

## **Análise de clorpirifós: otimização, validação e aplicação em amostras de suco de laranja em Itumbiara, Brasil**

Rafael Caetano dos Santos <sup>[1]</sup>, Cínthia Silva Tavares <sup>[2]</sup>, João Paulo Victorino Santos <sup>[3]</sup>, Adilson Correia Goulart <sup>[4]</sup>, Simone Machado Goulart <sup>[5]\*</sup>

<sup>[1]</sup> [rafaelcaetano890@gmail.com](mailto:rafaelcaetano890@gmail.com), <sup>[2]</sup> [cinthiatavares1423@gmail.com](mailto:cinthiatavares1423@gmail.com), <sup>[3]</sup> [joao.santos1@ifg.edu.br](mailto:joao.santos1@ifg.edu.br), <sup>[4]</sup> [adilson.goulart@ifg.edu.br](mailto:adilson.goulart@ifg.edu.br), <sup>[5]</sup> [simone.goulart@ifg.edu.br](mailto:simone.goulart@ifg.edu.br). Instituto Federal de Goiás (IFG), Itumbiara, Goiás, Brasil

\* autor correspondente

### **Resumo**

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas e o principal exportador de seu suco. No cultivo de laranja, o pesticida clorpirifós, conhecido por sua alta toxicidade, é amplamente utilizado, com sua concentração não permitida a exceder 2 mg.kg<sup>-1</sup>. Embora a aplicação de clorpirifós seja proibida em muitos países, seu uso no Brasil está atualmente sob revisão. Portanto, desenvolver técnicas otimizadas e validadas para detectar este composto é crucial para a saúde pública e proteção ambiental. O método de Extração Líquido-Líquido de Partição em Baixa Temperatura (LTPLLE) provou ser uma alternativa eficiente para extração de pesticidas de diversas matrizes ambientais e alimentares. Este estudo teve como objetivo otimizar e validar o LTPLLE para extrair clorpirifós do suco de laranja, seguido de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção ultravioleta (HPLC-UV). A sustentabilidade do método foi avaliada usando a ecoescala analítica. A metodologia foi aplicada em amostras de suco de laranja adquiridas em supermercados e mercados de Itumbiara, Goiás. O método LTPLLE, otimizado e validado neste estudo, apresentou boa seletividade, linearidade ( $R^2 > 0,99$ ), alta exatidão e precisão, com taxas de recuperação acima de 90% e abaixo de 120%, e desvio padrão relativo (RSD)  $\leq 20\%$ . Em relação à ecoescala analítica, o método obteve pontuação 84, indicando um excelente perfil ambiental. A análise das amostras de suco comercializadas em Itumbiara-GO detectou 2,83 mg.kg<sup>-1</sup> de clorpirifós em uma das amostras, valor que excede o limite máximo de resíduo estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

**Palavras-chave:** agrotóxicos; citrus; cromatografia; ELL-PBT; inseticida.

### ***Chlorpyrifos analysis: optimization, validation, and application in orange juice samples in Itumbiara, Brazil***

#### ***Abstract***

*Brazil is the world's largest producer of oranges and the leading exporter of its juice. In orange cultivation, the pesticide chlorpyrifos, known for its high toxicity, is widely used, with its concentration not allowed to exceed 2 mg.kg<sup>-1</sup>. Although the application of chlorpyrifos is banned in many countries, its use in Brazil is currently under review. Therefore, developing optimized and validated techniques for detecting this compound is crucial for public health and environmental protection. The Low-Temperature Partitioning Liquid-Liquid Extraction (LTPLLE) method has proven to be an efficient alternative for pesticide extraction from various environmental and food matrices. This study aimed to optimize and validate LTPLLE to extract chlorpyrifos from orange juice, followed by analysis using High-Performance Liquid Chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV). The method's sustainability was assessed using the analytical eco-scale. The methodology was applied to orange juice samples purchased from supermarkets and markets in Itumbiara, Goiás. The LTPLLE method, optimized and validated in this study, showed good selectivity, linearity ( $R^2 > 0.99$ ), high accuracy and precision, with recovery rates above 90% and below 120%, and a relative standard deviation (RSD)  $\leq 20\%$ . Regarding the analytical eco-scale, the method scored 84, indicating an excellent environmental profile. The analysis of the juice samples commercialized in Itumbiara-GO detected 2.83 mg.kg<sup>-1</sup> of chlorpyrifos in one of the samples, a value exceeding the maximum residue limit set by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA).*

**Keywords:** chromatography; citrus; insecticide; LTP-LLE; pesticides.

## 1 Introdução

Com a crescente demanda por maximização da produção agrícola, o uso indiscriminado de agrotóxicos para o controle de pragas tornou-se uma preocupação ambiental e de saúde pública cada vez mais relevante (Silva *et al.*, 2019). Desde 2008, o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo, dependente de um sistema de produção agrícola que gera sérios riscos à saúde, como bradicardia, miose, espasmos intestinais e brônquicos, além de problemas neurológicos, como convulsões e fibrilações musculares (Cassal *et al.*, 2014). Estima-se que a população brasileira consome, em média, 7 kg de agrotóxicos por pessoa anualmente, o que evidencia o impacto preocupante tanto em nível individual quanto coletivo (Frota; Siqueira, 2021).

Em um levantamento sobre a caracterização das condições de trabalho relacionadas ao uso de agrotóxicos por pequenos agricultores na Paraíba, verificou-se que a maioria deles utiliza agrotóxicos em condições irregulares, agravando o potencial de geração de doenças ocupacionais. Todos os agricultores afirmaram não ter recebido treinamento sobre a segurança nesse tipo de trabalho, o que é extremamente preocupante (Gomes *et al.*, 2019).

De acordo com Yang *et al.* (2024), o uso generalizado de agrotóxicos na agricultura frequentemente resulta na presença de múltiplos resíduos desses compostos tóxicos nos alimentos, o que pode acarretar riscos cumulativos à saúde humana. Nesse contexto, a laranja, uma das frutas mais cultivadas com adição de agrotóxicos, destaca-se por sua popularidade devido aos altos níveis de vitamina C, sendo considerada essencial para uma dieta saudável. No entanto, as plantações de laranja são frequentemente afetadas por pragas e doenças que prejudicam a qualidade dos frutos, seja para a indústria de sucos ou para o mercado de frutas frescas. O sucesso da citricultura, além dos aspectos relacionados à implantação do pomar, depende do manejo adequado em todas as etapas de produção (Dechen; Castro; Nachtigall, 2004).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), dados publicados no Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA) (Ciclo 2017-2018), divulgado em 2019, indicam que, das 382 amostras de laranja analisadas, 139 continham agrotóxicos não autorizados para essa cultura (ANVISA, 2019). O clorpirifós, em particular, foi detectado em 8,12% dessas amostras. Adicionalmente, quatro outros agrotóxicos foram identificados de maneira irregular, incluindo carbofurano, 2,4-D, boscalida e ciromazina (ANVISA, 2019). O último relatório do PARA, divulgado em 2023, revelou uma redução de mais da metade das amostras de laranja com potencial risco agudo para o consumidor em comparação ao ciclo anterior. No entanto, o clorpirifós foi detectado em 9,02% das amostras, dentro do limite permitido pela ANVISA de 2 mg.kg<sup>-1</sup> (ANVISA, 2023).

