e ao meio ambiente também devem ser monitoradas, sendo estas classificadas como poluentes orgânicos emergentes ou contaminantes emergentes.

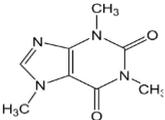
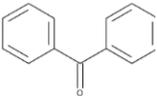
2.3.2 Contaminantes emergentes

Além do aumento do consumo de agrotóxicos no mundo, outras substâncias potencialmente prejudiciais à saúde necessitam de atenção, como alguns estudos já vêm apontando desde a década de 1990. Essas substâncias são introduzidas no meio ambiente diariamente, através de atividades antrópicas de origem natural, sintética ou de alguns micro-organismos, e não possuem legislação que limite sua quantificação no meio ambiente, por isso denominadas contaminantes emergentes (CARNEIRO *et al*, 2015; PETROVIC, 2003; CANELA *et al*, 2014; DIMPE, 2016; INOSTROZA *et al*, 2017). Essas substâncias são encontradas em alimentos, fármacos, produtos cosméticos, além disso, alguns agrotóxicos que não estão incluídos no monitoramento nacional, também são classificados como contaminantes emergentes (DIAS, 2015b; MAFRA *et al*, 2018 e CANELA *et al*, 2014).

Estudos já comprovaram seus efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente, mesmo em baixas concentrações como geralmente são encontrados. Sua presença no ambiente indica contaminação por despejo de esgoto doméstico ou descarte inadequado de resíduos hospitalares e industriais (PETROVIC, 2003; CANELA *et al*, 2014 e CARDOSO *et al*, 2013).

Nesse trabalho foram estudados dois contaminantes emergentes, a cafeína e a benzofenona. A cafeína (1,3,7-trimetil-2,3,6,7-tetra-hidro-1H-purina-2,6-diona) é um alcalóide encontrada em bebidas, alimentos e fármacos, e, quando ingerida atua no sistema nervoso central e sistema cardiovascular (MARIA, 2007). A benzofenona (difenilmetanona) é uma substância encontrada em protetores solares, age como filtro UV e interfere no bom funcionamento do sistema endócrino (DIAS, 2015b; MAFRA et al, 2018). Na Tabela 3 estão apresentadas as estruturas químicas, algumas propriedades físico-químicas e o subgrupo a qual pertencem os analitos estudados.

Tabela 3. Estrutura química, pKa, log K_{ow} e subgrupos dos contaminantes emergentes estudados nesse trabalho.

Analito	Estrutura química	pKa	log K_{ow}	Subgrupo	Referência
Cafeína (CFN)		8,3	0,091	Metil-Xantinas	Sigma Aldrich, 2016; Junior, 2014. Dias, 2015b;
Benzofenona (BZF)		Não ionizável	3,18	Benzofenonas	Sigma Aldrich, 2016.

Monitorar essas substâncias no meio ambiente é uma prática importante para manutenção e qualidade da vida, pois, são prejudiciais em baixas concentrações. Por isso, a etapa do preparo de amostra é fundamental para quantificar níveis de concentração mais baixos, remover interferentes que podem prejudicar a análise, além de, preservar os equipamentos analíticos.

2.4 PREPARO DE AMOSTRA EM QUÍMICA ANALÍTICA

A água de manancial é uma matriz complexa, pois contém diversas substâncias solubilizadas, além disso, muitas substâncias podem estar presentes em baixas concentrações (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$). Assim, devido à importância da manutenção da qualidade da água, muitos métodos têm sido desenvolvidos para monitorar substâncias que podem alterar a sua qualidade. Porém, a análise direta muitas vezes não é adequada, uma vez que pode danificar os equipamentos analíticos, além de não ser possível detectar analitos presentes em baixas concentrações. Dessa forma, é necessária uma etapa de preparo da amostra antes da análise com o objetivo de concentrar e transferir os analitos para uma solução compatível com a instrumentação analítica (DIMPE, 2016; MAFRA, 2018). Nessa etapa o risco de perda dos analitos e contaminação da amostra são preocupantes. Ainda existe o desafio de desenvolver uma metodologia compatível com os analitos e equipamentos utilizados (CARASEK, 2015; NOGUEIRA, 2016; NOGUEIRA, 2013.).

Técnicas convencionais ou clássicas, como a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) e a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*), embora de grande aplicação, apresentam algumas desvantagens, tais como: utilizam grandes volumes de amostras e de solventes tóxicos, o que gera grandes quantidades de resíduos. Além disso, a SPE apresenta um elevado custo, uma vez que, os cartuchos são geralmente descartados após um procedimento de extração; e a LLE apresenta problemas de formação de emulsão, muitas etapas para a separação de fases e secagem da fase orgânica com um dessecante (DIAS, 2015; BARTH, 2015; JARDIM, 2015; HASHEMI, 2018; KRÜGER, 2011).

Tendo em vista a preocupação com os impactos à saúde humana e ao meio ambiente, muitos estudos têm abordado a etapa de preparo de amostras visando a sua simplificação, miniaturização, automação, redução ou não utilização de solventes, tornando assim o processo mais econômico e gerando menos resíduos, dentre outros itens referentes à química verde, introduzidos a partir dos anos 1990 (NOGUEIRA, 2013; NOGUEIRA, 2015b; CARASEK, 2015).

Técnicas miniaturizadas como a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid-Phase Microextraction*) e a extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*) são exemplos de técnicas miniaturizadas, amplamente aplicadas e que se baseiam no mecanismo de sorção. A SPME foi proposta em 1990 por Janusz Pawliszyn e nessa técnica a extração é realizada com o auxílio de

um dispositivo que consiste de um bastão de sílica fundida recoberto com um filme fino de um material sorvente, o qual é colocado em contato com a amostra, podendo a extração ser de duas formas: imersão direta ou *headspace*. Uma das desvantagens é a fragilidade dos dispositivos que acabam necessitando de reposição, o que torna o custo da análise elevado (NOGUEIRA, 2015; AUGUSTO, 2015).

A técnica SBSE foi introduzida por Pat Sandra em 1999. O dispositivo de extração consiste de uma barra magnética revestida com material sorvente e conta ainda com agitadores magnéticos para agitação da amostra durante a extração. Sua desvantagem é semelhante à da SPME: fragilidade do dispositivo e perda do material sorvente, pois durante a agitação a barra fica em contato com as paredes do frasco que contém a amostra (SANDRA, 1999; NOGUEIRA, 2015b). Para superar essas limitações, novas técnicas foram desenvolvidas com o objetivo de introduzir novos dispositivos ou aplicar material sorvente mais seletivos com os compostos de interesse. Nesse contexto, Neng *et al* (2010) apresentou uma nova técnica baseada em microextração adsortiva (A μ E) utilizando dispositivos diferentes para fixar o material sorvente e assim, propôs duas configurações geométricas: a BA μ E utilizando barras cilíndricas e a microextração adsortiva em multiesferas (MSA μ E, do inglês *Multispheres Adsorptive Microextraction*) utilizando um conjunto de multiesferas (NENG, 2010; NOGUEIRA, 2015b; MAFRA, 2016).

2.5 MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA

A técnica BA μ E é uma técnica de microextração inovadora e apresenta muitas vantagens, sendo uma delas a utilização de dispositivos contendo fases extratoras alternativas de acordo com as propriedades físicas e químicas do analito, o que possibilita a análise de compostos orgânicos mais polares, superando a limitação de outras técnicas e ampliando a aplicação para matrizes complexas (NENG, 2010; NOGUEIRA, 2013; NOGUEIRA, 2015a). Outra vantagem dessa técnica é a análise de substâncias presentes no ambiente em baixas concentrações e aplicação em diversas matrizes, além disso, os dispositivos podem ser reutilizados, conforme a complexidade da matriz e condições experimentais (NOGUEIRA, 2013; NOGUEIRA, 2015; DIAS, 2015).

A extração é realizada por flutuação e sob agitação utilizando uma barra magnética e agitadores. Não ocorre contato da fase extratora com as paredes do frasco e por difusão os analitos migram da fase aquosa para a fase extratora (DIAS, 2015). Novas configurações foram desenvolvidas para auxiliar no desempenho da barra, como a utilização de um fio de aço

inoxidável para suspender e manter a barra imediatamente abaixo do vortex formado pela agitação. Também, foi introduzido um regulador de voltagem e um multímetro para medir a tensão acoplada a vários agitadores e assim, permitir a realização de extrações simultâneas (OENNING, 2017; MAFRA, 2016). A otimização das condições de extração é obtida sob agitação e a etapa de dessorção líquida também é realizada para encontrar as condições ideais e obter as melhores respostas. (NOGUEIRA, 2013; MAFRA, 2016).

Na Figura 1 está apresentada a barra utilizada no procedimento de BA μ E que consiste de um suporte de polipropileno cilíndrico revestido com fase extratora aderida por um adesivo e uma micrografia da fase extratora obtida por MEV. Na Figura 2 são apresentadas as etapas de extração e dessorção líquida da BA μ E. Na Figura 3 são apresentadas as novas configurações do procedimento de BA μ E.

Figura 1. Representação esquemática da barra utilizada no procedimento de BA μ E. Em (a) barra de polipropileno revestida com fase extratora aderida por um adesivo e em (b) micrografia da fase extratora obtida por MEV (Fonte: Adaptado de NOGUEIRA, 2013).

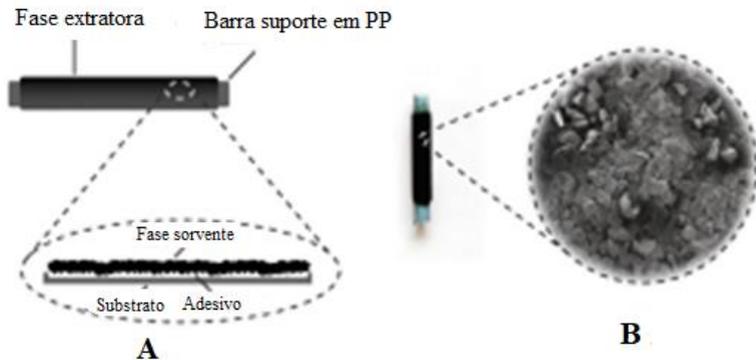


Figura 2. Representação das etapas da BA μ E, em: (A) microextração por flutuação e em (B) dessorção líquida, onde: (1) frasco de amostragem; (2) vortex; (3) amostra; (4) barra de agitação magnética em Teflon; (5) dispositivo de BA μ E; (6) frasco; (7) solvente para dessorção líquida (Fonte: Adaptado de NOGUEIRA, 2013).

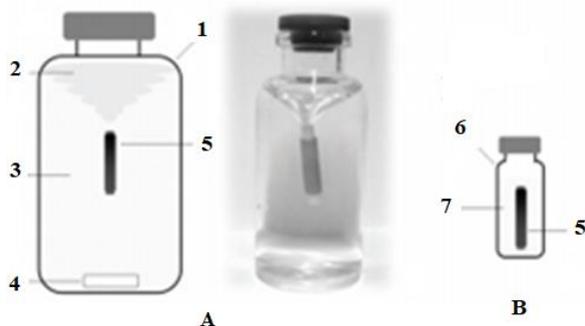
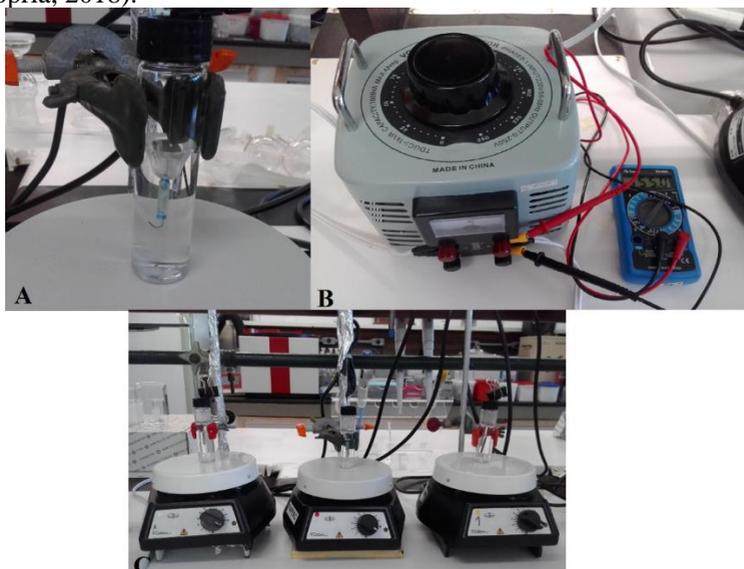


Figura 3. Nova configuração da BA μ E, em: (A) com fio de aço inoxidável; (B) regulador de voltagem e multímetro e (C) agitadores acoplados para realizar as extrações simultaneamente (Fonte: Autoria própria, 2018).



