

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
GOIÁS
CÂMPUS ITUMBIARA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

Rafael Caetano dos Santos

**ANÁLISE DE CLORPIRIFÓS EM LARANJA: OTIMIZAÇÃO,
VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DO MÉTODO**

**ITUMBIARA-GO
2023**



INSTITUTO FEDERAL
Goiás

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC - Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Rafael Caetano dos Santos.

Matrícula: 20192040030056.

Título do Trabalho: Análise de clorpirifós em laranja: otimização, validação e aplicação do método.

Autorização - Marque uma das opções

- ☐ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso aberto);
- ☒ Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG somente após a data 17/08/2025 (Embargo);
- ☐ Não autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso restrito).

Ao indicar a opção **2** ou **3**, marque a justificativa:

- ☐ O documento está sujeito a registro de patente.
☒ O documento pode vir a ser publicado como livro, capítulo de livro ou artigo.
☐ Outra justificativa: _____

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Itumbiara-GO, 16/08/2023.
Local Data

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Rafael Caetano dos Santos

**ANÁLISE DE CLORPIRIFÓS EM LARANJA: OTIMIZAÇÃO,
VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DO MÉTODO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à banca avaliadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Câmpus Itumbiara, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador(a): Prof(a). Dra Simone Machado Goulart

Coorientadores: Dr. João Paulo Victorino Santos
MSc. Adilson Correia Goulart

ITUMBIARA-GO

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S237a Santos, Rafael Caetano dos
Análise de clorpirifós em laranja: otimização, validação e aplicação do método. / Rafael Caetano dos Santos. -- Itumbiara, 2023.
34p. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Licenciado em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Câmpus Itumbiara, 2023.

Orientadora: Prof^a. Dra. Simone Machado Goulart.
Coorientadores: Prof. Dr. João Paulo Victorino Santos e MSc. Adilson Correia Goulart.

1. Produtos químicos agrícolas. 2. Agrotóxicos. 3. Fruta cítrica - Laranja. I. Título. II. Goulart, Simone Machado. III. Santos, João Paulo Victorino. IV. Goulart, Adilson Correia. V. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

CDD 632.95

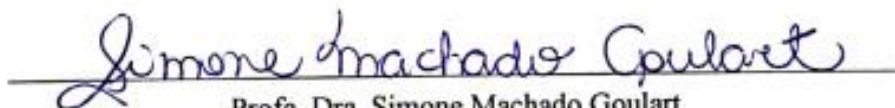
RAFAEL CAETANO DOS SANTOS

**ANÁLISE DE CLORPIRIFÓS EM LARANJA: OTIMIZAÇÃO,
VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG), Câmpus Itumbiara, como parte dos requisitos para a conclusão do Curso de Licenciatura em Química e obtenção do título de licenciado em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em 29 de junho de 2023.



Profa. Dra. Simone Machado Goulart
Orientadora
IFG – Câmpus Itumbiara



Prof(a). Dra. Katiúscia Daiane Ferreira
IFG – Câmpus Itumbiara



Prof. Me Rogério Pacheco Rodrigues
IFG – Câmpus Itumbiara

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Yaurrou, que fez com que meus objetivos fossem alcançados durante todos os meus anos de estudos, por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho. Pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização do mesmo.

Em especial a minha esposa Cinthia Silva Tavares, a minhas quatro filhas: Raabe Esthefanny, Rayssa Emanuely, Sophia Rafaelly, Stella Eloisy, meu filho que veio quando o Mundo todo se dobrava para um momento Pandêmico, contudo, ele chegou para nos deixar mais apreensivos, mas ao mesmo tempo felizes, o meu querido e amado: Samá Rafael.

Também a minha Rainha que me trouxe a existência neste mundo: Iraci Caetano, a minha sogra Edna Araújo, que assim como minha mãe, também ficou com as crianças para que este curso pudesse ser realizado.

Em especial ao meu grande amigo Gustavo Henrique e aos meus colegas que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Também, a cada professor, que desde o primeiro período nos ajudou: Luciano, Letícia, Daniella, Rogério, Lígia, Luciene, Wáquila, Gláucia, Marcelo, Thiago, André, Serejo, Adriana, Flora, Simone, Roberta, Juliana, Patrícia, João Paulo, Fernando Vianna, Fernando, Katiuscia, Blyeny Hatalita, Tauã, Lucilene, Karina e Tatiana.

Aos meus orientadores Dra. Simone Machado Goulart, Msc. Adilson Correia Goulart e Dr. João Paulo Victorino, meu muito obrigado por toda paciência e ensinamento.

E por fim, ao Instituto Federal de Goiás – Câmpus Itumbiara, que com sua infraestrutura me proporcionou subir mais um degrau na escada do conhecimento.

RESUMO

Devido ao grande aumento de pragas em animais, lavouras e plantações, houve a necessidade de implantação do uso de substâncias químicas para ajudar no controle de insetos, fungos e ervas daninhas. O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo, desde o ano de 2008, ficando refém de um sistema de produção agrária de alimentos, colocando em pauta problemas de saúde pública, pois estimativas mostram que os brasileiros consomem cerca de 7 kg de agrotóxicos per capita por ano, tornando particularmente preocupante seu impacto individual e coletivo. As laranjas tiveram em parte sua popularidade devido aos altos níveis de vitamina C, e nas análises realizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com dados publicados no último relatório do Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxicos (PARA) (Ciclo 2017 e 2018) divulgados em 2019, o clorpirifós foi detectado em 8,12 % dessas amostras de laranja. Ainda na laranja, quatro agrotóxicos foram detectados de forma irregular, ou seja, não são permitidos para essa cultura, como o carbofurano, o 2,4 D, a boscalida e ciromazina. O clorpirifós é um agrotóxico extremamente tóxico e sua concentração em laranja não pode ultrapassar 2 mg Kg⁻¹. Atualmente ele passa por uma reavaliação de seu uso no Brasil, uma vez que já foi proibido na maioria dos países onde era utilizado. Nesse sentido, para analisar as laranjas da cidade de Itumbiara-Go, realizou-se a otimização e validação do método extração sólido líquido com partição à baixa temperatura (ELL-PBT). O método se mostrou eficaz, dado que, todos os parâmetros analisados, como a seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação, estavam dentro do permitido para validação de métodos analíticos. O método apresentou exatidão, exibindo porcentagem de recuperação acima de 90% e inferior a 120 %, com a precisão ficando abaixo do RSD ≤ 20 %. Após otimização e validação, coletou-se laranjas de quatro pontos diferentes e foram submetidas ao método otimizado. Após as análises utilizando o método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, constatou-se que apenas uma amostra das laranjas estava contaminada com o agrotóxico clorpirifós na concentração de 2,83 mg/kg⁻¹, concentração essa, acima do Limite Máximo de Resíduos permitido, o que é um fator preocupante devido às consequências do mesmo à saúde humana e ao meio ambiente.

Palavras-chave: ELL-PBT, Agrotóxicos, Citrus.