O relatório também destacou que o clorpirifós foi o quinto agrotóxico mais detectado de forma irregular em alimentos, com incidências em amostras de aveia, uva, abobrinha, couve, pepino, morango, brócolis, repolho e pimentão. De acordo com o relatório, uma detecção irregular ocorre quando um ingrediente ativo não autorizado para a cultura é encontrado ou quando o valor do Limite Máximo de Resíduo (LMR) é ultrapassado (ANVISA, 2023).

Esse agrotóxico já havia sido submetido à reavaliação pela ANVISA devido a preocupações com sua toxicidade, incluindo efeitos mutagênicos e neurotóxicos, principalmente em relação ao desenvolvimento neurológico (ANVISA, 2021). Estudos indicam que a atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase provocada pelo clorpirifós afeta o sistema nervoso autônomo e somático, causando graves problemas à saúde dos seres vivos (Laguna; Ananias, 2023). O uso contínuo desse pesticida na agricultura pode, portanto, acarretar sérios riscos à saúde pública.

A Extração Líquido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ELL-PBT) tem se destacado como uma alternativa eficiente para a extração de agrotóxicos em diversas matrizes ambientais e alimentares (Menezes *et al.*, 2021; Oliveira Júnior *et al.*, 2022; Silvério *et al.*, 2012; Vieira; Neves; Queiroz, 2007). Esse método tem ganhado popularidade nos últimos anos devido à simplicidade de suas etapas, à baixa intervenção do analista e ao custo reduzido, sendo amplamente aplicável em laboratórios de análises químicas (Oliveira Júnior *et al.*, 2022).

Com base nessas informações, o presente trabalho teve como objetivo otimizar e validar a metodologia analítica de extração de clorpirifós em sucos de laranja por meio da ELL-PBT e realizar sua análise utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector ultravioleta (CLAE-

UV). Posteriormente, a metodologia foi aplicada em amostras de suco de laranja comercializadas em supermercados e na feira da cidade de Itumbiara, estado de Goiás (GO).

Além dos aspectos de desenvolvimento do método ELL-PBT, a sustentabilidade desse método foi avaliada utilizando a ecoescala analítica proposta por Galuszka *et al.* (2012). A ecoescala é uma ferramenta semiquantitativa que atribui pontos de penalidade de acordo com critérios pré-definidos, como a quantidade de reagente consumido, o perigo atribuído aos reagentes e a quantidade de resíduos gerados, entre outros.

Nas seções subsequentes deste artigo, será apresentada a fundamentação teórica sobre o comércio de agrotóxicos, a utilização do clorpirifós e seus efeitos à saúde, bem como o desenvolvimento de métodos de análise de agrotóxicos (seção 2). Em seguida, será descrito o método de pesquisa (seção 3), que se baseou na otimização, validação e aplicação da ELL-PBT para a determinação de clorpirifós em sucos de laranja, seguido pela apresentação dos resultados obtidos (seção 4). Por fim, na seção 5, serão expostas as considerações finais.

## 2 Referencial teórico

A comercialização de agrotóxicos no Brasil apresentou um crescimento acelerado até 2013. No entanto, com a crise econômica de 2014, houve uma desaceleração, sendo que, em 2017, o país ultrapassou a marca de 500 mil toneladas por ano. Os estados de maior produção agrícola como Mato Grosso, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Bahia e Santa Catarina responderam por 90% de toda a comercialização de agrotóxicos. Especificamente, Mato Grosso e São Paulo comercializaram, respectivamente, 100.638 e 77.232 toneladas, totalizando 518.564 toneladas no ano de 2017. O Brasil lidera o mercado mundial de agrotóxicos, com vendas que somaram US\$ 7,125 bilhões, superando os Estados Unidos (Tavares *et al.*, 2020).

O clorpirifós pertence à classe dos organofosforados e tem o nome químico O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato. Este composto é eficaz no combate a insetos e pragas, inibindo a transmissão de impulsos nervosos nesses organismos. É utilizado como inseticida, acaricida e nematocida, sendo classificado como um agrotóxico com baixa solubilidade em água ( $<10 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (PPDB, 2024; PUBCHEM, 2024).

A ANVISA autoriza o uso do clorpirifós em diversos cultivos, como abacaxi, arroz, chuchu e beterraba, desde que respeitados os limites de resíduos permitidos para cada alimento. Esse pesticida é encontrado em concentrações significativas em culturas como alface, abobrinha, uva, tomate e frutas cítricas, como a laranja, cujo Limite Máximo de Resíduo (LMR) é de  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$ , valor aplicável também para outras frutas cítricas (ANVISA, 2022). A aplicação é foliar, e o período de carência é de 21 dias (ANVISA, 2022).

O clorpirifós é conhecido por várias marcas registradas, sendo inicialmente comercializado pela Dow Chemical Company, agora Corteva Agriscience, desde 1965. Pesquisas sugerem que a exposição crônica a este composto está associada a efeitos neurológicos, transtornos do desenvolvimento e problemas autoimunes, especialmente em crianças. Sua proibição nos Estados Unidos foi impulsionada por um estudo de 2012 da Universidade de Columbia, que analisou 40 crianças expostas ao clorpirifós durante a gestação. Os resultados indicaram deficiências no desenvolvimento dessas crianças aos 3 anos de idade (Grigori, 2021).

De acordo com Silvério *et al.* (2012), diversas técnicas são utilizadas para a análise de agrotóxicos em alimentos, sendo que a ELL-PBT tem se mostrado uma alternativa eficiente para a extração de agrotóxicos em várias matrizes. O método baseia-se na partição dos analitos entre as fases aquosa e orgânica, utilizando volumes reduzidos de solventes orgânicos e proporcionando uma análise rápida e eficiente. Segundo uma revisão recente sobre a ELL-PBT, a simplicidade da execução, o baixo consumo de solventes, a seletividade e, na maioria das vezes, a dispensa de limpeza adicional dos extratos são as principais vantagens dessa técnica (Goulart *et al.*, 2024).

A otimização e validação de métodos analíticos são essenciais para garantir exatidão e confiabilidade. O uso de planejamentos experimentais é fundamental para a otimização de técnicas, permitindo a investigação do efeito de múltiplos fatores sobre as variáveis de interesse, com redução de custos e número de experimentos, além de maior confiabilidade estatística e química. Com os avanços tecnológicos, a quimiometria tem se tornado uma ferramenta valiosa para obter respostas multivariadas em análises instrumentais (Santana *et al.*, 2020).