2.6 OTIMIZAÇÃO DA BA μ E

A técnica de BA μ E é um procedimento realizado em duas etapas, extração e dessorção líquida. Essas etapas são realizadas sob condições de equilíbrio ou pré-equilíbrio e com os parâmetros controlados, a fim de se obter a máxima eficiência de extração. Na etapa de extração são avaliadas condições cinéticas, tais como, tempo de extração e velocidade de agitação. Também são avaliadas condições termodinâmicas que refletem nas interações entre analitos e o material sorvente (fase extratora), como por exemplo: pH, força iônica (adição de sal), etc. Na etapa de dessorção líquida é importante avaliar a escolha do solvente e o tempo de imersão (NENG *et al*, 2010; NOGUEIRA, 2013).

O tempo de extração é uma variável que depende das interações entre os analitos e a fase extratora, ou seja, depende das propriedades dos analitos e da constituição da fase extratora. A velocidade de agitação deve ser suficiente para acelerar o processo de difusão dos analitos, manter a estabilidade da barra adsortiva e não desagregar a fase extratora (NENG *et al*, 2010; NOGUEIRA, 2013).

Parâmetros termodinâmicos devem ser estudados para avaliar o comportamento dos analitos na matriz perante algumas modificações, tais como: o pH deve ser ajustado para manter os analitos na sua forma não ionizada (neutra), para isso devem ser considerados os valores de pKa's; a força iônica é modificada adicionando um eletrólito forte, geralmente cloreto de sódio na matriz para avaliar o comportamento dos analitos referente aos fenômenos *salting out* ou *salting in* (NENG *et al*, 2010, NOGUEIRA, 2013; DIAS, 2015). Além das condições cinéticas e termodinâmicas, a escolha do sorvente (fase extratora) também é muito importante, pois deve ser seletivo com os analitos para ser obtida boa seletividade e capacidade de sorção, e assim, alcançar uma adequada eficiência de extração.

2.7 SORVENTE EM PREPARO DE AMOSTRAS

Materiais sorventes caracterizam-se por reterem compostos orgânicos, polares e/ou apolares, além de compostos metálicos/organometálicos devido às suas propriedades físico-químicas. Mas como são materiais sólidos constituídos por partículas muito finas, sua manipulação é difícil, por isso há a necessidade de desenvolver dispositivos analíticos que possam suportá-los para a realização das extrações. O material sorvente escolhido para ser utilizado na extração

deve apresentar baixo custo, ser homogêneo e deve adequar-se ao analito ou grupo de analitos (NOGUEIRA, 2013; MAGUETA, 2013).

Para esse trabalho foram testados quatro sorventes: um comercialmente disponível para DPX, denominada WAX, e outros três de origem natural: terra diatomácea, cortiça e bráctea. A WAX é constituída por grupos poliaminos, podendo atuar como trocadora aniônica fraca, nesse caso é utilizada para interações de adsorção com compostos ácidos, também pode ser utilizada como fase reversa forte, sendo assim, aplicado para a extração de drogas e metabólitos (DPX, 2018). A terra diatomácea é um sedimento amorfo originado a partir de frústulas ou carapaças de organismos vegetais unicelulares como algas microscópicas aquáticas, marinhas e lacustres; normalmente é denominada diatomita e desenvolve-se nas camadas geológicas da crosta terrestre. É constituída majoritariamente por sílica, SiO_2 (87 até 91%), grupos silanóis (Si-OH), alumina (Al_2O_3) e óxido férrico (Fe_2O_3). Foi utilizada como fase extratora de metais e herbicidas (MAFRA, 2016). A cortiça tem origem da casca do sobreiro (*Quercus suber L*), ela é composta por biopolímeros hidrofóbicos, suberina (40%) e lignina (24%); polissacarídeos (20%) (celulose e hemicelulose), os quais tem caráter hidrofílico; ceras e outros extrativos (15%). A cortiça foi utilizada como fase extratora de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e agrotóxicos organoclorados (DIAS, 2015). A bráctea escamiforme estéril da araucária *Angustifolia* têm a forma de uma cunha, cuja base está presa ao eixo da pinha. Em seu conjunto “calçam” os pinhões ainda na pinha, são as sementes da pinha que não se desenvolveram. Apresenta elevado teor de polifenóis, além de catequina, epicatequina e rutina (PÁDUA, 2015; SOUZA, 2013).

Após a escolha do sorvente e definidos os parâmetros a serem avaliados para o desenvolvimento de um procedimento de extração, é necessário estabelecer um planejamento para otimizar e avaliar o método analítico.

2.8 OTIMIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

O termo otimização estabelece um conjunto de experimentos que visam encontrar as melhores condições para o desenvolvimento de um método analítico (BEZERRA, 2016). O planejamento deve compreender os fatores que podem afetar de maneira significativa a resposta do experimento e identificar aquelas interações sejam mais significativas (HIBBERT, 2012; BEZERRA, 2008; MERIB, 2013).

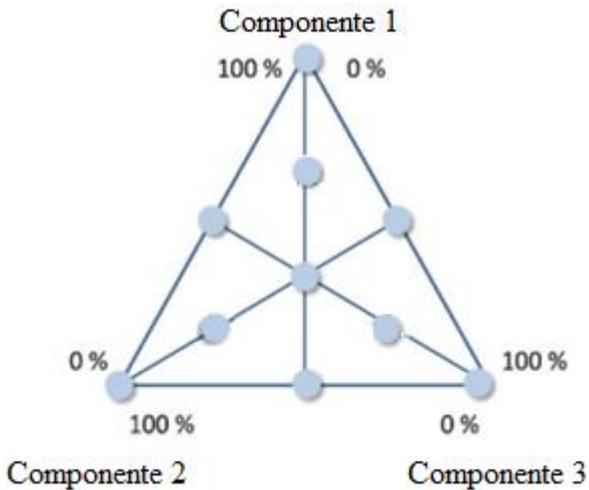
As otimizações podem ser realizadas de forma univariada onde é avaliada a influência de uma variável de cada vez, dessa forma, não é possível avaliar os efeitos das interações entre as variáveis, pois, enquanto uma variável é alterada, as demais variáveis permanecem constantes. Já na otimização multivariada, são alteradas duas ou mais variáveis simultaneamente com o objetivo de avaliar os efeitos das interações entre as variáveis, gerar o menor número de experimentos com o maior número de fatores e ainda reduzir tempo e consumo de reagentes (HIBBERT, 2012; BEZERRA, 2016).

Dentre as técnicas de análise estatística multivariada, uma das mais relevante é a metodologia de superfície de resposta (MSR), que descreve o comportamento das variáveis através de uma equação polinomial, onde simultaneamente é mensurado os diversos níveis dessas variáveis para obter a melhor resposta (BEZERRA, 2008).

Para determinar as condições ideais são usadas as superfícies geradas pelos modelos que indicam em qual direção se obtêm as melhores condições experimentais. Nos planejamentos envolvendo técnicas de microextração e cromatografia, o ideal é encontrar uma resposta aceitável e que atenda aos critérios mínimos avaliados, através da identificação da região da melhor resposta (BEZERRA, 2008; HIBBERT, 2012).

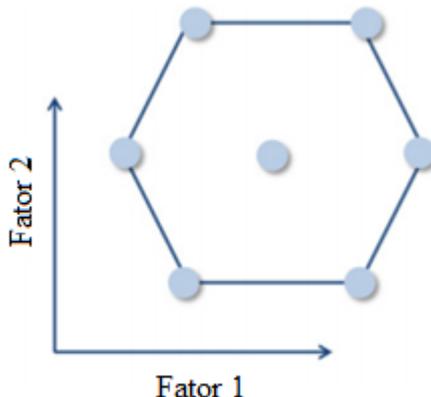
O planejamento *Doehlert* e o planejamento *Simplex-Centróide* são utilizados como metodologia de superfície de resposta - MSR. O planejamento *Doehlert* utiliza duas variáveis, uma com cinco níveis e outra com três níveis, sendo que para cinco níveis deve ser selecionada a variável com maior influência no sistema e para três níveis deve ser selecionada a variável com menor influência no sistema. Além disso, o planejamento *Doehlert* gera um número baixo de experimentos, sendo um total de 9. O planejamento *Simplex-Centróide* geralmente é empregado para a otimização de sistemas líquidos (misturas de solventes), sendo muito utilizado para avaliar o melhor solvente ou mistura de solventes empregados nos procedimentos de dessorção líquida envolvendo técnicas de microextração (FERREIRA, 2018). A escolha dos fatores e dos níveis é mais importante que o modelo, porém o modelo deve corresponder com o experimento estudado (HIBBERT, 2012). Nas Figuras 4 e 5 estão apresentados os modelos, planejamento *Simplex-Centróide* e planejamento *Doehlert*, respectivamente.

Figura 4. Planejamento *Simplex-Centróide* (Fonte: Adaptado de Hibbert, 2012).



No planejamento *Simplex-Centróide* cada ponto representa um experimento. Os vértices representam a proporção de 100% do solvente. Entre um vértice e outro a proporção é de 50% de cada solvente e o ponto central é referente à mistura em proporções iguais entre os três solventes estudados, totalizando 100% e são realizados em triplicata. Já os pontos entre os vértices e o ponto central, formam um triângulo menor, e os vértices correspondem a 66%, 33% e 33% dos respectivos solventes, totalizando doze experimentos.

Figura 5. Planejamento *Doehlert* (Fonte: Hibbert, 2012).



No planejamento *Doehlert*, cada ponto representa o valor da variável para cada experimento, sendo no eixo x (fator 1) avaliados cinco níveis e no eixo y (fator 2) três níveis. Os experimentos são realizados conforme as combinações resultantes desse planejamento. O ponto central é realizado em triplicata, totalizando nove experimentos.

Todo modelo deve ser avaliado para comprovar a credibilidade dos resultados gerados. A principal ferramenta empregada para avaliação do modelo é a análise de variância (ANOVA) (FERREIRA, 2018; DIAS, 2015).