ABSTRACT

Due to the large increase in pests in animals, crops and plantations, there was a need to implement the use of chemical substances to help control insects, fungi and weeds. Brazil is the largest consumer of pesticides in the world since 2008, becoming hostage to an agrarian food production system, raising public health problems, as estimates show that Brazilians consume about 7 kg of pesticides per year. per capita per year, making its individual and collective impact particularly worrying. Oranges had their popularity in part due to the high levels of vitamin C, and in the analyzes carried out by the National Health Surveillance Agency (ANVISA), with data published in the last report of the Pesticide Residue Analysis Program (PARA) (Cycle 2017 and 2018) released in 2019, chlorpyrifos was detected in 8.12% of these orange samples. Still on orange, four pesticides were detected irregularly, that is, they are not allowed for this crop, such as carbofuran, 2,4 D, boscalid and cyromazine. Chlorpyrifos is an extremely toxic pesticide and its concentration in orange cannot exceed 2 mg Kg⁻¹. It is currently undergoing a reassessment of its use in Brazil, since it has already been banned in most countries where it was used. In this sense, to analyze the oranges from the city of Itumbiara-Go, the optimization and validation of the liquid solid extraction method with low temperature partition (LLE-LTP) was carried out. The method proved to be effective, given that all parameters analyzed, such as selectivity, linearity, precision, accuracy, limit of detection and quantification, were within the limits allowed for validation of analytical methods. The method showed accuracy, showing recovery percentages above 90% and below 120%, with precision below $RSD \leq 20\%$. After optimization and validation, oranges were collected from four different points and submitted to the optimized method. After the analyzes using the High Performance Liquid Chromatography method, it was found that only one sample of the oranges was contaminated with the pesticide chlorpyrifos at a concentration of 2.83 mg/kg⁻¹, a concentration above the Maximum Residue Limit allowed , which is a worrying factor due to its consequences for human health and the environment.

Keywords: LLE-LTP, Pesticides, Citrus.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Fórmula estrutural do Clorpirifós.....	10
Figura 02	Vendas de Clorpirifós no Brasil.....	10
Figura 03	1 mL retirado do sobrenadante da amostra.....	15
Figura 04	Porcentagens de recuperação dos ensaios.....	20
Figura 05	Cromatograma da seletividade do método.....	21
Figura 06	Curva analítica do clorpirifós.....	22
Figura 07	Agrotóxico clorpirifós detectado no ponto 3.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Planejamento Fatorial 2^2 para matrizes de laranja fortificadas.....	16
Tabela 02	Avaliação dos fatores.....	20
Tabela 03	Níveis de concentração para determinação da exatidão e precisão.....	24

LISTA DE SIGLAS

CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.
CLAE-UV	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Ultravioleta.
CG	Cromatografia Gasosa.
CG-ECD	Cromatografia Gasosa com Detector por Captura de Elétrons.
CV	Coeficientes de Variação.
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano.
DPR	Desvio Padrão Relativo.
ELL-PBT	Extração Líquido- Líquido Com Partição à Baixa Temperatura.
FE	Fase Estacionária.
FM	Fase Móvel.
LD	Limite de Detecção.
LMR	Limite Máximo de Resíduo.
LQ	Limite de Quantificação.
PPB	Partes por Bilhão
UPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Ultra-performance-espectrometria de Massa
UV	Ultravioleta.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
1.1	Objetivos.....	10
1.1.1	Objetivo geral.....	10
1.1.2	Objetivos específicos	10
1.2	Justificativa.....	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1	Agrotóxico clorpirifós.....	11
2.2	A cultura de Laranja.....	13
2.3	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos.....	14
2.4	Extração e análise.....	14
2.5	Parâmetros para a validação do método ELL-PBT.....	15
3	METODOLOGIA.....	17
3.1	Verificação da aplicabilidade do método ELL-PBT em amostras de laranja	17
3.2	Análise por CLAE-UV.....	18
3.3	Otimização e Validação da ELL-PBT.....	18
3.3.1	Linearidade.....	18
3.3.2	Seletividade.....	19
3.3.3	Limite de Detecção e Quantificação.....	19
3.3.4	Exatidão.....	19
3.3.5	Precisão.....	19
3.3.6	Amostras reais.....	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	21
4.1	Otimização do método ELL-PBT em laranja.....	21
4.2	Validação do método ELL-PBT em laranja.....	22
4.2.1	Seletividade.....	22
4.2.2	Linearidade.....	23
4.2.3	Limite de detecção e limite de quantificação.....	24
4.2.4	Exatidão.....	25
4.2.5	Precisão.....	26

4.2.6	Aplicação do método ESL-PBT em laranjas.....	26
5	CONCLUSÕES.....	28
	REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

Devido ao grande aumento de pragas em animais, lavouras e plantações, houve a necessidade de implantação do uso de substâncias químicas para ajudar no controle de insetos e fungos. O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo, desde o ano de 2008, ficando refém de um sistema de produção agrária de alimentos, colocando em pauta problemas de saúde pública como brandicardia, miose, espasmos intestinais e brônquicos, estimulação das glândulas salivares e lacrimais; fibrilações musculares e convulsões (CASSAL, *et al.*, 2014). Estimativas mostram que os brasileiros consomem cerca de 7kg de agrotóxicos per capita por ano, tornando particularmente preocupante seu impacto individual e coletivo (FROTA; SIQUEIRA, 2021).

Nesse contexto, uma das frutas que são cultivadas com a adição de agrotóxicos é a laranja, ela possui uma popularidade devido aos altos níveis de vitamina C que fornecem e são consideradas um aparte essencial de uma dieta saudável. Contudo, há uma diversa série de doenças e pragas que assolam as plantações das laranjas, afetando, desse modo, a qualidade dos frutos, sejam eles para a indústria ou para o mercado de fruta fresca. O sucesso da citricultura, além dos aspectos relacionados à implantação do pomar, depende do manejo adequado de todo processo de produção (DECHEN; CASTRO; NACHTIGALL, 2004).

Nas análises realizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com dados publicados no último Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxicos (PARA) (Ciclo 2017 e 2018) divulgados em 2019, 139 amostras apresentaram agrotóxicos não autorizados para a cultura da laranja (BRASIL, 2019). Foram analisadas 382 amostras de laranja, ela representa 24% dos alimentos com casca não comestíveis no país no período 2017/2018; dos alimentos monitorados com um total de 4.616 amostras analisadas. O Clorpirifós foi detectado em 8,12 % dessas amostras de laranja. Ainda na laranja, quatro agrotóxicos foram detectados de forma irregular, ou seja, não são permitidos para essa cultura, como o carbofurano, o 2,4 D, a boscalida e ciromazina (BRASIL, 2019).

Para a realização de análise de agrotóxicos em frutas e demais alimentos foram desenvolvidas diversas técnicas para análise, mas normalmente consomem um volume grande de solvente orgânicos. Em análises de clorpirifós em grãos de café foi detectado a presença desse agrotóxico considerado extremamente tóxico (ANHOLETI; OSÓRIO; VIEIRA, 2019).

Neste trabalho o objetivo foi otimizar e validar uma metodologia analítica de extração do clorpirifós em laranjas e análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector ultravioleta (CLAE-UV). Posteriormente, a metodologia foi aplicada na análise de amostras reais de laranjas comercializadas em supermercados e feira de Itumbiara-GO. A Extração Líquido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ELL-PBT) tem se apresentado como uma alternativa para extração de agrotóxicos em diversas matrizes como caldo de cana, água, por isso o interesse em aplicá-la para determinação de clorpirifós em laranjas.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Otimizar e validar a ELL-PBT para análise de Clorpirifós em laranja utilizando CLAE-UV.

1.1.2 Objetivos específicos

- Verificar a utilização da técnica ELL-PBT e análise por CLAE-UV para extração de Clorpirifós em laranja;
- Otimizar os parâmetros de análise, tais como relação tipo de solvente e tipo de agitação;
- Validar o método otimizado;
- Analisar a presença de Clorpirifós em laranja, sendo elas de três (03) supermercados e uma (01) feira de Itumbiara-GO e região utilizando a técnica otimizada e validada.