O protocolo europeu SANTE (SANTE, 2021) é amplamente utilizado para validação de métodos de análise de agrotóxicos em alimentos. Ele propõe a validação de parâmetros como linearidade, limites de detecção e quantificação, seletividade, exatidão e precisão, os quais foram validados neste projeto.

A seletividade é alcançada quando não há sinais cromatográficos atribuíveis a interferentes no mesmo tempo de retenção do analito (Vieira; Neves; Queiroz, 2007). A linearidade, por sua vez, avalia a capacidade do método de fornecer resultados proporcionais à concentração do analito, devendo ser construída com pelo menos seis níveis de concentração e três repetições para cada nível (Costa *et al.*, 2024).

O limite de detecção é calculado a partir de soluções padrão do analito em concentrações decrescentes até a ausência de sinal cromatográfico. A menor concentração que permite a visualização de um sinal no cromatograma é injetada em triplicata, e os valores são submetidos ao teste do desvio padrão relativo. O limite de quantificação é avaliado por meio de matrizes fortificadas com o analito, também em triplicata, para determinar as menores concentrações que podem ser quantificadas, sendo igualmente submetidas ao teste do desvio padrão relativo (SANTE, 2021).

Vieira, Neves e Queiroz (2007) afirmam que a exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais obtidos em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como correto. A precisão, por sua vez, refere-se à dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos com a mesma amostra. Este parâmetro é calculado com base no coeficiente de variação (SANTE, 2021).

### 3 Método da pesquisa

Inicialmente, foi testada a metodologia proposta por Oliveira Júnior *et al.* (2022), que utilizaram a técnica ELL-PBT para análise de agrotóxicos carbamatos em água. Considerando que o suco de laranja é um líquido, essa metodologia foi adotada como ponto de partida para a otimização da ELL-PBT na determinação de clorpirifós em laranjas.

#### 3.1 Verificação da aplicabilidade do método ELL-PBT em amostras de laranja

Para a verificação da aplicabilidade do método, foram obtidas laranjas cultivadas sem a aplicação de clorpirifós. A fim de garantir a ausência desse composto, essas amostras foram previamente analisadas por comparação com o padrão de clorpirifós no cromatograma. Após a confirmação de que as amostras não estavam contaminadas, o suco foi extraído e fortificado com solução padrão de clorpirifós, de modo a alcançar uma concentração de 5 mg.L<sup>-1</sup> nos extratos finais, os quais foram submetidos à extração ELL-PBT.

Para a extração do clorpirifós, 1 mL de amostra (suco de laranja-pera) foi misturado com 4 mL do solvente extrator (acetonitrila ou metanol). Em seguida, o sistema foi agitado (agitador de tubos tipo vórtex ou ultrassom) por 60 segundos e, posteriormente, mantido em freezer por três horas a uma temperatura aproximada de -20 °C, promovendo a partição à baixa temperatura. Após a partição, uma alíquota de 1 mL do sobrenadante foi retirada e injetada 20 µL no cromatógrafo líquido.

#### 3.2 Análise por CLAE-UV

Foi utilizado um cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20AT com detector UV/VIS Shimadzu SPD. As condições cromatográficas foram as seguintes: coluna cromatográfica C18 (Modelo Coluna KINETEX® 5µ EVO C18 100A 150 × 4,6 mm); fase móvel composta por acetonitrila e H<sub>2</sub>O na proporção 85:15 (v:v); vazão da fase móvel de 0,8 mL.min<sup>-1</sup>; temperatura da coluna de 35 °C e volume de injeção de 20 µL; detector UV ajustado para 213 nm.

#### 3.3 Otimização

Na fase de otimização, dois fatores foram analisados: o tipo de solução extratora (acetonitrila ou metanol) e o tipo de agitação (vórtex ou ultrassom). Segundo uma revisão recente sobre a ELL-PBT, esses fatores são os mais frequentemente mencionados na literatura como os que mais influenciam a porcentagem de extração do método, motivo pelo qual foram escolhidos neste trabalho (Goulart *et al.*, 2024). Como se trata de dois fatores com dois níveis, essa otimização foi realizada com base no planejamento fatorial 2<sup>2</sup>, conforme apresentado na Tabela 1. As análises foram realizadas em

triplicata. A avaliação do efeito dos fatores foi conduzida por meio do teste *t* (distribuição de Student), com nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%.

Tabela 1 – Planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para matrizes de laranja fortificadas

Ensaio	Fatores codificados		Fatores originais	
	1	2	T. A	S. E
1	–	–	V	ACN
2	+	–	US	ACN
3	–	+	V	MET
4	+	+	US	MET

T. A = Tipo de Agitação; S. E = Solução extratora; ACN = Acetonitrila; MET = Metanol; V = vórtex; US = Ultrassom  
Fonte: dados da pesquisa

### 3.4 Validação da ELL-PBT

Após a otimização dos parâmetros, o método foi validado de acordo com o protocolo europeu para validação de métodos de análise de agrotóxicos em alimentos (SANTE, 2021), considerando os seguintes parâmetros: linearidade, limite de detecção e quantificação, seletividade, exatidão e precisão.

#### 3.4.1 Linearidade

A linearidade foi avaliada pela construção de uma curva analítica, utilizando amostras de suco de laranja fortificadas com clorpirifós em concentrações de 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 mg.L<sup>-1</sup>, submetidas à ELL-PBT, conforme o ensaio otimizado. A partir dessas concentrações, foi elaborada a curva analítica.

#### 3.4.2 Seletividade

Para verificar a seletividade do método, foi injetado um branco do suco de laranja e uma amostra fortificada com clorpirifós, ambos submetidos ao ensaio otimizado. Posteriormente, foram comparados os cromatogramas e os tempos de retenção do clorpirifós para comprovar a seletividade.

#### 3.4.3 Limite de detecção e quantificação

O limite de quantificação (LQ) foi determinado pela injeção de clorpirifós em concentrações decrescentes até a ausência de sinal cromatográfico. A menor concentração que apresentou sinal visível foi injetada em triplicata, e os resultados foram submetidos ao teste do desvio padrão relativo. Para determinar o limite de detecção (LD) do método ELL-PBT, os valores de LQ foram divididos por três.

#### 3.4.4 Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio de experimentos de fortificação/recuperação realizados em sextuplicata. A matriz foi fortificada em três níveis de concentração (0,25; 0,5; 0,75 mg.L<sup>-1</sup>), e as porcentagens de recuperação do clorpirifós foram analisadas, verificando-se se os valores estavam dentro da faixa permitida (70% a 120%).