Alguns parâmetros analíticos de mérito são utilizados para avaliar a metodologia, como: limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa linear de trabalho e coeficiente de correlação linear (R) (FERREIRA, 2018; DIAS, 2015). Segundo a AOAC, 2016, para os coeficientes de correlação linear (R) são considerados aceitáveis, valores quanto mais próximos a 1, menor a incerteza. Para avaliar a exatidão do método são realizados ensaios de recuperação relativa, sendo aceitáveis valores de recuperação relativa entre 40 e 120% para a concentração de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e entre 80 a 110% para a concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. A precisão do método é avaliada através da precisão interdia ($n=3$) e intradia ($n=9$), sendo aceitáveis valores de precisão abaixo de 45% para concentrações de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ e 22% para concentrações de $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e aplicar um método eficiente para a extração de 5 agrotóxicos e 2 contaminantes emergentes em amostras de água de manancial através da técnica de microextração adsorvente em barra (BA μ E) com separação e detecção por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector por arranjo de diodos (HPLC-DAD).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir barras adsorventes de BA μ E revestidas com material sorvente;
- Otimizar a separação e detecção dos analitos: cafeína, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol, benzofenona, trifluralina e pendimentalina por HPLC-DAD;
- Otimizar as condições de extração e dessorção por BA μ E;
- Otimizar uma etapa de limpeza entre cada extração;
- Determinar os parâmetros analíticos de mérito do método, tais como: limites de detecção (LODs) e quantificação (LOQs), faixa linear de trabalho, coeficientes de correlação linear (R), recuperação relativa e precisão intradia e interdia;
- Aplicar o método desenvolvido para a determinação dos analitos em amostras de água da Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú/Camboriú - SC.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 REAGENTES E MATERIAIS

Os padrões de cafeína, benzofenona, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol, trifluralina e pendimetalina foram adquiridos da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil) com grau de pureza de 99%. Água ultrapura (U.P.) foi obtida pelo sistema de água ultrapura (Mega Purity, Billerica, EUA). Os solventes acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH) grau HPLC foram comprados da JT Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA) e acetato de etila (AcET) grau HPLC foi adquirido da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil). Cloreto de sódio foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) e utilizado para o estudo do efeito *salting out* ou *salting in*. O pH da amostra foi ajustado com solução aquosa de ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Soluções estoques individuais foram preparados com concentrações de 100 mg L⁻¹ e 10 mg L⁻¹ em MeOH. Foi preparada uma solução contendo todos analitos, denominada de mix de trabalho, com concentração de 2 mg L⁻¹ em MeOH. Essa solução foi utilizada para fortificação das amostras aquosas nos experimentos de otimização da BAμE e para a determinação dos parâmetros analíticos de mérito do método. Como fases extratoras foram avaliados três sorventes de origem natural: terra diatomácea, cortiça e bráctea; e, um sorvente comercial, WAX, originalmente utilizado em ponteiras de DPX, obtido da DPXLabs (Columbia, SC, EUA). Todos os sorventes utilizados estavam na forma de pó.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

Neste estudo foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo LC 20AT (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector de DAD modelo SPD-M20A, injetor manual modelo Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA) e loop de injeção de 20 μL. A separação foi realizada em fase reversa com uma coluna C18 (Gemini, 5 μm de tamanho da partícula, 250 mm de comprimento x 4,6 mm d.i.) (Allcrom, SP) e vazão de 1 mL min⁻¹.

A eluição foi realizada em modo gradiente iniciando com 80% de B (água U.P.) e 20% de A (ACN), essa proporção foi mantida até 6,5 min; de 6,5 a 15 min, a proporção do solvente A foi aumentada para 80% e mantida até 20 min; de 20 a 25 min, a proporção da fase móvel A foi diminuída para 70% e mantida até 25 min; por fim, a proporção da fase

móvel foi retornada para a condição inicial e mantida até 30 min. Os comprimentos de onda monitorados foram 200 nm para cafeína, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol e trifluralina, 251 nm para benzofenona e 240 nm para pendimetalina.

Seis agitadores magnéticos (Fisatom, SP, Brasil) foram acoplados a um Variac Regulador de Tensão TDGC2-1 1KVA/4 AMP (EZA Instrumentos, São Paulo, Brasil) e a um filtro de linha NBR 20605 (Power Line). A tensão dos agitadores foi controlada por um Multímetro Digital ET-1002 (Minipa, São Paulo, Brasil) e mantida em 155 V em todas as extrações.

Uma balança analítica modelo AY 220 Marte (Mars Trade, Instrumentação Analítica, São Paulo, Brasil) foi utilizada para pesar os reagentes. Micropipetas de volume variável monocanal com volumes variando de 10 a 10.000 μL foram utilizadas para medir os volumes dos reagentes e padrões utilizados. Frascos de polipropileno com insert de vidro (Agilent, CA, EUA) foram usados na etapa de dessorção líquida e limpeza. Para a caracterização do material sorvente foram utilizados um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier Varian 3100 (Santa Clara, CA, EUA) e um microscópio Hitachi TM 3030 (Tóquio, Japão).

4.3 ESCOLHA E CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SORVENTE

Primeiramente foram avaliados os quatro sorventes para aplicação nessa metodologia: WAX, terra diatomácea, cortiça e bráctea. Foram produzidas barras adsorptivas com esses materiais, e, em seguida foram realizados os procedimentos de extração e dessorção líquida em água U.P. (branco) para avaliar os possíveis interferentes do material sorvente. Após, foram realizadas extrações em água U.P. fortificada para avaliar a eficiência de extração de cada um dos sorventes. Para identificar o sorvente mais adequado foram construídos gráficos de barras com as áreas obtidas para os analitos, também foram avaliados os cromatogramas dos brancos. As extrações foram realizadas em 15 mL de água U.P. fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, o tempo de extração foi de 60 min, sem adição de sal e sem ajuste de pH. Para a etapa de dessorção líquida foram utilizados 250 μL de ACN como solvente de dessorção e tempo de dessorção de 15 min, essas condições foram estabelecidas conforme Dias (2015) e Mafra (2016).

O material que apresentou os melhores resultados foi caracterizado por FTIR. Os espectros de FTIR foram gerados a partir de pastilhas de KBr. Foi observada também a morfologia do material através de

micrografias obtidas por MEV. As micrografias foram obtidas a partir de uma barra nova e outra utilizada 20 vezes.

4.4 PREPARO DAS BARRAS ADSORTIVAS

As barras foram preparadas conforme Dias (2015). O procedimento de preparo das barras consistiu em utilizar um tubo cilíndrico de polipropileno de 15 mm de comprimento por 3 mm de diâmetro. No tubo foi fixada uma fita adesiva dupla face de 10 mm de largura, na qual foi depositado o material sorvente.

Após o preparo foi realizada a limpeza e o condicionamento das barras. Para isso, as barras foram colocadas em frascos de polipropileno com *insert* de vidro (capacidade de 300 μL). Foram adicionados 250 μL de ACN e foi procedida agitação ultrassônica por 15 min. Após, as barras foram transferidas para outro frasco de polipropileno com *insert* de vidro e então foram adicionados 250 μL de água U.P. e foi realizada agitação ultrassônica por 30 minutos (DIAS, 2015; BORGES, 2015). Durante o preparo das barras não foi ultrapassada a temperatura de 36° C no banho ultrassônico para que não ocorresse o descolamento das fitas dupla face. A Figura 6 ilustra o procedimento para o preparo das barras, bem como o condicionamento.

Figura 6. Procedimento para o preparo das barras adsorptivas e condicionamento (Fonte: Autoria própria, 2018).



4.5 OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE BAME

A otimização é um procedimento para avaliação das variáveis que podem interferir nas análises químicas e estabelecer as condições para obtenção das melhores respostas analíticas (HIBBERT, 2012; BEZERRA, 2016). As otimizações foram realizadas de modo univariado e multivariado. Os dados experimentais obtidos através de ambas as abordagens foram processados usando o programa computacional *Microsoft Excel 2016* e o *Statsoft Statistica 8.0*.

As otimizações foram realizadas em água U.P fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito. As extrações foram realizadas em frascos de vidro com capacidade para 22 mL. O volume de água U.P. usado foi de 15 mL. As barras foram imersas nos frascos contendo água U.P. fortificada e as extrações foram realizadas sob agitação constante por 60 minutos. Após decorrido o período de extração foi realizada a etapa de dessorção líquida em frasco de polipropileno com *insert* de vidro com capacidade para 300 μL . A dessorção líquida foi realizada em banho de ultrassom utilizando 250 μL de ACN como solvente e o tempo de dessorção foi fixado em 15 minutos. Também foi realizado um branco da extração com a barra adsortiva para verificar a existência de picos cromatográficos nos tempos de retenção dos analitos.

4.5.1 Otimização dos parâmetros de dessorção líquida

a) Tempo de Dessorção

A otimização do tempo de dessorção foi realizado de modo univariado. Para isso, foram realizados cinco experimentos, cada um em triplicata, onde foram avaliados os tempos de dessorção de 10, 20, 30, 35 e 40 minutos.

b) Solvente de Dessorção:

Para avaliar o melhor solvente ou a mistura de solventes que proporcionam a melhor dessorção dos analitos foi utilizado o planejamento *Simplex-Centróide*. A escolha dos solventes foi baseada na solubilidade dos compostos orgânicos em estudo e considerando os trabalhos já desenvolvidos (TOBISZEWSKI, 2017; HIBBERT, 2012). Foram realizados doze experimentos, conforme Tabela 4, onde foram avaliados os seguintes solventes: ACN, MeOH e AcET. O volume total de solvente utilizado foi de 250 μL .

Tabela 4. Planejamento *Simplex-Centróide* para a otimização do solvente de dessorção.

Exp.	ACN %	MeOH %	AcET %
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	50	0	50
5	0	50	50
6	50	50	0
7	66,6	16,7	16,7
8	16,7	16,7	66,6
9	16,7	66,6	16,7
10	33,3	33,3	33,3
11	33,3	33,3	33,3
12	33,3	33,3	33,3

4.5.2 Otimização dos parâmetros de extração

Para esta otimização a velocidade de agitação não foi otimizada, considerando a condição estabelecida em trabalhos anteriores (DIAS, 2015; MAFRA, 2016).

a) Tempo de extração e adição de sal (% de NaCl)

A otimização dessas variáveis foi realizada através de uma análise multivariada utilizando o planejamento *Doehlert* com nove experimentos (Tabela 5), incluindo a triplicata no ponto central. O tempo de extração foi avaliado entre 45 a 145 minutos e a % de sal foi avaliada de 0 a 20%, não sendo avaliada a % de saturação do sal (30%) a fim de evitar a formação de cristais no sorvente, o que poderia danificá-lo. Para a

avaliação dos resultados foram utilizadas as médias geométricas das áreas dos picos cromatográficos dos sete analitos.

Tabela 5. Planejamento *Doehlert* adotado para o estudo do tempo de extração vs % sal.

Exp.	Tempo de Extração (minutos)	% Sal
1	60	0
2	130	0
3	45	10
4 5 6	115	10
7	145	10
8	60	20
9	130	20

b) Otimização do pH

A otimização do pH foi realizada de forma univariada acidificando a amostra para avaliar o comportamento dos analitos em meio ácido. Os valores de pH avaliados foram: 2,5; 3,0 e 3,5, realizados em triplicata.

4.6 OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DE LIMPEZA

A etapa de limpeza foi otimizada para que as barras pudessem ser reutilizadas. Foram avaliados os números de ciclos de limpeza necessários para que não houvesse efeito de memória entre os experimentos. Os experimentos foram realizados utilizando as condições determinadas na etapa de dessorção líquida.

4.7 PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO

Os parâmetros analíticos de mérito do método proposto utilizando a BA μ E foram avaliados através da construção de curvas analíticas utilizando o método de adição de padrão na matriz da amostra com os analitos nas concentrações de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ conforme os limites estabelecidos considerando os VMP estabelecidos pela Portaria 2.914/11/MS. As extrações foram realizadas em triplicata para cada ponto. Os coeficientes de correlação linear (R) foram obtidos baseados nas curvas analíticas. Os limites de quantificação (LOQ) foram adotados como sendo o primeiro nível de concentração da faixa linear de trabalho

e os limites de detecção (LOD) foram calculados dividindo o LOQ por 3,3. A precisão intradia (n=3) e interdia (n=9) avaliados através do desvio padrão relativo (RSD) e a exatidão do método avaliado em relação a % de recuperação relativa, foram realizadas através de extrações em triplicata em amostra de água de manancial da Bacia do Rio Camboriú do ponto de coleta 01, local de menor interferência antrópica comparada com os demais pontos de coleta, fortificada em três níveis de concentração (7,5, 50 e 125 $\mu\text{g L}^{-1}$) comum para todos os analitos. A exatidão foi avaliada como sendo a porcentagem da recuperação relativa e a precisão intradia e interdia foi calculada baseada no desvio padrão relativo (RSD). Foram considerados os critérios de aceitação mencionados na seção 2.8.