1.2 Justificativa

O Brasil é líder mundial na produção de Citros e da exportação de suco de laranjas concentrado congelado e é líder também no consumo de agrotóxicos, por isso há uma grande justificativa para execução desse projeto. Além desse fato, o clorpirifós é extremamente tóxico e sua concentração em laranja não pode ultrapassar 2 mg Kg⁻¹. Atualmente ele passa por uma reavaliação de seu uso no Brasil, uma vez que já foi proibido na maioria dos países onde era utilizado (GRIGORI, 2021; BRASIL, 2022). A detecção desse agrotóxico por meio do desenvolvimento de uma técnica de análise otimizada e validada é muito importante para a saúde pública, o meio ambiente e a área de química analítica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Agrotóxico clorpirifós

A comercialização de agrotóxicos teve um aumento acelerado até o ano 2013, o país mediante a crise econômica 2014 perdeu força nessa área, mas em 2017, passou a marca de 500 mil toneladas por ano. Os estados de Mato Grosso, São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Bahia e Santa Catarina representam 90% de toda a comercialização de agrotóxicos. Os dois primeiros estados citados comercializaram individualmente 100.638 e 77.232 toneladas, totalizando no ano de 2017 com 518.564 toneladas. O Brasil ocupa o ranking mundial de maior mercado consumidor de agrotóxicos, suas vendas chegaram a somar U\$\$ 7,125 bilhões, diante do 2º colocado os Estados Unidos da América (TAVARES et al., 2020).

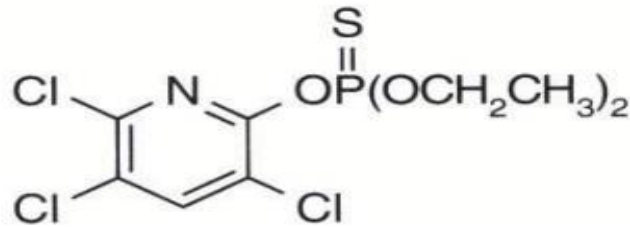
O Clorpirifós pertence à classe dos organofosforados, possui o nome químico O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato, estrutura química apresentada na Figura 1. Dispõe de alta eficiência no combate de insetos e pragas inibindo a transmissão dos impulsos nervosos nestes organismos. É um dos pesticidas organofosforado (OP) do tipo inseticida, acaricida e nematicida, é um sólido branco cristalino, tem um odor bem semelhante ao aroma do enxofre encontrado no ovo podre, cebola e alho (PEREIRA, 2014).

Este pesticida é autorizado pela ANVISA para uso no cultivo de diversos alimentos como: abacaxi, arroz, chuchu, beterraba e outros obedecendo a quantidade de resíduo que pode ficar em cada alimento, sendo encontrado em grandes concentrações na cultura de alface, abobrinha, uva e tomate, citros como a laranja etc (BRASIL, 2022). O Limite Máximo de Resíduo (LMR) de clorpirifós em laranja é de 2 mg Kg⁻¹, esse valor é igual para outras frutas cítricas (BRASIL, 2022). Sua aplicação é foliar e tem um período de carência de 21 dias em citrus (BRASIL, 2022).

É conhecido por vários nomes de marca registrada. A primeira empresa a registrar o Clorpirifós foi a Dow Chemical Company em 1965, hoje conhecida por Corteva Agiscience. O Clorpirifós é tóxico e a exposição crônica relacionou-se com efeitos neurológicos, transtornos do desenvolvimento e transtornos autoimunes atrasos e problemas no desenvolvimento de crianças. Sua proibição nos Estados Unidos foi devido à pesquisa feita em 2012 pela Universidade de Columbia, que analisou 40 crianças de até 11 anos que foram expostas ao clorpirifós durante a

gravidez. Este estudo identificou que a exposição trouxe uma série de deficiências às crianças assim que chegaram aos 3 anos de vida (GRIGORI, 2021).

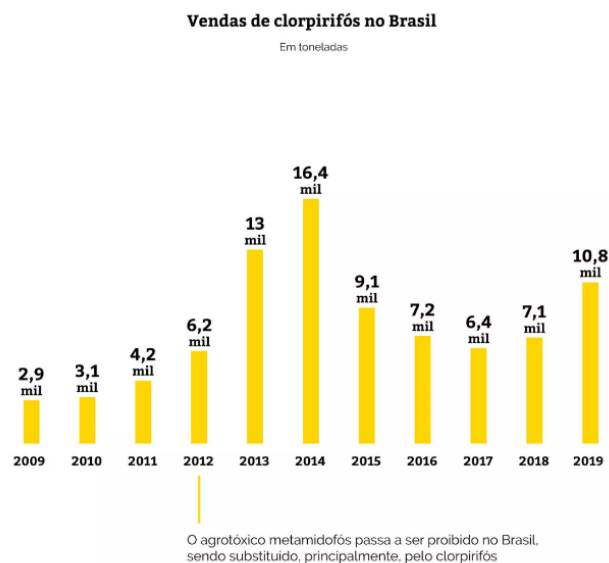
Figura 1: Fórmula estrutural do Clorpirifós.



Fonte: SILVÉRIO et al., 2012.

Em 2012 foi proibido a utilização do agrotóxico metamidofós sendo este substituído, principalmente, pelo Clorpirifós (GRIGORI, 2021). Como mostra na Figura 2 abaixo, houve um aumento das vendas desse último a partir do ano de 2012.

Figura 02: Vendas de Clorpirifós no Brasil



Fonte: GRIGORI, 2021.

Mesmo com a proibição da venda do Clorpirifós em outros países, o Brasil continua sendo recordista na compra deste produto para aplicar em suas lavouras. Em nota, a ANVISA respondeu

que as proibições em outros países são critérios considerados na construção da lista de prioridades para a reavaliação no Brasil. Mas que, “atualmente, com as evidências técnicas disponíveis não se faz pertinente uma nova priorização” do Clorpirifós na lista de reavaliação. A agência afirma também que a reavaliação do produto, que ocupa a quarta na lista de prioridades, já está sendo iniciada, de forma que o Clorpirifós deve ser submetido em breve processo. Mas não há data prevista (GRIGORI, 2021). Em 2023 ele continua na lista dos agrotóxicos autorizados embora banido em vários países (BRASIL, 2023).

2.2 A cultura de laranja

A laranjeira é tida como uma das árvores frutíferas mais conhecidas, cultivadas e estudadas em todo o mundo. Ela, como todas as plantas cítricas, é nativa da Ásia, mas a região de origem é motivo de controvérsia. O gênero *Citrus* representa o ponto mais alto de um longo período evolutivo, cujo início remonta a mais de 20 milhões de anos, na Austrália. A trajetória da laranja pelo mundo é conhecida apenas de forma aproximada. Segundo pesquisadores, ela foi levada da Ásia para o norte da África e de lá para o sul da Europa, onde teria chegado na Idade Média. Da Europa foi trazida para as Américas na época dos descobrimentos, por volta de 1500. A laranja foi distribuída pelo mundo sofrendo mutações e dando origem a novas variedades. Durante a maior parte desse período, a citricultura ficou à mercê de si mesma – o cultivo de sementes modificava teve um aumento gigantesco, fazendo assim mudanças aleatórias em seu sabor, o aroma, a cor e o tamanho dos frutos. Atualmente, os pomares mais produtivos, resultantes de uma citricultura estruturada, estão nas regiões de clima tropical e subtropical, destacando-se o Brasil, Estados Unidos, México, China e África do Sul (TURRA; GHISI, 2004).