#### 3.4.5 Precisão

A precisão do método foi determinada a partir do desvio padrão relativo (DPR) de matrizes fortificadas nos três níveis de concentração mencionados, também em sextuplicata. Em seguida, verificou-se se o RSD estava abaixo de 20%, conforme recomendado pelo guia de validação SANTE (2021).

### 3.5 Avaliação do caráter verde pela eco-escala analítica

O caráter ecológico do método ELL-PBT foi avaliado com base na eco-escala analítica proposta por Galuszka *et al.* (2012). A eco-escala é uma ferramenta semiquantitativa que atribui pontos de penalidade de acordo com critérios pré-definidos. O método é classificado como "verde" quando atinge um índice superior a 75 pontos, "verde aceitável" quando alcança 50 pontos e "inadequado"

quando fica abaixo de 50 pontos. A Tabela 2 apresenta as diretrizes utilizadas na avaliação do caráter verde, conforme o estudo de Galuszka *et al.* (2012).

Tabela 2 – Métricas, indicadores e pontos de penalidades para avaliação do caráter verde do método ELL-PBT na determinação de clorpirifós em suco de laranja

Métricas	Indicadores	Pontos de penalidades	Total
Quantidade de reagente consumido	< 10 mL ou g	1	Bloco A = Quantidade × Perigo
	10-100 mL ou g	2	
	100 mL	3	
Perigo atribuído aos reagentes	Nenhum	0	Bloco B = Quantidade × Característica
	Risco menos grave	1	
	Risco mais grave	2	
Quantidade de resíduo gerado	Nenhum	0	Bloco C
	< 1 mL	1	
	1-10 mL	3	
Característica do reagente	> 10 mL	5	Bloco D
	Reciclável	0	
	Degradável	1	
Energia consumida	Passivo	2	Bloco E
	Não admite tratamento	3	
	≤ 1,0 kWh por amostra	0	
Risco ocupacional	≤ 1,5 kWh por amostra	1	Bloco F
	> 1,5 kWh por amostra	2	
	Processo analítico	0	
Fórmula para calcular o índice verde do método	Emissão de vapores e gases	3	[100 – (A+B+C+D) ]

Fonte: adaptado de Galuszka *et al.* (2012)

### 3.6 Análise em amostras de laranjas comercializadas no município de Itumbiara

Após a otimização e validação do método, foram analisadas amostras de sucos de laranjas comercializadas na cidade de Itumbiara (GO). As laranjas foram coletadas em três supermercados e uma feira, localizados em diferentes regiões da cidade (central, norte, sul, leste e oeste). Em cada ponto, foram coletadas quatro unidades de laranja. No laboratório, o suco foi extraído, transformado em uma amostra composta e, posteriormente, analisado.

## 4 Resultados e discussões

Na extração do agrotóxico clorpirifós em matrizes de suco de laranja, utilizando a técnica ELL-PBT, foram avaliados os fatores tipo de solvente extrator (acetonitrila ou metanol) e tipo de agitação (vórtex ou banho ultrassônico), por meio de um planejamento fatorial. A análise do efeito dos fatores foi realizada utilizando o teste *t* (distribuição de Student) com um nível de significância de 5% e intervalo de confiança de 95%.

### 4.1 Otimização utilizando o planejamento fatorial

Conforme apresentado na Tabela 3, ambos os fatores avaliados mostraram-se significativos. Observou-se uma redução de -8,19% na recuperação do clorpirifós na laranja ao substituir o vórtex pelo banho ultrassônico. Menezes *et al.* (2021) descrevem o método de agitação em vórtex como a promoção da homogeneização do sistema por meio de agitação. O banho ultrassônico, por sua vez, atua na extração de elementos e na sedimentação de materiais particulados em suspensão, além de promover o rompimento de células vegetais. A redução na porcentagem de recuperação ao trocar o tipo de agitação pode estar relacionada à ação mais intensa do banho ultrassônico, o que poderia provocar a degradação do agrotóxico junto com componentes da laranja.

Tabela 3 – Avaliação do efeito dos fatores (tipo de agitação e tipo de solvente) na extração do clorpirifós

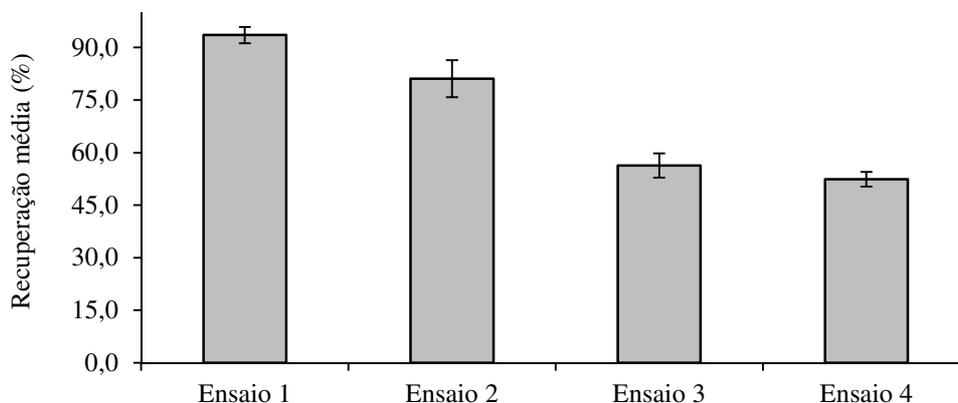
Fatores	Efeitos(%)	Erros
Tipo de agitação (Fator 1)	-8,19 ±	2,027
Tipo de solvente (Fator 2)	-32,96 ±	2,027
Fator 1 × Fator 2	4,285 ±	2,027

Fonte: dados da pesquisa

Com relação ao tipo de solvente, houve uma redução de 32,96% na recuperação do agrotóxico ao substituir a acetonitrila pelo metanol. Esse efeito pode ser explicado pela maior viscosidade do metanol em comparação à acetonitrila quando dissolvido em água (Cassini; Antunes; Keller, 2013). A viscosidade da acetonitrila é de 0,35 mPa·s a 25°C, enquanto a do metanol é de 0,544 mPa·s a 25°C (PUBCHEM, 2024). A interação entre os fatores tipo de agitação e tipo de solvente não foi significativa, embora tenha resultado em um aumento de 4,285% na porcentagem de extração.

Nas etapas subsequentes de validação da ELL-PBT e aplicação em amostras reais de laranja, optou-se por utilizar o ensaio 1, que consistiu na agitação por vórtex e uso de acetonitrila como solvente, apresentando a maior porcentagem de recuperação (95,82%) (Figura 1). Os ensaios 1 e 2 ficaram dentro da faixa de aceitação de 70 a 120%, conforme estabelecido pelo protocolo SANTE (2021). No entanto, os ensaios 3 e 4, que utilizaram metanol, não se mostraram aceitáveis, devido à redução significativa de 32,96% na extração.