Os limites de quantificação para os agrotóxicos foram comparados à legislação nacional, Portaria 2914/11 do Ministério da Saúde (Brasil, 2011), que estabelece os VMP para os analitos em água destinada ao consumo humano, conforme apresentado na Tabela 2. Após definidos os parâmetros analíticos de mérito, foram analisadas amostras de água coletadas na Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú.

4.8 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E DA REPRODUTIBILIDADE DAS BARRAS

Os experimentos para avaliar a estabilidade das barras foram realizados nas condições otimizadas e em triplicata. Para isso, foram utilizadas três barras que passaram por diferentes números de extrações: barra 1 (utilizada 5 vezes); barra 2 (utilizada 10 vezes); e barra 3 (utilizada 20 vezes). As médias aritméticas obtidas das áreas cromatográficas de cada analito foram comparadas em um gráfico de barras.

A reprodutibilidade foi avaliada comparando a eficiência de extração de 3 barras adsorptivas a partir do gráfico de barras obtido pelas áreas cromatográficas de cada analito.

4.9 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO CAMBORIÚ

4.9.1 Amostragem

As coletas de água foram realizadas na Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú localizada no município de Camboriú/SC considerando o período das fases de preparo do solo, semeadura e colheita do arroz (VIERA *et al*, 2016). Essas fases são desenvolvidas conforme

recomendação da Epagri, em virtude do clima da região e desenvolvimento das plantas, ocorrendo a partir do mês de setembro e se estendendo até maio do ano seguinte, mês que ocorre a colheita (EBERHARDT, 2015).

Foram realizadas três amostragens, nos meses de novembro, dezembro e março, em 8 pontos amostrais, totalizando 24 amostras analisadas. Os oito pontos amostrais foram determinados de acordo com a seguinte consideração: 5 pontos de coleta próximos às riziculturas, portanto, podem interferir na qualidade da água, e outros 3 pontos que não sofrem interferência da rizicultura. As amostras foram filtradas e mantidas em frascos âmbar sob refrigeração a 4° C. As análises foram realizadas conforme orientações técnicas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014). Na Figura 7 está apresentada a localização dos pontos de coleta, na Tabela 6 estão apresentadas as coordenadas de localização e na Tabela 7 está apresentado o formulário para a descrição dos locais das coletas.

Figura 7. Localização da amostragem na Bacia Hidrográfica do Rio Camboriú/SC.

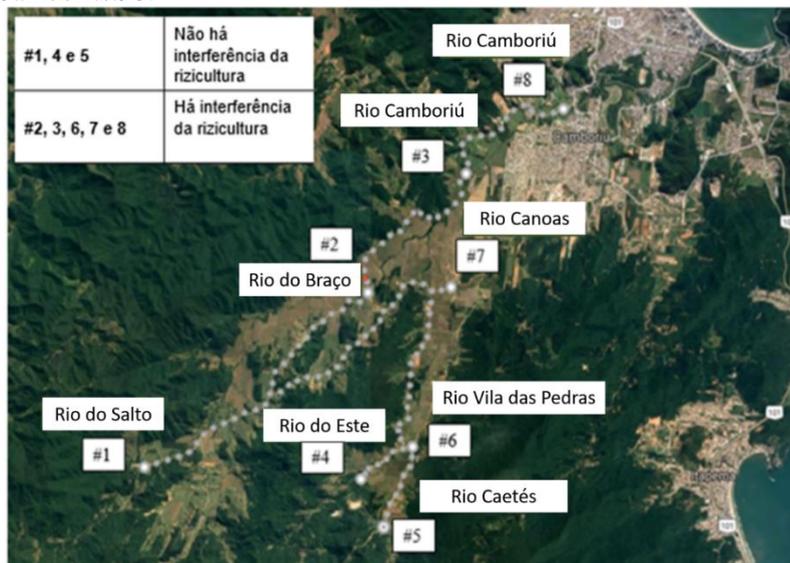


Tabela 6. Coordenadas geográficas dos pontos amostrais.

Ponto Amostrai	Coordenadas Geográficas
#1	Latitude: 27°5'38.1" Sul Longitude: 48°45'48.6" Oeste Elevação 32 m
#2	Latitude: 27°3'25.3" Sul Longitude: 48°42'14.2" Oeste Elevação 12 m
#3	Latitude: 27°1'55.0" Sul Longitude: 48°40'39.3" Oeste Elevação 7 m
#4	Latitude: 27°5'47.0" Sul Longitude: 48°42'19.9" Oeste Elevação 43 m
#5	Latitude: 27°6'23.2" Sul Longitude: 48°41'58.9" Oeste Elevação 54m
#6	Latitude: 27°5'22.2" Sul Longitude: 48°41'34.3" Oeste Elevação 47m
#7	Latitude: 27°3'20.4" Sul Longitude: 48°40'59.3" Oeste Elevação 14 m
#8	Latitude: 27°1'11.4" Sul Longitude: 48°39'23.7" Oeste Elevação 5 m

Tabela 7. Formulário para descrição dos locais de amostragem.

Tempo	Chuva nas últimas 24 h
	Chuva no momento da coleta
	Céu nublado
	Céu claro
Tipo de amostragem	Pontual
	Composta de x alíquotas
	A cada hora
Aspecto	Turva
	Límpida
	Levemente turva
	Outro
Odor da amostra	Característico
	Outro
Descrição do local de coleta	Mata ciliar
	Pastagem
	Presença de animais
	Lançamentos a montante
	Área habitada
	Área Industrial
Outro	
Ponto de coleta	Parado
	Corrente
	Presença de matéria orgânica, folhas, galhos e lodo
	Sólidos, areia, terra

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESCOLHA E CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SORVENTE

O material sorvente foi selecionado através de brancos realizados para comparar possíveis interferentes provenientes da fase extratora e que poderiam comprometer a análise das amostras e também pela eficiência do sorvente comparando as áreas obtidas das extrações realizadas com a bráctea, a cortiça, a terra diatomácea e a WAX. Os cromatogramas dos quatro sorventes monitorados em 200 nm foram comparados e estão apresentados na Figura 8. O gráfico de barras construído a partir das áreas obtidas das extrações utilizando os quatro sorventes está apresentado na Figura 9.

Figura 8. Cromatograma sobreposto dos brancos dos quatro sorventes avaliados.

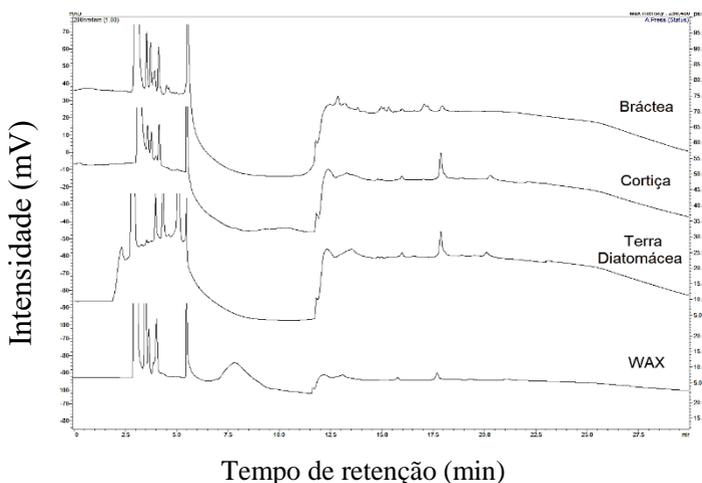
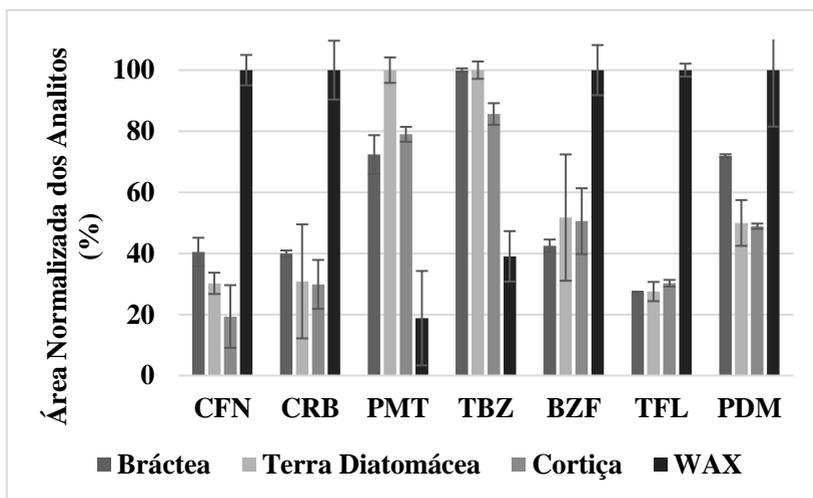


Figura 9. Gráfico de barras construído a partir das áreas obtidas das extrações usando os quatro sorventes para avaliar a eficiência.

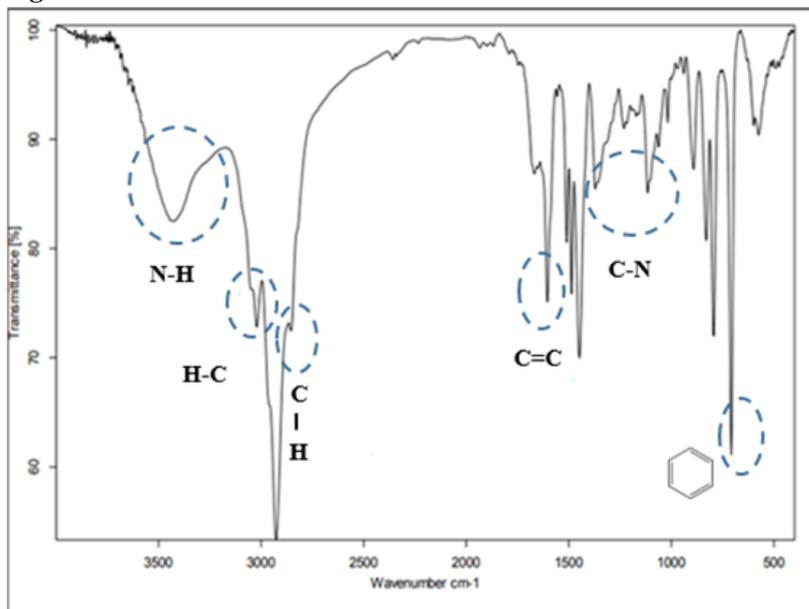


Como é possível observar na Figura 8, alguns picos aparecem no branco da bráctea entre 12,5 minutos e 17,5 minutos, o que podem implicar em interferências nesses tempos de retenção. Já para a cortiça e a terra diatomácea, é possível observar nos brancos picos mais intensos em 17,5 minutos e um pico em 20 minutos também podendo acarretar em interferência. Já o cromatograma do branco da WAX se apresenta mais limpo e com menor deformação da linha base. Além disso, de acordo com os resultados obtidos e avaliados através do gráfico de barras das extrações comparando os quatro sorventes (Figura 9), a WAX demonstrou melhor desempenho para a extração de cinco analitos, portanto foi escolhida como fase extratora para o desenvolvimento do trabalho.