Os produtores agrícolas acreditam no crescimento da citricultura orgânica tanto no país quanto em todo o mundo. O Brasil que detém a 13ª maior área com 276 mil certificados, e movimenta cerca de US\$ 200 milhões, demonstra fortes sinais de crescimento na agricultura orgânica que é um sistema de manejo de produção ecológica que promove e enriquece a biodiversidade, baseando no menor uso de insumos provenientes (TURRA; GHISI, 2004).

Segundo Gravena (2017), o uso de agrotóxicos nas lavouras de laranja teve seu início com introdução do *Citrus* no Brasil em 1542. A primeira praga citada foi a saúva, mas, somente em 1781 citou-se uma praga da citricultura, no município de Limeira, SP. Tratava-se da cochonilha

ortézia, *Orthezia praelonga*, que se tornou, depois, uma das principais pragas da cultura. Em 1865 apareceu o primeiro inseticida fungicida, o Verde Paris. A revolução no controle químico veio com o Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) em 1939, que viria a ser proibido para a agricultura em 1995.

2.3 Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos

Em consonância com a missão e os valores da ANVISA, a Gerência-Geral de toxicologia mais uma vez consolida e apresenta os resultados do PARA. Este relatório apresenta informações detalhadas sobre os resultados das análises de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em amostras de alimentos de origem vegetal, coletadas no período de 2017 a junho de 2018 (BRASIL, 2019).

No relatório referente ao período 2017-2018 foram analisadas 4.616 amostras de 14 alimentos em 77 municípios brasileiros, dentre esses alimentos, em especial temos a Laranja (BRASIL, 2019). Para isso, as coletas foram realizadas semanalmente no mercado varejista, como supermercados e sacolões. As análises laboratoriais dos alimentos, por sua vez, foram realizadas mantendo-se as características da amostra no momento da coleta, sem qualquer procedimento de lavagem ou retirada de cascas. Foram analisadas 382 amostras de laranja. Destas, 330 foram consideradas satisfatórias, sendo que 157 não apresentaram resíduos dos agrotóxicos pesquisados e 173 apresentaram resíduos em concentrações iguais ao Limite máximo de resíduos (LMR). LMR é estabelecido considerando vários fatores, dentre eles a toxicidade do composto para seres humanos e o limite de quantificação dos métodos instrumentais de análises (SILVÉRIO et al., 2012).

2.4 Extração e análise

Segundo Silvério e colaboradores (2012) existem inúmeras técnicas de análise de agrotóxicos em alimentos, mas a ELL-PBT tem se apresentado como uma alternativa para extração de agrotóxicos em diversas matrizes. O método é baseado na partição dos analitos entre as fases aquosa e orgânica onde são extraídos pela fase orgânica. Na extração do Clorpirifós em latossolo, no sobrenadante utilizou-se a técnica Extração Líquido-Líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e para a quantificação utilizou-se cromatografia gasosa (CG), com detector por captura de elétrons (CG-ECD) (MARCELO, 2011).

Um método de extração em fase sólida foi desenvolvido para detectar pesticidas abaixo de concentrações de parte por milhão ($\mu\text{g/mL}$) para clorpirifós em laranja. O método, extração em fase sólida, incluindo extração com solventes, foi usado para detectar 50 partes por bilhão (ppb) do Clorpirifós-metil (COM) artificialmente adicionado ao suco de laranjas. Este método pode ser adaptado a outros pesticidas e alimentos (SHENDE; et al., 2010).

Outros agrotóxicos foram encontrados em laranja como cipermetrina e perclorato. A análise foi realizada através de Espectrometria de Massa e Cromatografia Líquida de Ultra Desempenho (UPLC-MS/MS). Os resultados mostraram que os resíduos de pesticidas foram distribuídos principalmente em cascas de laranja, tendo uma variação de 43,6 a 85,4%, isso durante o processo de lavagem (LI et al., 2012).

Após extração, os agrotóxicos são analisados por análise instrumental. A cromatografia líquida é uma técnica bastante difundida para detecção de agrotóxicos, por ser uma técnica versátil e que possibilita análises e separações de uma ampla cadeia de compostos com alta eficiência (CRUZ, VENÂNCIO E SILVA, 2018). A CLAE é um método de separação de compostos químicos em solução, por partição dos componentes da amostra entre uma Fase Móvel (FM) e uma Fase Estacionária (FE).

2.5 Parâmetros para validação do método ELL-PBT

Uma técnica desenvolvida deve ser otimizada e validada para apresentar boa exatidão e confiabilidade. Um protocolo europeu muito utilizado para validação de métodos para análise de agrotóxicos em alimentos é o protocolo chamado SANTE (SANTE, 2021). Nesse protocolo os principais parâmetros sugeridos para validação são, entre outros, linearidade, limite de detecção e quantificação, seletividade, exatidão e precisão. Esses foram os parâmetros validados no presente projeto.

A seletividade é definida quando não há ocorrência de sinais cromatográficos atribuídos a interferentes no mesmo tempo de retenção do analito (VIEIRA et al., 2022).

A linearidade de um método analítico diz respeito da sua capacidade de obter resultados que são diretamente proporcionais à concentração do analito. As etapas para a construção de uma curva analítica são: determinar o intervalo de concentração da curva analítica; preparar uma curva analítica com pelo menos seis níveis de concentração paralelos e com três repetições independentes

para cada nível; realizar as análises das soluções preparadas para obtenção dos dados experimentais (SICUPIRA, 2019).

O limite de detecção (LD) retrata a menor concentração da substância em análise, que pode ser detectada e diferenciada do ruído do sistema empregado. Já o limite de quantificação (LQ) é a menor concentração que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão (SOUZA, 2005).

Vieira (2005), afirma 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. Já a precisão é a aproximação da dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra. Esse parâmetro é calculado pelo coeficiente de variação (RÉ FILHO, 2016).

3 METODOLOGIA

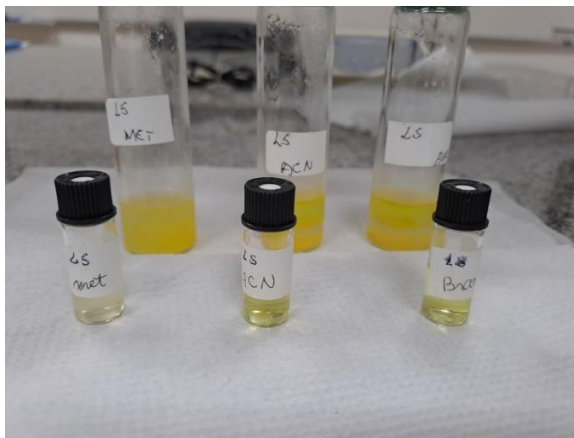
As análises foram realizadas no Laboratório de Química Analítica e Instrumental do IFG, Campus Itumbiara (Laboratório T-303). Inicialmente, foi testada a metodologia proposta por Oliveira Júnior et al. (2021). Esses autores utilizaram a ELL-PBT para análise de agrotóxicos carbamatos em água. Como o suco de laranja é líquido, essa metodologia foi o ponto de partida para otimização da ELL-PBT.

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 aplicação de nenhum tipo de agrotóxico. Essas laranjas tiveram seus sucos extraídos e esses foram fortificadas com solução padrão de clorpirifós na concentração final de 5 mg L^{-1} e submetidos à extração ELL-PBT.

Nessa extração, 1 mL de amostra (suco da laranja) foi colocado em contato com 4 mL do solvente extrator acetonitrila. Logo depois, o sistema foi agitado em agitador de tubos do tipo vórtex por 60 segundos e finalmente deixado em freezer por um período de 3 horas a uma temperatura de aproximadamente -20°C para que ocorresse a partição à baixa temperatura. Após a partição, uma alíquota de 1 mL foi retirada do sobrenadante e injetou-se $20 \mu\text{L}$ no cromatógrafo à líquido. Como exposto na Figura 3.