Figura 1 – Porcentagens de recuperação dos ensaios



Fonte: dados da pesquisa

Santana *et al.* (2018) compararam acetona, acetonitrila e acetato de etila na extração de clorpirifós em cajá-manga, utilizando extração por partição a baixa temperatura, relatando a acetonitrila como o melhor solvente extrator, com altas taxas de recuperação. Furlani *et al.* (2010) validaram o método QuEChERS para a extração de sete agrotóxicos em caldo de cana, alcançando taxas de recuperação entre 62,9% e 107,5%, com coeficientes de variação de 5,1% a 17,6%. Oliveira Júnior *et al.* (2020) validaram o método ELL-PBT para a recuperação de carbofurano em caldo de cana, com porcentagens de recuperação de 99,1% a 102,1% e coeficientes de variação entre 1,87% e 1,90%. O método ELL-PBT apresentou melhores taxas de recuperação e menor consumo de solvente em comparação com o QuEChERS, consumindo cerca de 10 vezes menos volumes de solventes orgânicos e sem a necessidade adicional de limpeza dos extratos.

Vieira, Neves e Queiroz (2007) também confirmaram a eficiência do método ELL-PBT ao determinar os piretróides cipermetrina, deltametrina,  $\lambda$ -cialontrina e permetrina em amostras de água, obtendo porcentagens de recuperação dentro da faixa de aceitação de 70 a 120%.

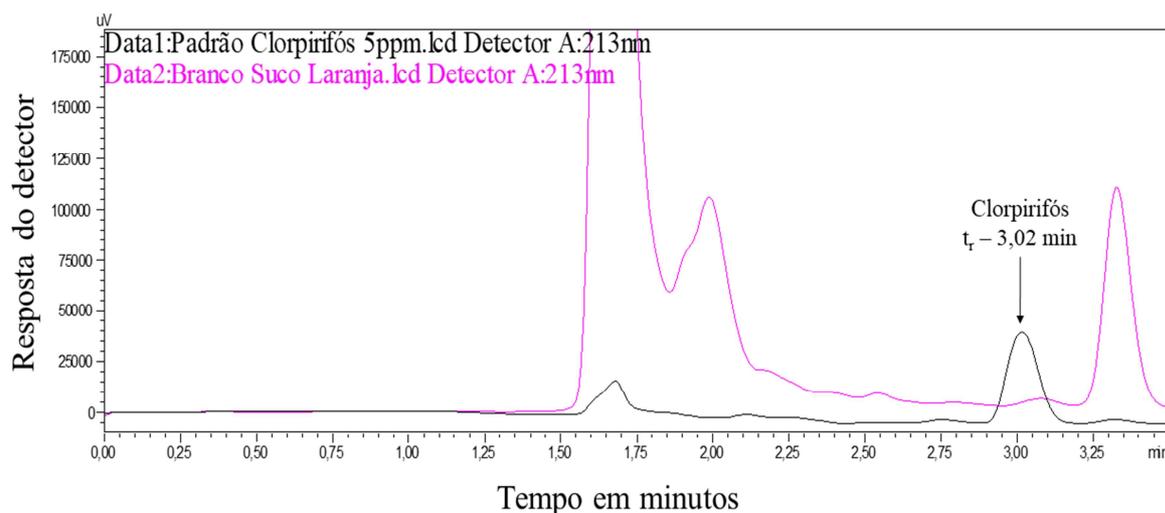
#### 4.2 Validação do método ELL-PBT em laranja

O método ELL-PBT foi validado com base nos seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão.

#### 4.2.1 Seletividade

A análise da Figura 2 demonstra a ausência de interferentes no branco da laranja no mesmo tempo de retenção do clorpirifós ( $t_r = 3,02$  minutos), o que comprova a seletividade do método ELL-PBT para a determinação de clorpirifós em suco de laranja.

Figura 2 – Cromatograma da seletividade do método



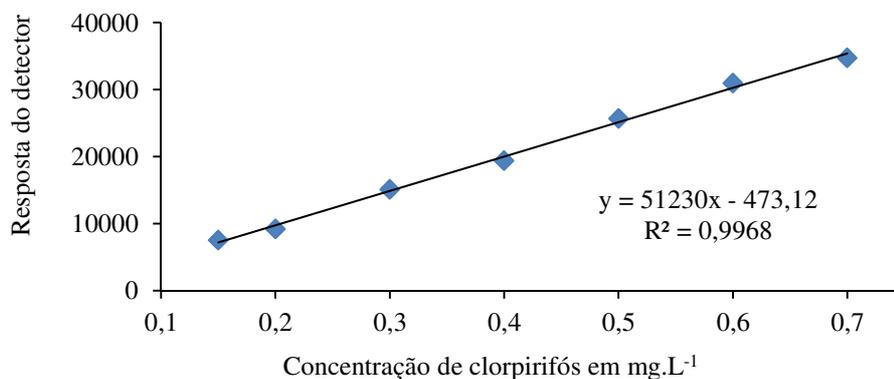
Fonte: dados da pesquisa

Os resultados deste estudo estão em concordância com Silveira *et al.* (2016) e Silvério *et al.* (2012), que também comprovaram a seletividade do método ELL-PBT na determinação de clorpirifós em amostras de água. Em amostras sólidas, como tomate, utilizando extração sólido-líquido (ESL) com PBT, Pinho *et al.* (2010) também observaram seletividade. Conforme Narendaran *et al.* (2020), a co-extração de compostos químicos ou impurezas presentes na matriz pode afetar a seletividade, mas, neste estudo, a seletividade não foi comprometida na análise de sucos de laranja.

#### 4.2.2 Linearidade

A linearidade foi determinada por meio de análises de padrões do agrotóxico injetados em diferentes concentrações, fortificados no solvente e no branco da matriz, conforme metodologia aplicada neste estudo. A Figura 3 apresenta a curva analítica do clorpirifós.

Figura 3 – Curva analítica do clorpirifós



Fonte: dados da pesquisa

Conforme o protocolo SANTE (2021), o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) aceitável deve ser maior que 0,99. No presente estudo, o  $R^2$  foi superior a 0,9968, demonstrando a linearidade do método ELL-PBT otimizado para suco de laranja.

Silvério *et al.* (2012) verificaram a linearidade na determinação de clorpirifós,  $\lambda$ -cialotrina, permetrina e bifentrina em 29 amostras de água de canais de irrigação do Projeto Jaíba, Minas Gerais. As amostras de água foram fortificadas com concentrações de 10 a 45  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , e os coeficientes de correlação linear ( $r$ ) foram superiores a 0,995, demonstrando a eficácia do método.