Após escolhido o material sorvente, a WAX foi caracterizada por FTIR para avaliar os possíveis grupos funcionais presentes no material. Na Figura 10 pode ser observado que a fase sorvente exibe uma banda em 3400 cm^{-1} característica de um estiramento da ligação N-H da amina secundária. Na região de 1350 a 1000 cm^{-1} são bandas resultantes do alongamento da ligação C-H. A banda em 3050 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação C-H do carbono não-saturado, possibilidade de anel aromático e em 2850 cm^{-1} é atribuída uma banda ao estiramento da ligação C-H de um carbono saturado. A faixa em 1650 cm^{-1} pode ser

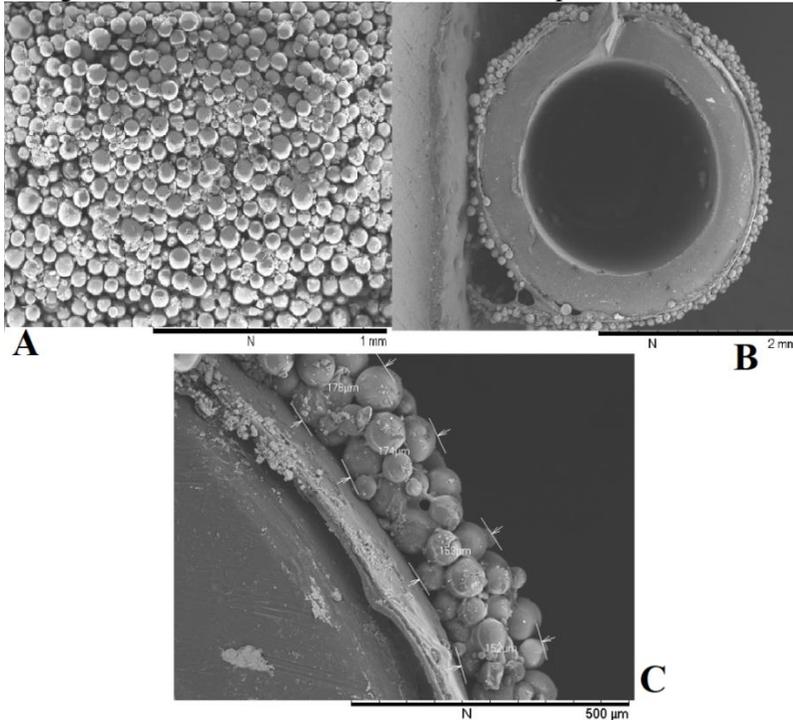
atribuída ao estiramento do anel. De acordo com as características dos analitos, que são pouco polares com exceção da carbofurano, ocorrem as interações de Van der Waals.

Figura 10. FTIR referente à WAX.



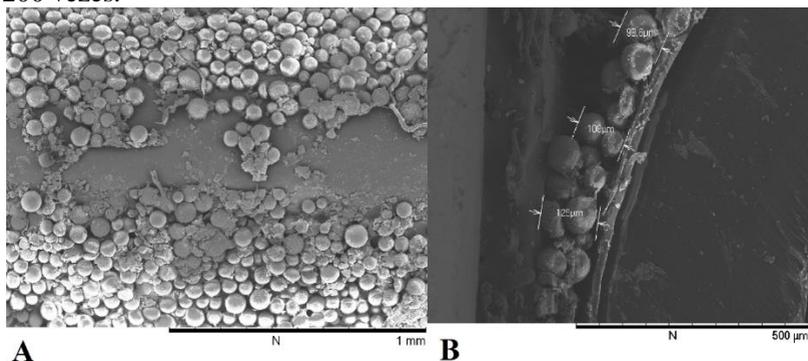
Para avaliar a superfície do sorvente, foram obtidas micrografias da superfície das barras de BA μ E (barra nova e usada 20 vezes) em diferentes magnificações, além disso, foram obtidas micrografias transversais para avaliar a espessura do sorvente da barra nova e da barra usada 20 vezes. Na Figura 11 estão apresentadas as micrografias para uma barra de BA μ E nova.

Figura 11. Micrografias obtidas por MEV para a barra de BA μ E nova. Em (A) superfície da barra recoberta com WAX ampliada 100 vezes; em (B) micrografia transversal da barra ampliada 40 vezes; e em (C) micrografia transversal da barra com medidas, ampliada 200 vezes.



Na Figura 11 (A e B) é possível observar um recobrimento homogêneo da WAX na barra adsortiva, além disso, é um material com partículas de mesma forma, tamanhos diferentes e uma superfície porosa. A Figura 11 (C) apresenta a espessura da superfície, variando entre 152 a 178 μm , com uma média de 165 μm de espessura. Na Figura 12, estão apresentadas as micrografias obtidas para uma barra adsortiva utilizada em 20 extrações.

Figura 12. Micrografia obtida por MEV para a barra adsortiva usada 20 vezes. Em (A) superfície da barra recoberta com WAX ampliada 100 vezes; e em (B) micrografia transversal da barra com medidas, ampliada 200 vezes.



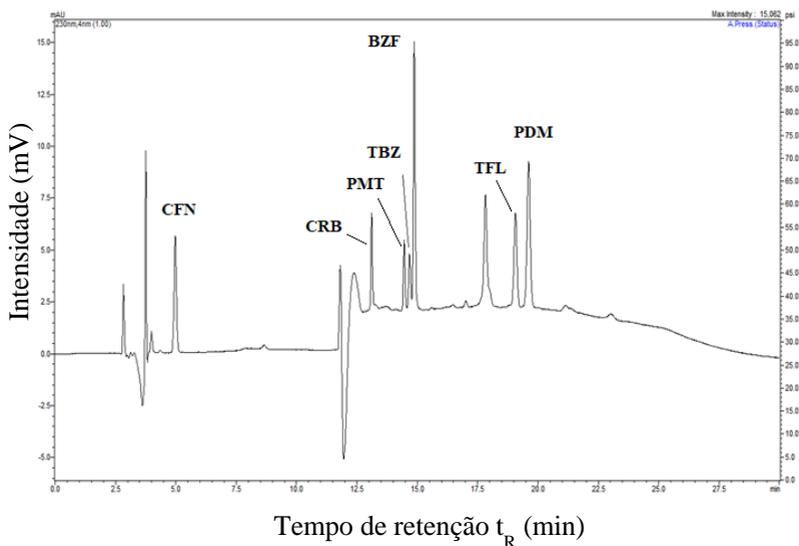
É observado na Figura 12 (A) uma perda de material sorvente que possivelmente deve estar relacionado com a manipulação da barra, pois durante o procedimento de retirar e colocar manualmente as barras nos frascos com *insert*, pode ocorrer o contato da barra com o frasco, além disso, podem ocorrer perdas durante a agitação na etapa de extração. Na Figura 12 (B) é observado que ocorre redução da espessura da fase extratora comparada à Figura 11 (C) da barra nova. Essa redução de espessura de cerca de 53 µm em média, além do decréscimo do tamanho das esferas quando comparado com a Figura 11 (C), pode ser justificado pelo desgaste durante os procedimentos de extração, desorção e limpeza. Embora ocorram perdas e desgaste da fase extratora, foi observado que a eficiência de extração da barra adsortiva foi mantida em até 20 ciclos de extração. Isso é devido ao volume de fase extratora de cerca de 4 mg e a não saturação devido a baixa concentração dos analitos, assim, restam sítios disponíveis para a interação com os analitos.

5.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO

Inicialmente foi otimizada a condição cromatográfica para a separação dos sete analitos utilizando como fase móvel ACN e água U.P. no modo gradiente conforme apresentado no item 4.2. A separação dos analitos foi obtida e os tempos de retenção registrados conforme cromatograma apresentado na Figura 13 no comprimento de onda de 230 nm para melhor visualização da separação, embora os analitos não foram monitorados nesse comprimento, pois, apresentaram melhores resultados

nos comprimentos de onda já mencionados anteriormente. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 30 minutos e os tempos de retenção dos analitos foram: cafeína 4,9 minutos, carbofurano 13,12 minutos, parationa metílica 14,47 minutos, tebuconazol 14,69 minutos, benzofenona 14,87 minutos, trifluralina 19,09 minutos e pendimetalina 19,62 minutos.

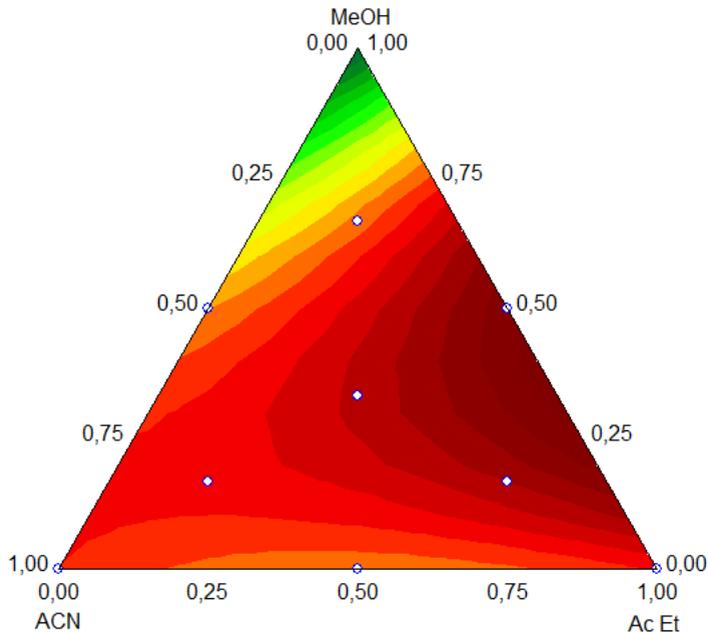
Figura 13. Cromatograma da injeção direta de 20 μL do mix de trabalho de 2 mg L^{-1} no HPLC-DAD em 230nm.



As otimizações foram realizadas na sequência apresentada na seção 4.5. Inicialmente as otimizações foram realizadas utilizando 15 mL de água U.P. fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito, o tempo de extração foi de 60 minutos. Para a dessorção dos analitos foram utilizados 250 μL de ACN e essa foi procedida por 15 minutos em banho ultrassônico, condições estabelecidas conforme Dias (2015) e Mafra (2016).

Na sequência, foi realizada a otimização da etapa de dessorção líquida, onde foi avaliado o melhor solvente ou mistura de solventes para a dessorção dos analitos através de um planejamento *Simplex-Centróide* construída a partir de uma função quadrática. A superfície resposta obtida está apresentada na Figura 14.

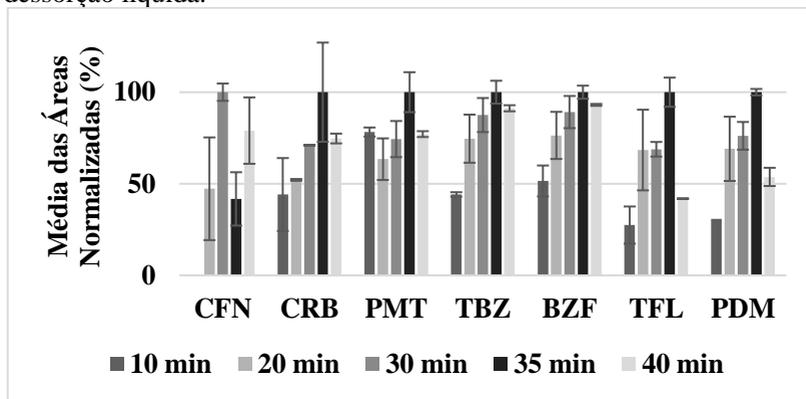
Figura 14. Superfície resposta obtida através do planejamento *Simplex-Centróide* para a otimização do solvente de dessorção líquida.



Na superfície resposta obtida com $R^2 = 0,9531$ é possível observar que com o uso de 100% de MeOH a dessorção dos analitos não foi satisfatória. Quando ACN foi usada a resposta cromatográfica foi melhorada. Contudo, as melhores respostas cromatográficas foram observadas com o uso de MeOH e AcET, isso devido à solubilidade e polaridade dos analitos apresentados na seção 2.3. Assim, de acordo com a superfície resposta, a mistura ideal dos solventes foi identificada como MeOH:AcET na proporção de 60:40 (v/v). Essa condição foi fixada para os próximos experimentos.

Após, foi otimizado o tempo necessário para a dessorção líquida, onde foram avaliados tempos de 10, 20, 30, 35 e 40 minutos, de forma univariada. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 15.