Figura 3: 1 mL retirado do sobrenadante da amostra.



Fonte: Os autores (2022).

Para a verificação da aplicabilidade do método, foram obtidas laranjas cultivadas sem aplicação de nenhum tipo de agrotóxico, que configuraram como o branco das análises e também para fortificações com o padrão nos processos de validação. Essas laranjas tiveram seus sucos extraídos e esses foram fortificadas com solução padrão de clorpirifós na concentração final de 5 mg L⁻¹ e submetidos à extração ELL-PBT.

3.2 Análise por CLAE-UV

Utilizou-se um cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20AT com detector UV/VIS Shimadzu SPD. As condições cromatográficas foram: coluna cromatográfica C18 (Modelo Coluna KINETEX® 5µ EVO C18 100A 150 x 4,6 mm); fase móvel: acetonitrila; H₂O 85:15 (v:v), vazão da fase móvel: 0,8 mL min⁻¹; temperatura da coluna: 35°C e volume de injeção: 20 µL; detector UV (λ: 213 nm).

3.3 Otimização e Validação da ELL-PBT

Na otimização, dois fatores foram analisados: tipo de solução extratora (acetonitrila ou metanol) e tipo de agitação (vórtex e ultrassom). Como são dois fatores em dois níveis, essa otimização é chamada de planejamento fatorial 2², para avaliação do comportamento simultâneo de dois fatores conforme Tabela 1 a seguir. As análises foram feitas em triplicata.

Tabela 1. Planejamento fatorial 2² 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: Os autores (2022).

Após resultados da otimização, foi realizada a validação do método otimizado. Para validação utilizou-se o protocolo europeu para validação de métodos para análise de agrotóxicos em alimentos (SANTE, 2021). O método foi validado de acordo com a linearidade, limite de detecção e quantificação, seletividade, exatidão e precisão.

3.3.1 Linearidade

Avaliou-se a linearidade através da construção de uma curva analítica preparada na matriz. Para tanto, foram injetadas amostras do suco de laranja com o padrão clorpirifós em concentrações de 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 mg L⁻¹, submetidas à ELL-PBT, utilizando o ensaio otimizado. Em sequência construiu-se uma curva analítica.

3.3.2 Seletividade

Para a verificação da seletividade do método, foi injetado um branco da laranja, e a matriz fortificada com o clorpirifós, submetidos ao ensaio otimizado do planejamento fatorial.

Em sequência analisou-se os cromatogramas e comparou-se os tempos de retenção do clorpirifós para a comprovação da seletividade.

3.3.3 Limite de Detecção e Quantificação

Para o LQ, o clorpirifós foi injetado em concentrações decrescentes até a ausência de sinal cromatográfico. A menor concentração que possibilitou a visualização de sinal foi injetada em triplicata e os valores foram submetidos ao teste do desvio padrão relativo. Para determinar o LD dos métodos de ESL-PBT e ELL-PBT os valores de LQ foram divididos por 3.

3.3.4 Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio da fortificação/recuperação em sextuplicata. A matriz foi fortificada em três níveis de concentração, em triplicata (nível baixo 0,25 mg L⁻¹; nível médio 0,5 mg L⁻¹; nível alto 0,75 mg L⁻¹). Em sequência, analisou-se os resultados das porcentagens de recuperação do agrotóxico na matriz, verificando se os valores ficaram dentro da faixa permitida que é de 70 a 120%.

3.3.5 Precisão

A precisão do método foi determinada através do Desvio Padrão Relativo (DPR), de matrizes fortificadas em três níveis de concentração em sextuplicata, (nível baixo 0,25 mg L⁻¹; nível médio 0,5 mg L⁻¹; nível alto 0,75 mg L⁻¹). Em sequência analisou-se o RSD $\leq$ 20% que é o valor considerado como nível de aceitabilidade pelo guia de validação SANTE (2020).

3.3.6 Amostras reais

Após otimização e validação, analisou-se a presença de Clorpirifós em laranjas comercializadas na cidade de Itumbiara-Go. Foram analisadas laranjas de quatro (4) lugares diferentes, sendo três (3) supermercados, uma (1) feira.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Otimização do método ELL-PBT em laranja

Na extração do agrotóxico clorpirifós nas matrizes de laranja, empregando a ELL-PBT, foram avaliados o tipo de solvente extrator (acetonitrila ou metanol) e tipo de agitação (vórtex ou banho ultrassom), por meio do planejamento fatorial. A avaliação do efeito dos fatores foi realizada pelo teste *t* (distribuição de *student*) com 5% de significância e 95% de confiança, no qual efeitos com valores de $p < 0,05$ são significativos.

Observa-se na Tabela 2, que os dois fatores avaliados foram significativos, ou seja, ao analisar o valor de *p* para o fator tipo de agitação, constata-se que o valor ficou menor que 0,05, e obteve-se uma redução de -8,19 de recuperação do agrotóxico na laranja ao substituir o vórtex pelo banho ultrassônico. Menezes (2020), em seu trabalho diz que o método de agitação em vórtex, consiste no ato de agitar o sistema no vórtex para promover a homogeneização. Já banho ultrassônico atua promovendo a extração de elementos, sedimentando materiais particulados que estão em suspensão na solução, além de causar a rompimento de células vegetais. A redução da porcentagem de recuperação do agrotóxico da laranja ao trocar o tipo de agitação, pode ter acontecido devido ao fato de o banho ultrassônico romper as partículas mais rigorosamente, e estar promovendo alguma degradação do agrotóxico juntamente com os componentes da laranja.

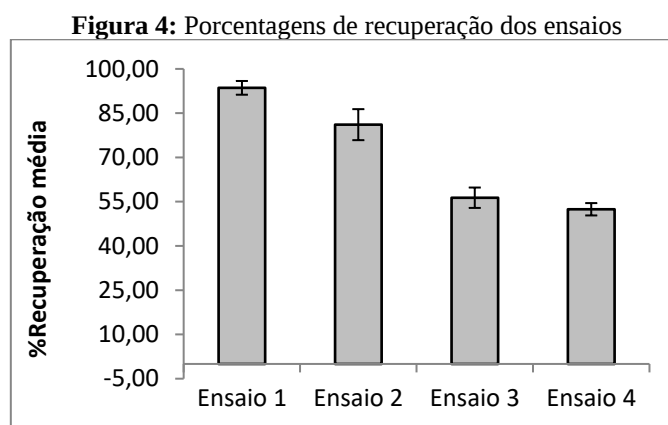
Já no tipo de solvente, observa-se que houve uma redução de -32,96 de recuperação do agrotóxico na matriz ao substituir o acetonitrila pelo metanol, isso pode ter se dado devido ao fato de o metanol apresentar uma alta viscosidade quando dissolvido em água, em comparação a acetonitrila (CASSINI; ANTUNES; KELLER, 2013). Portanto, este valor é significativo, pois apresenta valor de $p < 0,05$.

Tabela 2: Efeito dos fatores

Fatores	Efeitos	Erros	p-Valor
Tipo de agitação	-8,19	$\pm$ 2,027	0,0037
Tipo de solvente	-32,96	$\pm$ 2,027	2E-07
Fator 1 X Fator 2	4,285	$\pm$ 2,027	0,0675

Fonte: Autoria própria (2022).