#### 4.2.3 Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) são parâmetros essenciais para estabelecer a capacidade analítica de um método. O LD corresponde à menor concentração de analito que pode ser distinguida do branco, enquanto o LQ é a menor concentração que pode ser quantificada com exatidão e precisão (Liu *et al.*, 2024; SANTE, 2021). Neste estudo, os LD e LQ foram definidos como 0,05  $\text{mg.L}^{-1}$  e 0,15  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente, valores que atendem ao Limite Máximo de Resíduos (LMR) de 2,0  $\text{mg.kg}^{-1}$  para clorpirifós em laranja (BRASIL, 2019).

Silvério *et al.* (2012), ao determinarem clorpirifós em águas superficiais utilizando ELL-PBT e CLAE-UV, obtiveram LD e LQ de 2,0-3,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 10,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente.

#### 4.2.4 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada pela fortificação da matriz em três níveis de concentração, com análises em sextuplicata (nível baixo: 0,25  $\text{mg.L}^{-1}$ ; nível médio: 0,5  $\text{mg.L}^{-1}$ ; nível alto: 0,75  $\text{mg.L}^{-1}$ ), realizadas em um único dia. A exatidão é considerada aceitável quando os valores de recuperação estão entre 70% e 120%. Conforme a Tabela 4, dois valores ficaram acima do limite máximo, um no nível baixo e outro no nível alto, o que pode ser explicado pela complexidade da matriz do suco de laranja, que, segundo Corrêa Neto e Faria (1999), contém compostos voláteis e instáveis, além de açúcares, ácidos, sais minerais, vitaminas e pigmentos.

Tabela 4 – Níveis de concentração para determinação da exatidão e precisão

Precisão e exatidão					
Nível baixo 0,25		Nível médio 0,5		Nível alto 0,75	
% Recuperação	DPR	% Recuperação	DPR	% Recuperação	DPR
77,93		103,46		124,63	
98,98		110,01		71,61	
112,29	17,33	100,85	7,79	113,45	19,10
125,61		106,19		96,86	
88,69		96,41		95,47	
96,51		87,53		91,69	

Fonte: dados da pesquisa

#### 4.2.5 Precisão

A precisão do método foi confirmada, com os resultados apresentando desvios padrão relativos (DPR) abaixo de 20%, conforme indicado na Tabela 3. A precisão é avaliada pela capacidade de reproduzir resultados consistentes em análises da mesma amostra. Segundo SANTE (2021), um DPR  $\leq 20\%$  é considerado aceitável. Assim, conclui-se que o método ELL-PBT é preciso, pois os valores de DPR ficaram abaixo do limite permitido.

Vieira, Neves e Queiroz (2007) utilizaram a técnica de ELL-PBT na determinação da precisão de  $\lambda$ -cialotrina, permetrina, cipermetrina e deltametrina em amostras de água, e seus resultados também ficaram abaixo de 20%, demonstrando a precisão do método em diferentes matrizes e agrotóxicos. Silvério *et al.* (2012) e Silveira *et al.* (2016) também obtiveram valores de DPR dentro dos limites estabelecidos ao utilizarem ELL-PBT para determinação de clorpirifós em águas.

### 4.3 Carater verde do método ELL-PBT

Na Tabela 5, são apresentados os pontos de penalidade (PP) atribuídos ao método ELL-PBT. Considerando as métricas e os indicadores utilizados, foi calculado um índice de 84, o que confere ao método um excelente caráter verde.

Tabela 5 – Pontos de penalidades atribuídos ao método ELL-PBT

Métricas	Indicadores	PP	Total
Quantidade de reagente consumido	10-100 mL ou g	2	4
Perigo atribuído aos reagentes	Risco mais grave	2	
Quantidade de resíduo gerado	1-10 mL	3	9
Característica do reagente	Não admite tratamento	3	
Energia consumida	≤ 1,0 kWh por amostra	0	0
Risco ocupacional	Emissão de vapores e gases	3	3
<b>Índice verde do método</b>	<b>[100 – (4+9+0+3)]</b>	<b>=84</b>	

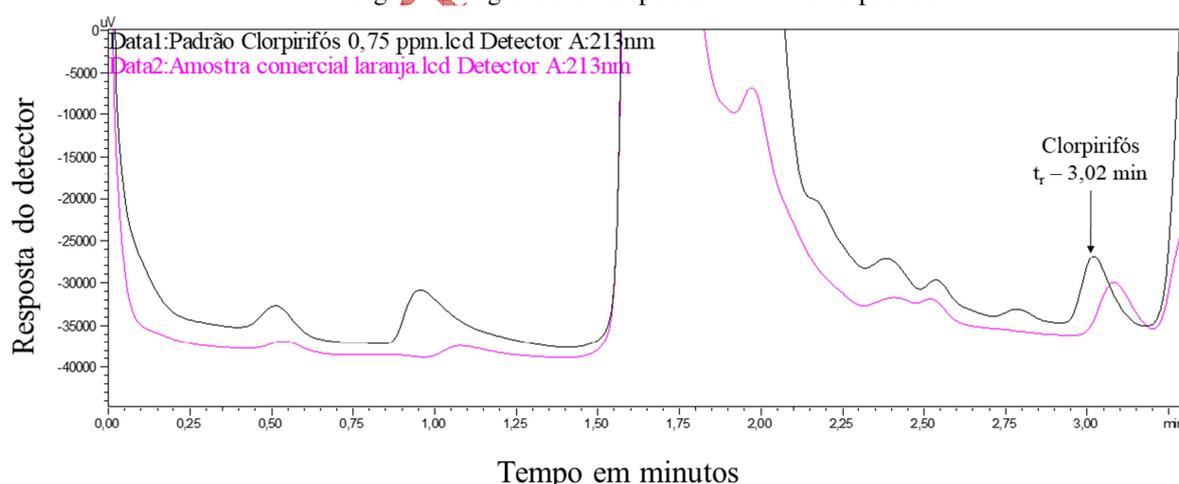
PP: Pontos de penalidades  
Fonte: dados da pesquisa

Os métodos ELL-PBT, em geral, utilizam quantidades reduzidas de solventes e amostras, resultando em baixa geração de resíduos. Dessa forma, além de se apresentarem como excelentes alternativas para a determinação de poluentes orgânicos em diferentes tipos de amostras, esses métodos também oferecem viabilidade econômica e ambiental (Maia *et al.*, 2017; Santana *et al.*, 2018).

#### 4.4 Aplicação do método ELL-PBT em laranjas

A presença de clorpirifós foi detectada em apenas um dos pontos de coleta, e a concentração estava acima do limite permitido. Nos demais pontos, ou não houve detecção desse agrotóxico, ou os valores estavam abaixo do limite de detecção do método. A partir da curva analítica, utilizando a equação da linearidade do método,  $y = 51230x - 473,12$ , foi possível quantificar a concentração de clorpirifós em miligramas por quilo de laranja no estabelecimento 3, sendo de  $2,83 \text{ mg.kg}^{-1}$  na amostra analisada. Na Figura 4, é possível observar o cromatograma referente ao ponto 3, onde foi detectada a presença de clorpirifós, com tempo de retenção ( $t_r$ ) de 3,02 minutos.