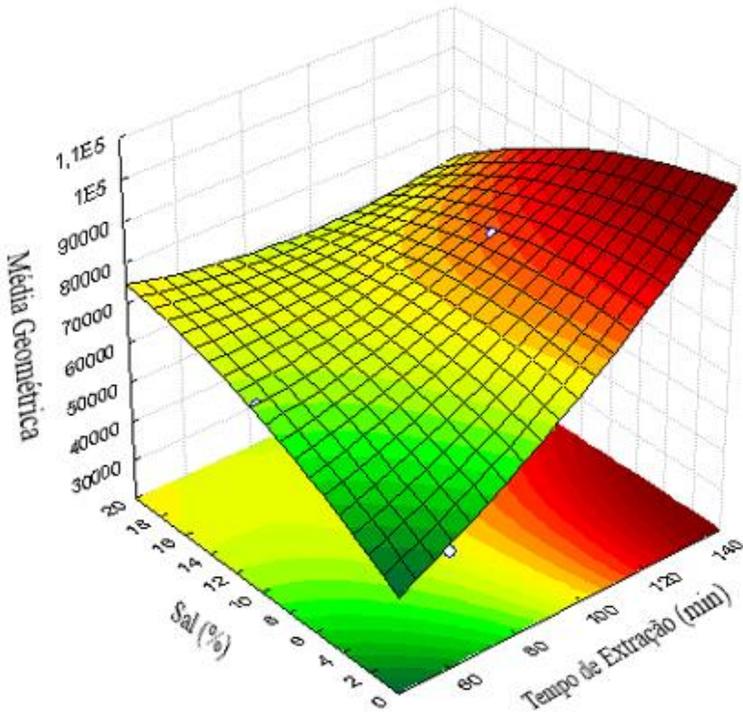
Figura 15. Gráfico de barras obtido para otimização do tempo de dessorção líquida.



De acordo com os tempos estudados, 35 minutos foi o tempo ideal para seis dos sete analitos, além disso, os RSDs foram relativamente baixos nesse tempo, com exceção da cafeína. Em 40 minutos pode ser observado um decréscimo na área de alguns analitos, isso pode ser devido ao retorno dos analitos para a fase extratora devido esta já apresentar muitos sítios ativos disponíveis para interagir novamente considerando que o meio do solvente está com uma concentração alta de analitos. Portanto, foi fixado 35 minutos como tempo de dessorção e essa condição foi utilizada para os experimentos subsequentes.

Em seguida foram otimizados o tempo de extração (45 a 145 minutos) e adição de sal (0 a 20% de NaCl) de forma multivariada, utilizando planejamento *Doehlert*. A superfície resposta obtida apresentou $R^2 = 0,97882$ (Figura 16).

Figura 16. Superfície resposta obtida para a otimização do tempo de extração vs % de sal (NaCl), através do planejamento Doehlert.

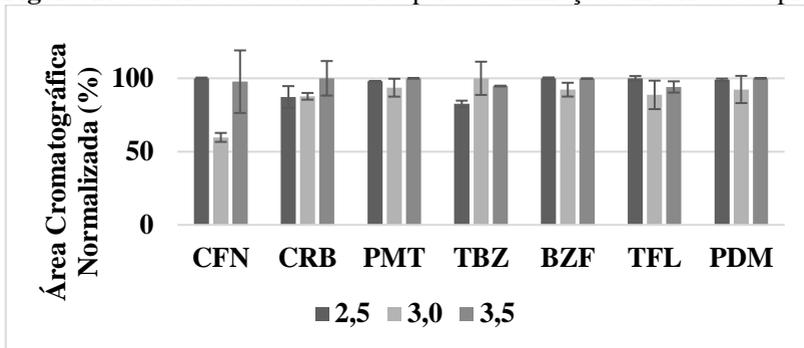


De acordo com a Figura 16, maiores tempos de extração proporcionariam a extração de maiores massas de analito, mas foi considerado 140 minutos o tempo ideal para a realização das extrações, pois, os limites de quantificação estabelecidos para o desenvolvimento do método foram alcançados e além disso, acima desse tempo a extração se torna muito longa, diminuindo a frequência analítica do método.

Em relação à porcentagem de sal adicionada na amostra, os melhores resultados foram obtidos sem a adição de sal. O resultado demonstra que ocorre o efeito *salting in*, isso é, a adição de sal impede a migração dos analitos para a fase extratora, ou ainda, repelem esses para a superfície da amostra ou são adsorvidos pelas paredes do frasco, pois a maioria dos analitos são pouco polares ($\log K_{ow} > 3$), com exceção do carbofurano, conforme apresentado na seção 2.3. Portanto, não foi adicionado sal na amostra nos experimentos subsequentes.

O pH foi otimizado de forma univariada em três níveis ácidos (2,5; 3,0 e 3,5). Na Figura 17, está apresentado o gráfico de barras obtido para o experimento.

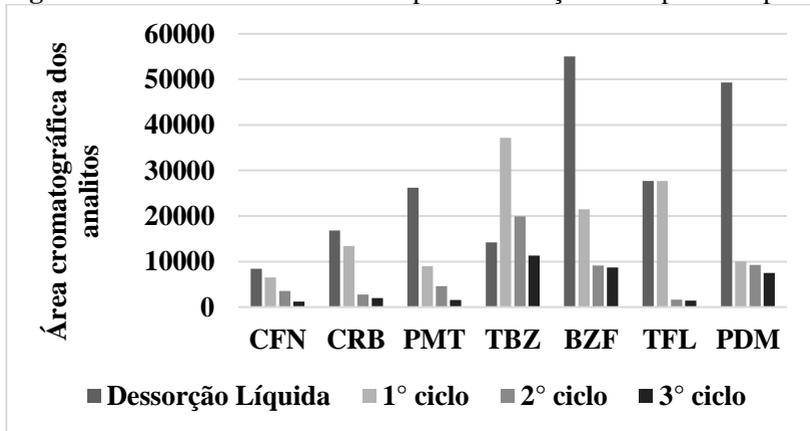
Figura 17. Gráfico de barras obtido para a otimização univariada do pH.



Segundo os dados obtidos, observa-se que os valores de pH avaliados apresentaram baixa influência na extração dos sete analitos estudados. Embora não se realizou avaliação em valores de pH básicos, foi fixado o pH no valor de 3,5 para realizar os demais experimentos.

Após completadas as etapas de otimização da extração e da dessorção, a condição ótima foi reconhecida como: 140 minutos para o tempo de extração, pH ajustado em 3,5, sem adição de sal, 35 minutos para o tempo de dessorção e MeOH:AcET (60:40) (v/v) como mistura de solvente de dessorção.

Em seguida foi otimizada a etapa de limpeza das barras para que estas pudessem ser utilizadas em mais extrações sem ocorrência de efeito de memória. O procedimento foi realizado utilizando as condições determinadas na etapa de dessorção: tempo de 35 minutos e uso de solventes MeOH:AcET (60:40) (v/v) e foram avaliados quantos ciclos eram necessários para garantir a limpeza das barras. Na Figura 18 estão apresentados os resultados obtidos a partir das áreas cromatográficas dos analitos após a etapa de dessorção líquida, primeiro, segundo e terceiro ciclos de limpeza.

Figura 18. Gráfico de barras obtido para a avaliação da etapa de limpeza.

É possível observar, a partir do gráfico construído, que a limpeza foi satisfatória após a realização de dois ciclos de limpeza, uma vez que foi observada uma diminuição considerável da área cromatográfica dos analitos. Por apresentarem áreas baixas e próximas a do terceiro ciclo de limpeza, estabeleceu-se apenas dois ciclos de limpeza das barras adsorptivas, evitando o efeito de memória e não diminuindo a frequência analítica, visto que cada ciclo é realizado em 35 minutos. Assim, esse procedimento foi adotado antes de todas as extrações.

5.3 PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO E APLICAÇÃO DO MÉTODO

Os parâmetros analíticos de mérito LOD, LOQ, faixa linear de trabalho e coeficientes de correlação linear foram obtidos através da construção de curvas analíticas realizadas na matriz da amostra no ponto 01 aplicando as condições previamente otimizadas. Os parâmetros analíticos de mérito estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros analíticos de mérito do método proposto.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R	Equação da reta
Cafeína	1,51	5,0	5 – 125	0,9972	$y = 67,07x + 271,7$
Carbofurano	1,51	5,0	5 – 125	0,9957	$y = 580,4x + 403,61$
Parationa Metílica	1,51	5,0	5 – 125	0,9983	$y = 502,54x + 1854,5$
Tebuconazol	1,51	5,0	5 – 250	0,9940	$y = 764,16x + 6651$
Benzofenona	2,27	7,5	7,5 - 125	0,9803	$y = 1122x + 2015,3$
Trifluralina	1,51	5,0	5 – 125	0,9998	$y = 549,93x - 234,27$
Pendimetalina	2,27	7,5	7,5 - 125	0,9946	$y = 786,47x + 412,99$

Conforme apresentado na Tabela 8, os valores de R foram maiores que 0,9803, indicando uma boa correlação linear entre os dados. Os LODs e LOQs para cafeína, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol e trifluralina foram de $1,51 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente; e os LODs e LOQs para benzofenona e pendimetalina foram de $2,27 \mu\text{g L}^{-1}$ e $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Esses foram menores que os VMP estabelecidos pela Portaria 2914/2011/MS para água de consumo humano. Assim, o método se mostrou adequado para a aplicação pretendida.

A exatidão do método foi avaliada através da recuperação relativa e a precisão foi avaliada através de ensaios de precisão intradia (n=3) e interdia (n=9). Esses experimentos foram realizados em três níveis de concentração comuns a todos os analitos conforme a curva analítica obtida. As recuperações e as precisões foram avaliadas na matriz da amostra, ponto 01 de amostragem do rio Camboriú no município de Camboriú/SC, e estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Recuperações relativas e precisões intradia e interdia para os analitos.

Analito	Nível de fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação Relativa (%) (n=3)	Precisão (RSD %)	
			Intradia (n=3)	Interdia (n=9)
Caféina	7,5	80	3	12
	50	94	4	3
	125	81	1	11
Carbofurano	7,5	82	11	12
	50	119	2	9
	125	116	8	7
Parationa Metílica	7,5	90	3	6
	50	113	9	6
	125	99	5	5
Tebuconazol	7,5	87	8	7
	50	119	7	14
	125	112	1	11
Benzofenona	7,5	81	14	16
	50	119	10	13
	125	117	5	8
Trifluralina	7,5	107	1	19
	50	118	1	7
	125	98	1	1
Pendimetalina	7,5	108	5	4
	50	111	6	6
	125	121	10	10

De acordo com os resultados obtidos, as recuperações relativas variaram de 80% a 108% no nível de concentração $7,5 \mu\text{g L}^{-1}$, 94% a 119% para o nível de concentração $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e 81% a 121% para o nível

de concentração $125 \mu\text{g L}^{-1}$. Essas recuperações estão de acordo com a faixa aceitável de 80% a 120%, segundo a AOAC. A precisão intradia variou de 0,1 a 14% e a interdia variou de 1 a 19%, estando de acordo com os limites aceitáveis de até 22%, segundo a AOAC (apresentado no item 2.8). Esses resultados demonstram que o método foi adequado para a extração e determinação da cafeína, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol, benzofenona, trifluralina e pendimetalina em água de manancial.

Na Tabela 10 os LOQs obtidos pelo método foram comparados com os VMP estabelecidos pelo MS para os agrotóxicos em água destinada ao consumo humano. Conforme é apresentado, os limites obtidos estão abaixo dos VMP estabelecidos para esses agrotóxicos.

Tabela 10. Agrotóxicos estudados e VMP em água destinada para o consumo humano.