Desse modo, decidiu-se utilizar pelo ensaio 1 que consiste na agitação por vórtex e utilização do solvente acetonitrila, que apresentou uma melhor porcentagem de recuperação (95,82%). Vieira (2005) também comprovou a eficiência do método ELL-PBT, ao determinar os piretróides cipermetrina, deltametrina, λ -cialontrina e permetrina em água, no qual obteve uma porcentagem de recuperação que ficou dentro da faixa de aceitação de 70 a 120%, conforme pode ser verificado na Figura 4.



Fonte: Autoria própria (2022).

No trabalho realizado por Furlani et al.. (2010) foi validado o método QuEChERS para extração de sete agrotóxicos em caldo de cana. Como resultado, as análises apresentaram uma média de recuperação entre 62,9 a 107,5% e o coeficiente de variação ficou entre 5,1 e 17,6%. Já no trabalho realizado por Oliveira Junior (2020) validou-se o método ELL-PBT em caldo de cana através da porcentagem de recuperação do carbofurano. A média das porcentagens de recuperação (%R) obtidas foram 99,1% e 102,1% e os Coeficientes de Variação (CV) foram 1,87% e 1,90%. Sendo assim, o método ELL-PBT apresentou uma melhor porcentagem de recuperação, menor consumo de solventes e uma menor variação se comparado com o método QuEChERS.

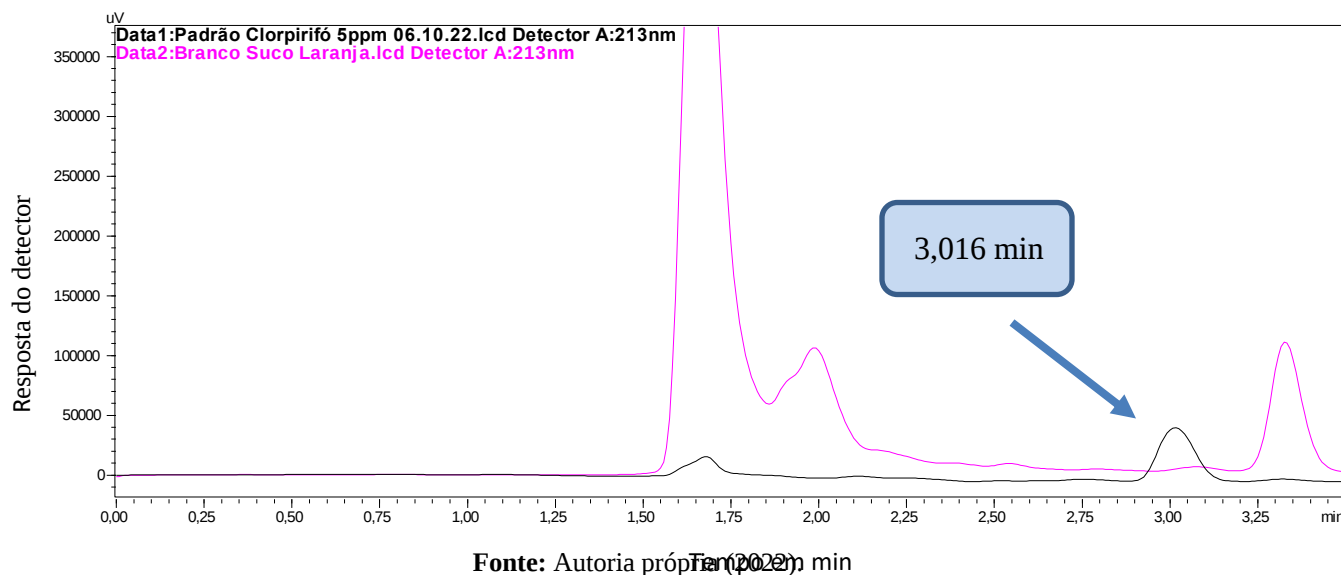
4.2 Validação do método ELL-PBT em laranja

4.2.1 Seletividade

Utiliza-se a seletividade para analisar a interferência no método e as influências nos resultados (RIBANI; BOTTOLI; COLLINS, 2004). Quando não há sinais cromatográficos atribuídos no mesmo tempo de retenção do agrotóxico o método é considerado seletivo. Ao analisar a Figura 5, observa-se que não há interferentes no branco da laranja no mesmo tempo de retenção

do clorpirifós (3,016 min). Desse modo, comprova-se a seletividade da ELL-PBT para determinação de clorpirifós em laranja.

Figura 5: Cromatograma da seletividade do método

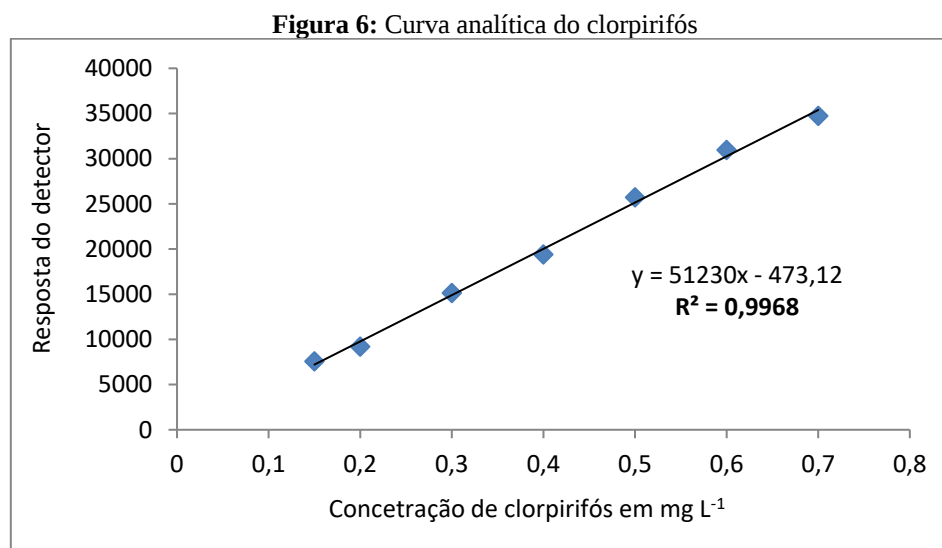


Em um estudo realizado por Freitas (2020), avaliou a seletividade na determinação e avaliação da estabilidade do 2,4-D em amostras de água. O parâmetro foi determinado pela análise comparativa entre os cromatogramas dos extratos da matriz isenta do 2,4-D (branco) e dos extratos da matriz fortificada, para verificar se havia a presença de sinais atribuídos a interferentes no mesmo tempo de retenção do 2,4-D. Verificou-se que a metodologia foi seletiva para o monitoramento do analito de interesse, pois, nos cromatogramas das amostras do branco da matriz, não foram detectados sinais de interferentes no mesmo tempo de retenção do 2,4-D.

4.2.2 Linearidade

Para determinar a linearidade de um método é realizado análises de padrões do agrotóxico injetadas em diferentes concentrações em triplicata, sendo fortificadas em solvente com o agrotóxico, ou branco da matriz da amostra fortificado e submetido ao método conforme executado nesse trabalho. A Figura 6 exibe o gráfico da curva analítica do clorpirifós.

Para estabelecer se o coeficiente de determinação (R^2) e a linearidade é classificada aceitável, o R^2 obtido deve ser maior que 0,99 (SANTE; 2021). Portanto, esse método é linear, visto que o R^2 é de 0,9968.



Fonte: Autoria própria (2022).