Figura 4 – Agrotóxico clorpirifós detectado no ponto 3



Fonte: dados da pesquisa

De acordo com a ANVISA, o limite máximo de resíduo (LMR) de clorpirifós permitido para o cultivo de laranja é de  $2 \text{ mg.kg}^{-1}$  (ANVISA, 2019). No entanto, a amostra analisada apresentou  $2,83 \text{ mg.kg}^{-1}$ , valor superior ao permitido.

Alves *et al.* (2020) conduziram uma pesquisa em que o agrotóxico clorpirifós foi analisado em amostras de alface por meio de cromatografia líquida de alta eficiência. Em três amostras, uma delas

não atingiu o nível de detecção do equipamento, possivelmente devido à aplicação do agrotóxico abaixo do limite mínimo de detecção ( $7,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Nas outras duas amostras, o clorpirifós foi detectado em concentrações de  $55 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $34 \text{ mg.kg}^{-1}$ . A ANVISA regulamenta que, em alface, não devem haver traços de clorpirifós, e, caso haja, o limite máximo permitido é de  $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Assim como no estudo de Alves *et al.* (2020), o presente trabalho evidencia o uso indiscriminado do inseticida clorpirifós, reforçando a necessidade de monitoramento contínuo em laboratórios de análise de agrotóxicos. O clorpirifós foi submetido à reavaliação pela ANVISA devido à grande preocupação com sua toxicidade aguda, com efeitos neurotóxicos, além dos mutagênicos, especialmente em crianças (ANVISA, 2021; Laguna; Ananias, 2023).

## 5 Conclusão

O método otimizado para a determinação e quantificação do clorpirifós em sucos de laranja, utilizando a técnica ELL-PBT e análise por CLAE-UV, demonstrou-se eficiente e prático. Com poucas etapas e baixos volumes de solvente e amostra, foi possível identificar e quantificar o princípio ativo investigado.

Os resultados obtidos foram excelentes em relação aos parâmetros analisados, comprovando a linearidade do método, com coeficiente de determinação acima de 0,99. Não foram identificadas interferências de outros componentes da laranja (branco) no mesmo tempo de retenção do clorpirifós, evidenciando a seletividade do método. Os valores de LD (limite de detecção) e LQ (limite de quantificação) foram estabelecidos para a matriz fortificada, sendo o limite mínimo de detecção do agrotóxico de  $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$  e o limite de quantificação de  $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ . O método apresentou exatidão, com porcentagens de recuperação entre 90% e 120%, e a precisão ficou abaixo do  $\text{RSD} \leq 20\%$ . Em relação à eco-escala analítica, considerando as métricas e os indicadores avaliados, o método ELL-PBT obteve um índice de 84, classificando-o como de excelente caráter verde.

As análises realizadas em amostras coletadas no município de Itumbiara-GO revelaram a presença de resíduos de clorpirifós em apenas um ponto de comercialização, com concentração acima do limite máximo de resíduo (LMR) permitido pela ANVISA. Esse fato é preocupante, considerando os efeitos toxicológicos do clorpirifós, que incluem mutagenicidade, toxicidade para o desenvolvimento e, especialmente, neurotoxicidade.

Este trabalho é de grande relevância, pois o uso indiscriminado de agrotóxicos pode causar danos significativos à saúde humana e ao meio ambiente. Além disso, o desenvolvimento de métodos validados, que utilizam baixos volumes de solventes, contribui para o monitoramento seguro dos agrotóxicos. Estudos futuros devem focar na aplicação desses métodos em sucos de laranja processados, especialmente aqueles destinados ao público infantil, uma vez que o clorpirifós afeta de maneira acentuada o desenvolvimento infantil. Além disso, novos estudos sobre a determinação de clorpirifós em sucos de laranja de outras regiões serão altamente relevantes para a saúde pública.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Goiás (IFG), câmpus Itumbiara e ao Núcleo de Pesquisas e Estudos em Química do Estado de Goiás (NUPEQUI) pelo suporte.

## Financiamento

PRÓGRAMA DE APOIO À PRODUTIVIDADE EM PESQUISA – PROAPP/IFG - EDITAL N° 45/2023-PROPPG

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Contribuições ao artigo

**SANTOS, R. C.; TAVARES, C. S.:** concepção da pesquisa; análise e/ou interpretação dos dados. **SANTOS, J. P. V.:** revisão final com participação crítica e intelectual no manuscrito. **GOULART, A. C.; GOULART, S. M.:** análise e/ou interpretação dos dados; revisão final com participação crítica e intelectual no manuscrito. Todos os autores participaram da escrita, discussão, leitura e aprovação da versão final do artigo.

## Referências

ALVES, D.; JÚNIOR, D. R. M.; SILVA, G. O.; ALMEIDA, V. G. K. Quantificação de clorpirifós em alfaces comercializadas no município de Seropédica–RJ, através de cromatografia líquida de alta eficiência. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 11., 2020, São Cristóvão. **Anais [...]**. São Cristóvão: UFS, v. 15, n. 2, 2020. Disponível em: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/4097>. Acesso em: 24 abr. 2024.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**. Relatório das amostras analisadas no período de 2017-2018. Brasília, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acesso em: 24 abr. 2024.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos (PARA)**. Relatório das amostras analisadas no período de 2018-2019 e 2022. Brasília, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/relatorio-2018-2019-2022>. Acesso em: 24 abr. 2024.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Código monográfico**. C20. Clorpirifós. Brasília, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4226json-file-1>. Acesso em: 12 abr. 2024.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Documento preparatório**. Reavaliação Clorpirifós. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoinformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos-2/MotivosClorpirifos.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2024.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 437-445, 2014. DOI: <https://doi.org/10.5902/2236117012498>.

CASSINI, S. T. A.; ANTUNES, P. W. P.; KELLER, R. Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 36, n. , p. 1208-1213, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800019>.

CORRÊA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Food Science and Technology**, v. 19, n.1, p. 153-161, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20611999000100028>.

COSTA, L. S.; SCHETTINO, C. F.; SICUPIRA, L. C.; PINHO, G. P.; SILVÉRIO, F. O. Determining pyroxasulfone herbicide in honey samples using liquid-liquid extraction with low temperature purification (LLE-LTP). **Talanta**, 125870, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125870>.

DECHEN, A. R.; CASTRO, P. R. C.; NACHTIGALL, G. R. Pragas e doenças em citros: fisiologia e nutrição mineral. **Visão Agrícola**, v. 1, n. 2, p. 100-107, 2004. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va02-praticas-associadas01.pdf>. Aceso em: 24 de abril de 2024.