Agrotóxico	VMP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$) do método proposto
Carbofurano	7	5
Parationa Metílica	9	5
Tebuconazol	180	5
Pendimetalina	20	7,5
Trifluralina	20	7,5

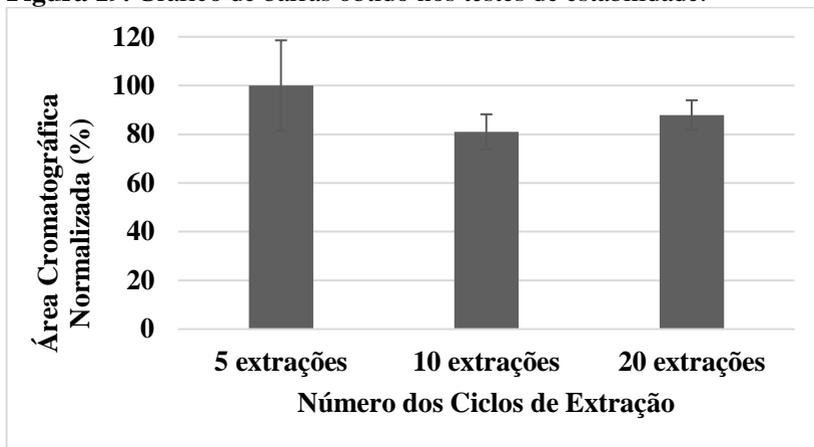
Esse método foi comparado com alguns descritos na literatura que determinaram os analitos estudados em amostras aquosas, considerando a técnica, os volumes de amostra, e de solventes utilizados (Tabela 13). O método proposto utiliza pouco volume de amostra e de solvente, 15mL e 300 μL , respectivamente, além de reutilizar as barras adsorptivas diminuindo resíduos gerados.

Tabela 11. Comparação do método proposto para determinação dos analitos estudados em amostras aquosas com os dados da literatura.

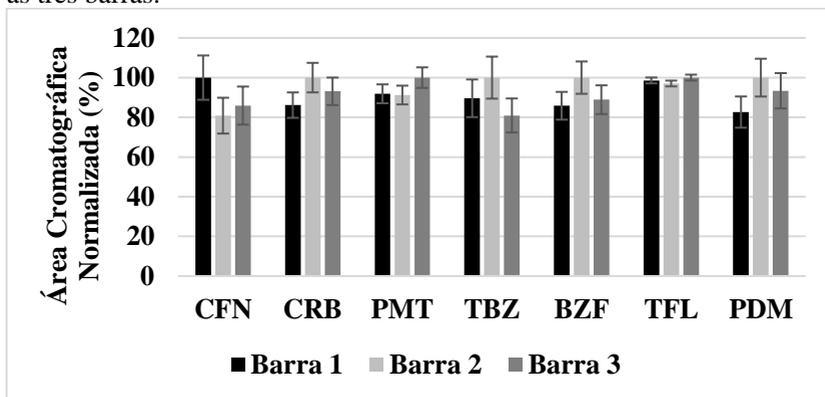
Analitos	Técnica preparo de amostra	Volume de amostra (mL)	Volume de solvente (mL)	Referência
Cafeína	SPE	>100	>10	Al-Qaim, 2014
Cafeína	SBSE	50	>5	Gilart, 2013
Cafeína	SPE	200	-	Molina, 2014
Carbofurano				
Parationa				
Metílica				
Tebuconazol				
Trifluralina				
Carbofurano	RDSE	50	>3	Donato, 2017
Tebuconazol				
Pendimetalina	SPE	10	10	Galli, 2011
Trifluralina	SPE	500 – 1000	>3	Mezcua, 2006

5.4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E REPRODUTIBILIDADE DAS BARRAS ADSORTIVAS.

A estabilidade das barras foi avaliada utilizando três barras que passaram por diferentes números de extrações: barra 1 (utilizada 5 vezes); barra 2 (utilizada 10 vezes); e barra 3 (utilizada 20 vezes). As extrações foram realizadas nas condições otimizadas e em triplicata. No gráfico de barras da Figura 19, é possível fazer a comparação entre 5, 10 e 20 ciclos de extração utilizando as três barras adsortivas, e através das médias das áreas cromatográficas de todos os analitos, pode-se observar que não há diferença significativa entre as 3 respostas, sendo possível determinar que as barras mantêm sua estabilidade e eficiência de extração em até 20 ciclos. A perda da fase extratora que ocorreu durante o desenvolvimento do método, como apresentado na Fig. 12, não comprometeu a eficiência e a estabilidade devido a quantidade de material sorvente, cerca de 4mg, impregnados na barra adsortiva, demonstrando que há sítios disponíveis para realizar interações com os analitos, pois esses encontram-se em baixas concentrações nessas amostras.

Figura 19. Gráfico de barras obtido nos testes de estabilidade.

Também foi avaliada a reprodutibilidade das barras, comparando as áreas cromatográficas utilizando 3 barras adsorptivas. De acordo com o gráfico apresentado na Fig. 20, as áreas cromatográficas obtidas são próximas e com RSDs menores que 20%, indicando que as barras são reprodutíveis, podendo ser realizadas extrações simultâneas conforme descrito no método.

Figura 20. Gráfico de barras obtido para avaliar a reprodutibilidade entre as três barras.

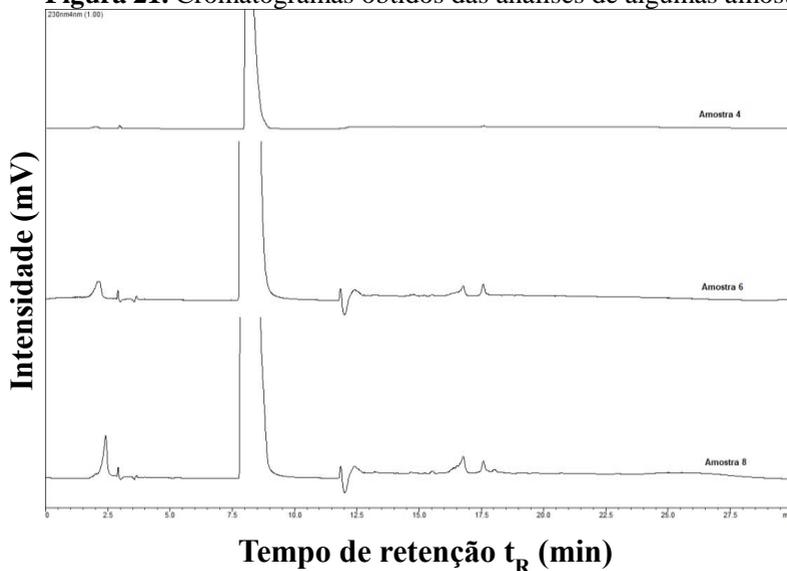
5.5 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO CAMBORIÚ

Foram analisadas vinte e quatro amostras de água de manancial. Nessas amostras os analitos estudados não foram detectados podendo: estar abaixo do limite de detecção do método, a presença de interferentes devido às chuvas intensas anteriores às coletas aumentando a turbidez, além do aumento do volume de água e da velocidade de vazão prejudicaram a detecção, conforme é apresentado na Tabela 10, ou ainda esses agrotóxicos não foram aplicados ou foram aplicados conforme a recomendação da EPAGRI e do MAPA.

Na Figura 21 são apresentados os cromatogramas demonstrativos de algumas amostras dos pontos de coleta 04, 06 e 08, considerando que a amostra 04 não recebe interferência da rizicultura e os pontos 06 e 08 recebem interferência da rizicultura.

Tabela 12. Descrições dos pontos amostrais.

Ponto		#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8
Tempo	Chuva nas últimas 24 h	x	x	x	x	x	x	x	x
	Chuva no momento da coleta								
	Céu nublado								
	Céu claro								
Tipo amostragem	Pontual	x	x	x	x	x	x	x	x
	de Composta de								
	alíquotas A cada hora								
Aspecto	Turva			x			x	x	x
	Límpida	x			x				
	Levemente turva		x			x			

Figura 21. Cromatogramas obtidos das análises de algumas amostras.

De acordo com a Tabela 12, é possível observar a ocorrência de chuva anterior às coletas das amostras tornando-as turvas e havendo a presença de materiais orgânicos, além de folhas, galhos, bem como atividades antrópicas realizadas em torno dos pontos amostrais, como presença de animais, áreas habitadas, além de lançamentos de dejetos a montante (acima) desse locais, bem como pouca ou ausência de mata ciliar, com exceção dos pontos de coleta 1 e 4, que são locais de menor incidência dessas atividades e o aspecto da amostra coletada ser límpida. E conforme os cromatogramas (Fig. 21) das amostras 4, 6 e 8 obtidos, observa-se a ocorrência de picos cromatográficos nas amostras 6 e 8, porém, em tempos de retenção diferentes dos analitos estudados.

6 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida para determinação de cafeína, benzofenona, carbofurano, parationa metílica, tebuconazol, trifluralina e pendimetalina em água de mananciais empregando a técnica de BAμE e WAX como material extrator, com posterior separação e detecção por HPLC-DAD foi devidamente otimizada e avaliada.

As barras são fáceis de serem produzidas, possuem vida longa desde que não sofram aquecimento quando utilizado o banho ultrassônico, apresentarem estabilidade e eficiência em até 20 procedimentos de extrações completos e também são reprodutíveis conforme resultados obtidos com RSDs menores que 20%. Além disso, foi otimizada e adotada uma etapa de limpeza para remover compostos que ficam aderidos ao sorvente após a dessorção líquida e condicionar as barras antes de cada experimento possibilitando a sua reutilização.

As otimizações foram realizadas de forma univariada e multivariada avaliando os principais parâmetros que afetam a extração e dessorção na técnica de BAμE. As curvas analíticas foram desenvolvidas na matriz da amostra, bem como os ensaios de precisão e exatidão. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram satisfatórios e abaixo dos VMP estabelecidos pela Portaria 2914/2011/MS para água de consumo humano e com os valores de R maiores que 0,9803. A exatidão do método foi avaliada através do procedimento de recuperação relativa e a precisão do método foi avaliada em ensaios de precisões intradia e interdía. Esses ensaios foram realizados em três níveis de concentração e em triplicata. Os resultados obtidos para a recuperação relativa e os ensaios de precisão intradia e interdía foram adequados conforme os limites aceitáveis baseados na AOAC.

O método desenvolvido foi aplicado na análise de vinte e quatro amostras coletadas na Bacia do Rio Camboriú/SC e os analitos não foram detectados nessas amostras. O método apresentou uma boa frequência analítica, sendo possível realizar até 6 experimentos de forma simultânea, estando os agitadores acoplados ao regulador e medidor de tensão, com o tempo de aproximadamente 46 minutos para a realização das análises.

O presente estudo mostrou-se uma boa alternativa para a extração simultânea dos 5 agrotóxicos e 2 contaminantes emergentes, poucos resíduos gerados pois o volume de amostras e solventes utilizados são pequenos além de reutilizar as barras adsorptivas conforme a estabilidade apresentada, bem como ser um método prático e rápido pois pode-se realizar extrações simultâneas de acordo com os resultados da reprodutibilidade apresentados.

7 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C., NOGUEIRA, J. M. F. Determination of trace levels of parabens in real matrices by bar adsorptive microextraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1348, p. 17–26, 2014.

AL-QAIM, F.F., *et al.* Multi-residue analytical methodology-based liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in surface water and effluents from sewage treatment plants and hospitals. **Journal of Chromatography A**, v. 1345, p. 139–153. 2014.

ALSHALLASH, K. S. Effect of Pendimethalin, Trifluralin and Terbutryn on *Lolium multiflorum* growing with barley during pre-emergence stage. **Annals of Agricultural Science**, v. 59(2), p. 239–242, 2014.

ALTENHOFEN, S. *et al.* Tebuconazole alters morphological, behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere** v. 180, p. 483-490, 2017.

ASATI, A. *et al.* Comparison of two microextraction methods based on solidification of floating organic droplet for the determination of multiclass analytes in river water samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry using Central Composite Design. **Journal of Chromatography A**, v. 1513, p. 157–171, 2017.

AOAC/ Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**: Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC Internacional: Maryland, 2016.