Silverio et al. (2012), efetuaram a comprovação do parâmetro em discussão na determinação de clorpirifós, λ -cialotrina, permetrina e bifentrina em 29 amostras de água coletadas em canais de irrigação da região do Projeto Jaíba, no norte de Minas Gerais. O método foi avaliado analisando-se extratos obtidos a partir da ELL-PBT de amostras de água que foram fortificadas com agrotóxicos nas concentrações 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os coeficientes de correlação linear (r) para as curvas analíticas dos quatro agrotóxicos foram superiores a 0,995.

4.2.3 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) são fundamentais pois permitem que sejam determinados limites analíticos possíveis de alcançar com o método. O limite de detecção está associado à menor concentração de analito existente na amostra, que pode ser inequivocadamente distinguida do branco. Já o limite de quantificação corresponde à menor quantidade medida, a partir da qual é possível a quantificação do analito, com uma determinada

exatidão e precisão (MARTINS, 2016). No presente trabalho, estabeleceu-se valores dos LD e LQ estabelecidos na matriz fortificada, em que o limite máximo de detecção do agrotóxico na matriz foi de 0,05 mg. L⁻¹, e o limite de quantificação do agrotóxico na matriz foi de 0,15 mg. L⁻¹. Esses valores foram estabelecidos com base em dados publicados pela ANVISA, que estabelece que o Limite Máximo de Resíduos (LMR) do clorpirifós em laranja seja de 2,0 mg/kg (BRASIL, 2019).

4.2.4 Exatidão

A matriz foi fortificada em três níveis de concentração, em sextuplicatas (nível baixo 0,25 mg. L⁻¹; nível médio 0,5 mg. L⁻¹; nível alto 0,75 mg. L⁻¹), realizado em um único dia. Para determinar se um método é exato, as porcentagens médias de recuperação devem ficar entre 70 e 120%. Analisando a Tabela 3, podemos observar que apenas dois valores ficaram acima do limite máximo, sendo um do nível baixo e outro do nível alto, são concentrações muito baixas. Um dos motivos que podem ter causado esses resultados é o fato do suco da laranja possuir uma estrutura complexa. É formado por uma "mistura" aquosa de vários componentes orgânicos voláteis e instáveis, responsáveis pelo seu sabor e aroma, além de açúcares, ácidos, sais minerais, vitaminas e pigmentos (CORRÊA NETO; FARIA, 1999). Os demais ficaram todos dentro do limite considerável aceitável.

Tabela 3: 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	
Média geral 100,0		100,7		98,9	

Fonte: Autoria própria (2022).

4.2.5 Precisão

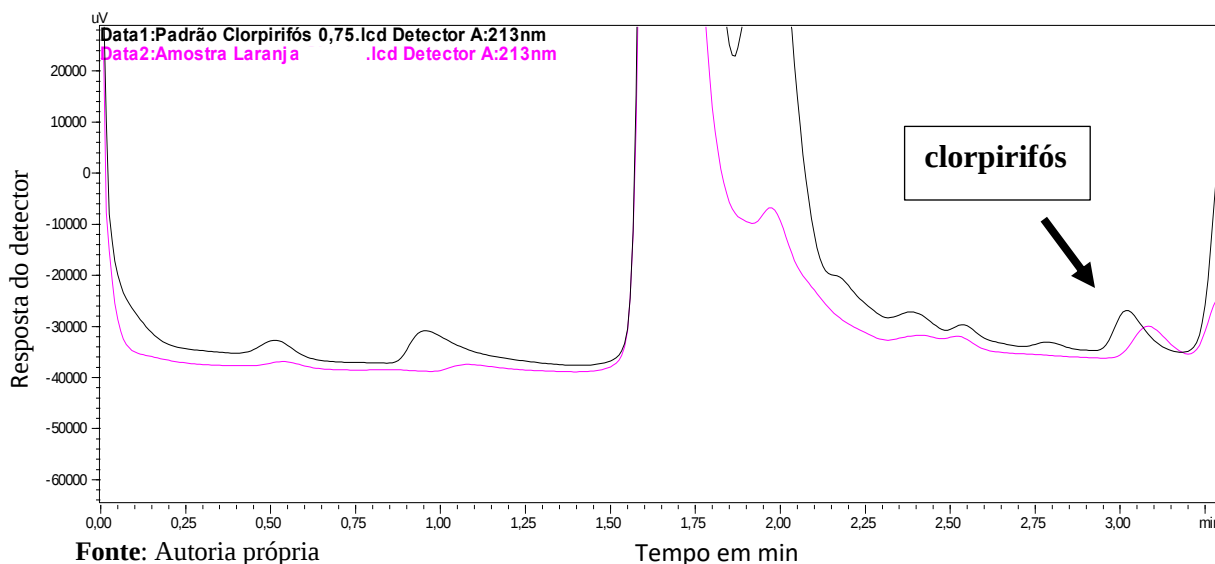
A precisão é a capacidade de repetir e reproduzir os resultados obtidos em análises sobre a mesma amostra. Para determinar se o método é preciso é necessário avaliar se o desvio padrão relativo (DPR) $\leq 20\%$ considerado como nível de aceitabilidade (SANTE, 2021). Desse modo, pode-se concluir que o método é preciso, analisando a Tabela 3, pois os valores de DPR ficaram abaixo de 20%.

No trabalho de Vieira e colaboradores (2007), utilizaram a técnica de ELL-PBT, na determinação da variação na porcentagem de recuperação (%R) de λ -cialotrina, permetrina, cipermetrina e deltametrina extraídas de amostras de água em diferentes dias. A precisão intermediária do método foi avaliada pelos valores da porcentagem de recuperação (%R) e do coeficiente de variação (CV), obtidos de análises executadas em diferentes dias, pelo mesmo analista. Os resultados obtidos para extração dos compostos estudados na água bem como os respectivos coeficientes de variação ficaram abaixo de 20%, que é o valor máximo considerado como nível de aceitabilidade para a precisão.

4.2.6 Aplicação do método ESL-PBT em laranjas

Foram analisadas laranjas de 4 pontos diferentes, sendo 3 supermercados e 1 feira. Foi detectado a presença do clorpirifós em apenas 1 dos pontos acima do limite permitido. Através da curva analítica, a partir da equação disponibilizada na curva da linearidade do método $y = 50304x + 2403,5$, foi possível quantificar a concentração em miligramas do agrotóxico clorpirifós por kg de laranja no estabelecimento 3 de $2,83 \text{ mg/kg}^{-1}$ de clorpirifós na amostra de laranja analisada. Na Figura 7, pode-se observar o cromatograma do ponto 3, no qual foi detectado a presença de clorpirifós, no tempo de retenção de 3,016 min.

Figura 7: Agrotóxico clorpirifós detectado no ponto 3.



Segundo a ANVISA o clorpirifós é permitido para o cultivo da laranja com o limite máximo de resíduo de 2 mg/kg^{-1} (BRASIL,2019). Contudo, a amostra estava com $2,83 \text{ mg/kg}^{-1}$, apresentando, desse modo, resíduo de clorpirifós acima do permitido.

Da Paixão Alves (2020), realizou um trabalho no qual o agrotóxico clorpirifós foi analisado em amostras de alface, através da cromatografia líquida de alta eficiência. De três amostras da matriz, uma não atingiu o nível de detecção do equipamento, ou seja, a mesma pode ter sofrido aplicação do agrotóxico abaixo do limite mínimo de detecção ($7,18 \text{ mg/kg}^{-1}$). Nas outras duas amostras o agrotóxico foi detectado nas concentrações de 55 mg/kg^{-1} e 34 mg/kg^{-1} . Porém, a ANVISA regulamenta que não haja traços do clorpirifós em alface, mas caso ocorra aplicação do defensivo, possua traços máximos de $0,01 \text{ mg/kg}^{-1}$.