FROTA, M. T. B. A.; SIQUEIRA, C. E. Pesticidas: os venenos ocultos em nossa mesa. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 2, e00004321, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00004321>.

FURLANI, R. P. Z.; MARCILIO, K. M.; LEME, F. M.; TFOUNI, S. A. V. Analysis of pesticide residues in sugarcane juice using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with electron capture detection. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1283-1287, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.074>.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z. M.; KONIECZKA, P.; NAMIEŚNIK, J. Analytical eco-scale for assessing the greenness of analytical procedures. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 37, p. 61-72, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>.

GOMES, M. S.; FERREIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C.; MARACAJÁ, P. B.; MELO, W. F. Caracterização das condições de trabalho associadas ao uso de agrotóxicos: as consequências para os pequenos agricultores do DPIVAS. **Revista Principia**, v. 44, p.143-151, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-03062015v1n44p143-151>

GOULART, A. C.; RODRIGUES, A. A. Z.; HELENO, F. F.; FARIA, A. M.; GOULART, S. M.; QUEIROZ, M. E. L. R. Liquid-liquid and solid-liquid extractions with low-temperature partitioning: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1316, 342795, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.342795>.

GRIGORI, P. Brasil continua a vender agrotóxico banido no EUA e que pode diminuir QI de crianças. Agência Pública: **Repórter Brasil**, ano 21, 19 de out. 2021. Disponível em: <https://reporterbrasil.org.br/2021/10/brasil-continua-a-vender-agrotoxico-banido-nos-eua-e-que-pode-diminuir-qi-de-criancas>. Acesso em: 24 de abril de 2024.

LAGUNA, A. L. F.; ANANIAS, F. Avaliação dos resíduos de clorpirifós no leite bovino e sua implicação na saúde humana. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 1853-1865, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n2-071>.

LIU, W.; LIU, F.; CHE, A.; CHEN, Y.; CAI, J.; LIU, W.; JING, G.; LI, W.; YU, J. Investigation of low-temperature partitioning with dispersive solid-phase extraction for quantification of pesticides in apples followed by electrospray-ionization mobility spectrometry: comparison with conventional procedure. **Journal of Chromatography B**, v. 1234, 124014, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2024.124014>.

MAIA, M. R.; ARCANJO, A. L. P.; PINHO, G. P.; SILVÉRIO, F. O. Solid-liquid extraction with low temperature purification coupled with gas chromatography and mass spectrometry for determination of polychlorinated biphenyls in sewage sludge. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 1, p. 179-186, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160161>.

MENEZES, B. B.; GOULART, A. C.; CARDOSO, A. T. ; SANTOS, J. P. V.; OLIVEIRA, M. A. C.; GOULART, S. M. Extração do inseticida carbaril em casca e polpa de banana empregando a ESL-PBT. In: SILVA, R. L.; MELLO, R. G. (org.). **Pesquisas multidisciplinares em ciências exatas**, volume 1- Rio de Janeiro, RJ: e-Publicar, 2021. p. 467-483. Disponível em: <https://www.editorapublicar.com.br/pesquisas-multidisciplinares-em-ciencias-exatas-volume-1>. Acesso em: 12 set. 2024.

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

OLIVEIRA JÚNIOR, C. I.; RODRIGUES, R. P.; OLIVEIRA, Y. A.; GOULART, A. C.; SANTOS, J. P. V.; GOULART, S. M. Determinação de carbofurano em caldo de cana utilizando a extração líquido-líquido com partição à baixa temperatura e análise por cromatografia líquida. **Global Science**

**and Technology**, v. 13, n. 3, p. 19-27, 2020. Disponível em:

<https://rv.ifgoiano.edu.br/periodicos/index.php/gst/article/view/1237>. Acesso em: 24 abr. 2024.

OLIVEIRA JÚNIOR, C. I.; CARDOSO, A. T.; GOULART, A. C.; OLIVEIRA, M. A. C.; SANTOS, J. P. V.; GOULART, S. M. Determination of pesticides in soybean seeds incorrectly discarded near a spring of the Paranaíba River, GO-Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 19, n. 1, e202100560, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100560>.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Pesticide determination in tomatoes by solid-liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography, **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251-256, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.080>.

PPDB – Pesticide Properties Data Base. Agricultural substances databases: background and support information. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>. Acesso em: 19 ago. 2024.

PUBCHEM. Explore chemistry. Quick find chemical information from authoritative sources. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 19 ago. 2024.

SANTANA, E. T. D.; SOARES, D. F.; FARIA, A. M. Development of a methodology for the determination of pesticide residues in Caja-Manga pulp (*Spondias dulcis* L.) using solid-liquid extraction with low-temperature partitioning. **Journal of Chemistry**, 6012503, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/6012503>.

SANTANA, F. B.; SOUZA, A. M.; ALMEIDA, M. R.; BREITKREITZ, M. C.; FIGUEIRAS, P. R.; SENA, M. M.; POPPI, R. J. experimento didático de quimiometria para classificação de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio combinado com análise discriminante por mínimos quadrados parciais: um tutorial, parte V, **Química Nova**, v. 43, n. 3, p. 371-381, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170480>.

SANTE. European Commission Reference Laboratories (EURL). **Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed**. SANTE/11312/2021, v2. Disponível em: [https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2021-11312.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf). Acesso em: 13 abr. 2024.

SILVA, L. L. H.; PINTO, E. N. F.; LUCENA, S. C. B.; BEZERRA, J. C.; SILVA, Y. D. L. Agrotóxicos e seus riscos em estabelecimentos comerciais na cidade de Sousa-PB. **Revista Principia**, v. 44, p. 69-78, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-03062015v1n44p69-78>.

SILVEIRA, T. M.; ALVES, R. D.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; COUTRIM, M. X.; AFONSO, R. J. C. F.; SILVA G. A. Study of analytical techniques to determine chlorpyrifos in the surface waterways of the rural zone of Ouro Branco, Brazil: a case study, **Water, Air & Soil Pollution**, v. 227, 335, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3001-1>.

SILVÉRIO, F. O.; SILVA, J. G. S.; AGUIAR, M. C. S.; CACIQUE, A. P.; PINHO, G. P. Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2052-2056, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001000027>.

TAVARES, D. C. G.; SHINODA, D. T.; MOREIRA, S. S. C.; FERNANDES, A. C. Utilização de agrotóxicos no Brasil e sua correlação com intoxicações. **Sistemas & Gestão**, v. 15, n. 1, p. 2-10.2020. DOI: <https://doi.org/10.20985/1980-5160.2020.v15n1.1532>.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por

CG. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 535-540, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300006>.

YANG, M.; WANG, Y.; YANG, G.; WANG, Y.; LIU, F.; CHEN, C. A review of cumulative risk assessment of multiple pesticide residues in food: current status, approaches and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, v. 144, 104340, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104340>.

*Revista Principia - Early View*