AUGUSTO, F. *et al.* **Microextração em fase sólida**: princípios, métodos, sorventes e acoplamento com a cromatografia gasosa. *In* BORGES, K. B. *et al.* Preparo de amostras para análises de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BARTH, T. **Extração líquido-líquido**. *In* BORGES, K. B. *et al.* Preparo de amostras para análises de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BEZERRA, M. A. *et al.* Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965–977, 2008

BEZERRA, M.A. *et al.* Simplex optimization: A tutorial approach and recent applications in analytical chemistry. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 45–54, 2016.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxico do Brasil e conexões com a União Europeia**. FFLCH USP SÃO PAULO, 2017.

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C. de; QUEIROZ, M. E. C. **Preparo de amostras para análises de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Águas. **Implementação do enquadramento em bacias hidrográficas no Brasil**. Sistema nacional de informações sobre recursos hídricos – SNIRH no Brasil: arquitetura computacional e sistêmica / Agência Nacional de Águas - Brasília: ANA, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Ministério da Saúde, 2011a.

BRASIL. CONAMA. **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Brasília: CONAMA, 2011b.

BRASIL. Agência Nacional de Águas (ANA). **O Comitê de Bacia Hidrográfica: o que é e o que faz?** Cadernos de capacitação em recursos hídricos. Agência Nacional de Águas. Brasília: SAG, 2011c.

BRASIL. CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: CONAMA, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde/MS. **Orientações técnicas para o monitoramento de agrotóxicos na água para consumo humano**. Brasília: 2014.

BRASIL. **Lei 7.809 de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações expostas a agrotóxicos**. Brasília: 2016a

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografias de produtos agrotóxicos**. **Brasília**: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2015. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm>> Acesso em 10 dez. 2016b.

BRASIL. Anvisa, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regularização de produtos – agrotóxicos**. Monografias autorizadas. Disponível em: << <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas> >>. Acesso em 10 dez. 2016c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Agrotóxicos na ótica do Sistema Único de Saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador**. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016d.

CANELA, M. C. *et al.* **Caféina em águas de abastecimento público no Brasil**. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas – INCTAA. São Carlos: Cubo, 2014

CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p. 8-25, 2015.

CARDOSO, F. D.; *et al.* Utilização da Cafeína como Indicador de Contaminação por Esgotos Domésticos na Bacia do Alto Iguaçu. RBRH – **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**. v. 18, n.2 –Abr/Jun,p. 201-211.2013.

CARNEIRO, F. F.; *et al* (Org.) **Dossiê ABRASCO**: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CHELME-AYALA, P.; *et al.* Degradation of bromoxynil and trifluralin in natural water by direct photolysis and UV plus H₂O₂ advanced oxidation process. **Water Research**, v. 44, p. 2221–2228, 2010.

DIAS, Adriana Neves. **CORTIÇA**: uma nova abordagem como fase extratora para microextração em fase sólida e microextração em barra adsortiva. 2015. 151 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015a.

DIAS, A. N. *et al.* A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59-66, 2015b.

DIMPE, K. M.; NOMNGONGO, P. N. Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, p. 199–207, 2016.

DONATO, F.F., *et al.* Evaluation of the rotating disk sorptive extraction technique with polymeric sorbent for multiresidue determination of pesticides in water by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1516, p. 54–63, 2017.

DPX Technologies. **DPX-WAX**. Disponível em: <<<http://dpxtechnologies.com/choose-your-chemistry/>>> Acesso em: 03 jun. 2018.

EBERHARDT, D.S.; SCHIOCCHET, M.A.(Orgs). **Recomendações para a produção de arroz irrigado em Santa Catarina (sistema pré-germiando)**. Florianópolis: Epagri, 2015.

PIHLSTRÖM, T. (org) *et al.* **Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed.** European Commission Directorate-General for Health and Food Safety, 2015.

FERREIRA, S.L.C. *et al.* Multivariate optimization techniques in analytical chemistry - an overview. **Microchemical Journal**, v. 140, p. 176–182, 2018.

GALLI, A. *et al.* Pendimethalin determination in natural water, baby food and river sediment samples using electroanalytical methods. **Microchemical Journal**, v. 98, p. 135–143, 2011.

GASPARINI, M. F.; VIEIRA, P. F. A (in)visibilidade social da poluição por agrotóxicos nas práticas de rizicultura irrigada: síntese de um estudo de percepção de risco em comunidades sediadas na zona costeira de Santa Catarina. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 21, p. 115-127, 2010.

GILART, N., *et al.* Preparation of a polar monolithic coating for stir bar sorptive extraction of emerging contaminants from wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 1295, p. 42–47, 2013.

HASHEMI, B. Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples. **Talanta**, v 187, p.337 – 347, 2018.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: A tutorial **Journal of Chromatography B**, v. 910, p. 2–13, 2012.

IKEHASHI, H. The Origin of Flooded Rice Cultivation. *Rice Science*, 2007, 14(3): 161-171.

INOSTROZA, P. A. *et al.* Chemical activity and distribution of emerging pollutants: Insights from a multi-compartment analysis of a freshwater system. *Environmental Pollution*, v. 231, p. 339-347, 2017.

JARDIM, I. C. S. F. **Princípios da extração em fase sólida.** In BORGES, K. B. *et al.* Preparo de amostras para análises de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

JIRASIRICHOTEA, A. *et al.* Voltammetric detection of carbofuran determination using screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles and graphene oxide. **Talanta**, v. 175, p. 331–337, 2017.

JUNIOR, O.M.C.; *et al.* **Effects of pH and activated carbon surface chemistry on the adsorption of caffeine from aqueous solution.** Guarujá: X Encontro Brasileiro sobre Adsorção, 2014.

KRÜGER, O. Comparison of stir bar sorptive extraction (SBSE) and liquid–liquid extraction (LLE) for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in complex aqueous matrices. **Talanta**, v. 85, p. 1428-1434, 2011.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida.** – Rio de Janeiro: AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011.

MAKEHELWALA, M. Thermodynamics of carbofuran adsorption on pyrite. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 51, p. 1–7, 2012.

MAFRA, G. *et al.* Low-cost approach to increase the analysis throughput of bar adsorptive microextraction (BA μ E) combined with environmentally-friendly renewable sorbent phase of recycled diatomaceous earth. **Talanta**, v. 178, p. 886–893, 2018.

MAFRA, Gabriela Pereira. **Desenvolvimento de metodologia de microextração adsorptiva em barra utilizando terra diatomácea para determinação de desreguladores endócrinos em água.** 2016. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

MAGUETA, R. C. **Preparação, caracterização e aplicação de sorvente C18 sobre sílica zirconizada para extração em fase sólida.** 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Química, Instituto de Química – UNICAMP, Campinas, 2013.

MARIA de, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. M. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 99-105, 2007.

MERIB, J. O. **Otimização e aplicação da microextração em fase sólida com e sem refrigeração interna em amostras de ervas medicinais e**

água de rio. 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

MEZCUA, M. Application of ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry to the analysis of priority pesticides in groundwater. **Journal of Chromatography A**, v. 1109, p. 222–227, 2006.

MOLINA, J. R., *et al.* Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1350, p. 30–43, 2014.

NATIONAL Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Database**; CID 2519. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/caffeine>. Acesso em 20 mar 2016.

NANTIA, E. A. *et al.* QuEChERS-based method for the determination of carbamate residues in aromatic herbs by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 216, p. 334–341, 2017.

NENG, N.R. *et al.* Adsorptive micro-extraction techniques—Novel analytical tools for trace levels of polar solutes in aqueous media. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 7303–7310, 2015a.

NETO, A. O. (org). **A cultura do arroz.** Brasília: Conab, 2015.

NOGUEIRA, J. M. F. Microextração adsortiva em barra (BA μ E): Um conceito analítico inovador para microextração estática. **Scientia Chromatographica**. v. 5(4), p. 275-283, 2013.

NOGUEIRA, J.M.F. *et al.* Enhancement for trace analysis of sulfonamide antibiotics in water matrices using bar adsorptive microextraction (BA μ E). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 129, p. 593-599, 2016.

NOGUEIRA, J.M.F. **Microextração sortiva em barra de agitação.** In BORGES, K. B. *et al.* Preparo de amostras para análises de compostos orgânicos. Rio de Janeiro: LTC, 2015b.

NOGUERIA, J. M. F. Stir-bar sortive extraction: 15 years making sample preparation more environment-friendly. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 214–223, 2015a.

OENNING, A. L. *et al.* A new configuration for bar adsorptive microextraction (BAMe) for the quantification of biomarkers (hexanal and heptanal) in human urine by HPLC providing an alternative for early lung cancer diagnosis. **Analytica Chimica Acta**, v. 965, p. 54–62, 2017.

OLIVEIRA, *et al.* The use of activated biochar for development of a sensitive electrochemical sensor for determination of methyl parathion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 799, p. 602–608, 2017.

ORGANIZAÇÃO Mundial da Saúde (OMS). **Grave problema de saúde pública: suicídio é responsável por uma morte a cada 40 segundos no mundo.** 2016. Disponível em: <<https://www.paho.org>> Acesso em: 09 dez. 2016.

PÁDUA, J.A.R. **Diversidade e estrutura genética de populações naturais de araucaria angustifolia (araucariaceae) no estado de Minas Gerais.** 2015, Tese (Doutorado). Curso de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

PARAVIL, G. Mapping technological trajectories of the Green Revolution and the Gene Revolution from modernization to globalization. **Research Policy**, v. 32, p. 971–990, 2003.

PERES, Frederico; MOREIRA, Josino.(org). **É veneno ou é remédio? agrotóxicos, saúde e ambiente.** Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

PETROVIC, M.; GONZALEZ, S.; BARCELO, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 685–696, 2003.

PIRI-MOGHADAM, H. *et al.* Inter-laboratory validation of a thin film microextraction technique for determination of pesticides in surface water samples. **Journal Analytica Chimica Acta**, v. 964, p. 74 – 84, 2017.

ROHIT, J. V.; Kailasa, S. K. Simple and selective detection of pendimethalin herbicide in water and food samples based on the

aggregation of ractopamine-dithiocarbamate functionalized gold nanoparticles. **Sensors and Actuators B**, v. 245, p. 541–550, 2017.

SANDRA, P.; *et al.* Stir Bar Sorptive Extraction SBSE , a Novel Extraction Technique (SBSE) for Aqueous Samples: Theory and Principles. **Journal Microcolumn Separations**, v. 11 (10), p. 737- 747, 1999.

SIGMA ALDRICH. SDS **Search and Product Safety Center**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/safety-center.html>>Acesso em: 10 dez. 2016

SOCIEDADE Sul Brasileira de Arroz Irrigado – SOSBAI. **Arroz Irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Pelotas: SOSBAI, 2016.

SOUZA, J.C. *et al.* A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, p. 146–162, 2018.

SOUZA, M. D. O. de. **Caracterização química, atividade antioxidante e antigenotóxica de extrato de brácteas de Araucaria angustifolia (Bert) O. Kunz**. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2013.

TALEBIANPOOR, M. S. *et al.* Preconcentration of carbamate insecticides in water samples by using modified stir bar with ZnS nanoparticles loaded on activated carbon and their HPLC determination: Response surface methodology. **J. Microchemical Journal**, v. 130, p. 64–70, 2017.

TANKIEWICZ, M. *et al.* Solventless and solvent-minimized sample preparation techniques for determining currently used pesticides in water samples: A review. *Talanta*, v. 86, p. 8–22, 2011.

TOBISZEWSKI, M; NAMIESNIK J. Greener organic solvents in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 5, p. 1–4, 2017.

UNIVERSITY of Hertfordshire, PDB, **Pesticide Properties Database**. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/511.htm>. Acesso em: 10 mar 2016.

USEPA. **Aquatic life criteria for contaminants of emerging concern part i general challenges and recommendations**. OW/ORD Emerging Contaminants Workgroup, 2008.

VIEIRA, D.C. *et al.* Ecological risk analysis of pesticides used on irrigated rice crops in southern Brazil. **Chemosphere**, v. 162, p. 48-54, 2016.