O agrotóxico clorpirifós subiu para o segundo lugar em relação ao índice de detecções irregulares no período de 2017-2018, sendo detectado em 5,3% das amostras, com regularidade verificada em 4,6% delas. Nesse contexto, o clorpirifós foi colocado em reavaliação pela ANVISA, devido à preocupação em relação a alguns aspectos toxicológicos, sendo eles, mutagenicidade e toxicidade para o desenvolvimento, em especial a neurotoxicidade para o desenvolvimento (DNT) (BRASIL, 2021).

5 CONCLUSÕES

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

Nesse contexto, obteve-se resultados excelentes quanto aos parâmetros analisados, de modo que se comprovou a linearidade do método na obtenção de coeficiente de determinação acima de 0,99. Evidenciou-se que não houve interferentes do branco da laranja no mesmo tempo de retenção do clorpirifós mostrando a seletividade do método. Obteve-se valores dos LD e LQ estabelecidos na matriz fortificada, no qual o limite mínimo de detecção do agrotóxico na matriz foi de 0,05 mg. L⁻¹, e o limite de quantificação do agrotóxico na matriz foi de 0,15 mg. L⁻¹. O método apresentou exatidão, apresentando porcentagem de recuperação acima de 90% e inferiores a 120 %, com a precisão ficando abaixo do RSD $\leq$ 20 %.

As análises realizadas nas amostras reais, coletadas no município de Itumbiara-GO, apresentaram resíduos de clorpirifós em apenas um ponto de comercialização. A amostra apresentou o Limite Máximo de Resíduos (LMR) acima do permitido pela ANVISA. Nesse contexto, é preocupante devido aos efeitos toxicológicos do agrotóxico clorpirifós que pode causar mutagenicidade e toxicidade para o desenvolvimento, em especial a neurotoxicidade (BRASIL, 2021).

É de extrema importância trabalhos como este, visto que, o uso exacerbado de agrotóxicos pode causar diversos danos à saúde humana e ao meio ambiente. Além disso, é muito relevante, pois o desenvolvimento de métodos validados e que consomem baixos volumes de solventes contribuem para o monitoramento seguro dos agrotóxicos.

REFERÊNCIAS

ANHOLETI, M. S.; OSÓRIO, V. M.; VIEIRA, K. M. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de clorpirifós em grãos de café e solo. **Research, Society and Development**, v. 8, n. 5, p. 01-16, 2019.

BRASIL. SENADO FEDERAL. **Senadores divergem sobre PL dos Agrotóxicos**. Senado Notícias. Brasília, 2022. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2022/02/11/senadores-tem-divergencias-sobre-pl-dos-agrotoxicos>. Acesso em 20 de maio de 2022.

BRASIL. 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.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia do Clorpirifós**. Brasília, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4226json-file-1>. Acesso em 07 de junho de 2023.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Reavaliação Clorpirifós**. Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoinformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos-2/MotivosClorpirifos>. Acesso em 06 de junho de 2023.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F. de; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G. da; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 437–445, 2014. DOI: 10.5902/2236117012498. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/12498>. Acesso em: 2 de agosto 2023.

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, p. 1208-1213, 2013.

CORRÊA NETO, R. S.; FARIA, J. A. F. Fatores que influem na qualidade do suco de laranja. **Food Science and Technology**, v. 19, p. 153-161, 1999.

CRUZ, G. C. S, VENÂNCIO, L. F, SILVA, M. F. **Otimização e validação de método analítico para determinação simultânea de citrato e fosfato em soluções anticoagulantes de bolsas de sangue por CLAE**. 2018. Disponível em <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/35683>. Acesso em 13 de junho de 2022.

DA PAIXÃO ALVES, D. et al.. Quantificação de clorpirifós em alfaces comercializadas no município de Seropédica–RJ, através de cromatografia líquida de alta eficiência. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020

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.

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, p. 1283-1287, 2010.

FREITAS, L. V. P. et al.. **Metodologias para determinação e avaliação da estabilidade do 2, 4-D em amostras de água**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros. p. 72. 2020.

FROTA, M. T. B. A.; SIQUEIRA, C. E. Pesticidas: os venenos escondidos em nossa mesa. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, p. 00004321, 2021.

GRAVENA, S. História do controle de pragas na citricultura brasileira. **Citrus Research & Technology**, v. 32, n. 2, p. 85-92, 2017.

GRIGORI, P. Banido recentemente dos EUA. Europa e Argentina, inseticida clorpirifós continua na lista dos mais vendidos no Brasil. Não há data para revisão. 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.

JÚNIOR, Charles Ivo de Oliveira et al.. 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** 13(3): 19-27, (2020).

LI, Y. *et al.*. Efeito do processamento comercial em resíduos de pesticidas em produtos de laranja. *Eur Food Res Technol* **234**, 449-456 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1651-1>

MARCELO, L. R. Kinetics and thermodynamics of sorption of chlorpyrifos insecticide in red-yellow latosol. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica analítica; agroquímica inorgânica e Físico-química; agroquímica orgânica) - Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: <https://locus.ufv.br/handle/123456789/2104> 2011. Acesso em 18 de junho de 2022.

MARTINS, A. F. S. **Implementação e validação de métodos analíticos**. 2014.126f. Dissertação de Mestrado em Química. Departamento de Química FCTUC. Universidade de Coimbra. p. 126. 2014.

MENEZES, Bruno Bernardes de et al.. **Extração do inseticida carbaril em casca e polpa de banana**. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Federal Campus Itumbiara. p.36, 2020.

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*, 18, E202100560, 2021.

PEREIRA, C; NOME, F; FIEDLER; H. D. **Estudo de fotodegradação do pesticida clorpirifós**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química. Florianópolis, SC. 81 p.,2014.

RÉ FILHO, A. O. **Desenvolvimento e validação de um novo método analítico para quantificação de resíduo de eprinomectina no leite bovino**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de São Carlos. P.57. 2016.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G. B.; COLLINS, C. H. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. *Química Nova* 27(5):771-780, 2004

SANTE. European Commission Reference Laboratories (EURL), document SANTE/11312/2021. Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-01/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf. Acesso em: 24 de maio de 2022.

SICUPIRA, L. C. **Metodologias de extração para determinação simultânea de dioxinas e furanos policlorados em amostras de água**. Tese de Doutorado - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina. p.153. 2019.

SILVÉRIO, F. O. et al.. **Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência**. *Química Nova*, Scielo Brasil, 35(10), 2012.

SHENDE, C. et al.. Rapid extraction and detection of trace Chlorpyrifos-methyl in orange juice by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, v. 4, n. 3, p. 101-107, 2010.

SOUZA, A. O. de. **Determinação de dissulfoton em amostras de água empregando cromatografia em fase gasosa e voltametria de onda quadrada**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa. p.91. 2005.

TAVARES, D. C. G., SHINODA, D. T., DA COSTA MOREIRA, S. S., & DA CRUZ FERNANDES, A. Utilização de agrotóxicos no Brasil e sua correlação com intoxicações. *Sistemas & Gestão*, 15(1), 2-10.2020.

TURRA, C., & GHISI, F. Laranja orgânica no Brasil: produção, mercado e tendências. In *XLII Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural*, 2004.

VIEIRA, H. P. **Otimização e validação da extração simultânea de piretróides em água e solo e análise por cromatografia gasosa**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa. p. 76. 2005.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. de. 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, p. 535-540, 2007.

VIEIRA, L. H. S. et al.. **Otimização e validação de método de extração do herbicida florpiauxifen-benzil em amostras de água**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais. p.54. 2022.