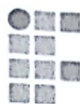


**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
GOIÁS
CÂMPUS ITUMBIARA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

CÍNTHIA SILVA TAVARES

**CLORPIRIFÓS EM CENOURA:
OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS**

**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: Cínthia Silva Tavares.

Matrícula: 20192040030048.

Título do Trabalho: Clorpirifós em cenoura: otimização, validação e análise de amostras reais.

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

Cínthia Silva Tavares.
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

CÍNTIA SILVA TAVARES

**CLORPIRIFÓS EM CENOURA:
OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS**

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

**ITUMBIARA-GO
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

T231c Tavares, Cínthia Silva

Clorpirifós em cenoura: otimização, validação e análise de amostras reais./ Cínthia Silva Tavares. -- Itumbiara, 2023.
35 p. : il. color.

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

Orientadora: Profa. Dra. Simone Machado Goulart

Coorientadores: Me. Adilson Correia Goulart

Dr. João Paulo Victorino Santos

1. Produtos químicos agrícolas. 2. Poluição. 3. Química agrícola. I. Título. II. Goulart, Simone Machado. III. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

CDD 631.8

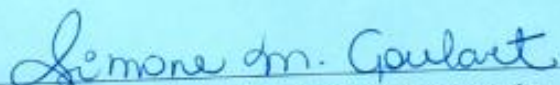
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Biblioteca Maria Gabriela Pacheco Pardey / Câmpus Itumbiara
Bibliotecário: Eduardo Pereira Resende CRB1/3266

CÍNTIA SILVA TAVARES

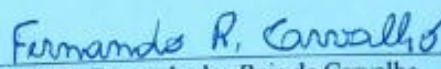
CLORPIRIFÓS EM CENOURA: OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

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 27 de junho de 2023.



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



Prof. Dr. Fernando dos Reis de Carvalho
IFG – Câmpus Itumbiara



Profa. Dra. Blyeny Hatalita Pereira Alves
IFG – Câmpus Itumbiara

ITUMBIARA - GO
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me iluminado até aqui, me dando forças sempre que pensava em desistir.

Ao meu esposo Rafael, meu companheiro de todas as horas, que esteve junto comigo nessa jornada, e aos meus filhos Sophia Rafaelly, Stella Eloisy e Samá Rafael, que mesmo sentindo muito minha ausência, esperaram com paciência a graduação finalizar.

A minha mãe Edna e a minha sogra Iraci que foram uma rede de apoio muito grande, tanto no incentivo quanto na ajuda com as crianças.

A todos os meus colegas de curso que foram sempre muito parceiros.

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

A minha Tia Shirley, que sempre me incentivou a estudar e acreditar no meu potencial.

A todos os professores e colaboradores que fizeram parte dessa trajetória acadêmica, meus agradecimentos por agregarem conhecimentos e experiências que irei levar comigo durante a minha vida.

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 crescimento da produção agrícola, houve a necessidade do aumento do uso de pesticidas para controle de pragas nas lavouras. Nesse cenário, o Brasil ocupa o primeiro lugar no consumo mundial de agrotóxicos desde 2008, sendo um fator preocupante devido aos problemas causados à saúde humana e ao meio ambiente por esse uso exorbitante. A cenoura é uma hortaliça muito consumida pelos brasileiros, seja *in natura* ou processada e segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no último Programa de Análises de Resíduos de Agrotóxicos (PARA), ciclo 2017-2018, foram constatadas detecções irregulares do agrotóxico clorpirifós, sendo esse proibido para o cultivo da cenoura. Nesse sentido, para analisar as cenouras comercializadas na cidade de Itumbiara-GO, realizou-se a otimização e validação do método extração sólido líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT). O método se mostrou eficaz, visto 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. Após otimização e validação, coletou-se cenouras de quatro pontos diferentes, as quais foram submetidas ao método otimizado. Após as análises, constatou-se que as amostras de cenoura nos quatro pontos estavam contaminadas com o agrotóxico clorpirifós, em diferentes concentrações, o que é um fator preocupante devido às consequências do mesmo à saúde humana e ao meio ambiente.

Palavras-chave: Agrotóxicos, Contaminação, ESL-PBT

ABSTRACT

Due to the growth of agricultural production, there was a need to increase the use of pesticides to control pests. In this scenario, Brazil occupies the first place in the world ranking since 2008, being a worrying factor due to the problems caused to human health and the environment by this exorbitant use. Carrot is a vegetable widely consumed by Brazilians, whether fresh or processed, and according to the National Health Surveillance Agency (ANVISA), in the last Pesticide Residue Analysis Program cycle 2017-2018, irregular detections of the pesticide were found chlorpyrifos in carrots, which is prohibited for carrot cultivation. In this sense, to analyze carrots from the city of Itumbiara-Go, the optimization and validation of the liquid solid extraction method with low temperature partition (SLE-LTP) was carried out. The method proved to be effective, since all parameters analyzed, such as selectivity, linearity, precision, accuracy, limit of detection and quantification, were within the limits allowed for validation of analytical methods. After optimization and validation, carrots were collected from four different points and submitted to the optimized method. After the analyses, it was found that the carrot samples at the four points were contaminated with the pesticide chlorpyrifos, at different concentrations, which is a worrying factor due to its consequences for human health and the environment.

Keywords: *Pesticides, Contamination, SLE-LTP*

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Estrutura química do Clorpirifós.....	13
Figura 02 – Extratos de cenoura após resfriadas a -20°C.....	18
Figura 03 – Amostras com os solventes extratores metanol e acetonitrila.....	19
Figura 04 – Porcentagens de recuperação dos ensaios.....	22
Figura 05 – Cromatograma da seletividade do método.....	24
Figura 06 – Curva analítica do clorpirifós.....	25
Figura 07 – Cromatograma do agrotóxico detectado no ponto 4 analisado.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Planejamento fatorial 2^2 para matrizes de cenoura fortificadas.....	19
Tabela 2 - Efeitos dos fatores.....	23
Tabela 3 - Níveis de concentração para determinação da exatidão e precisão.....	26
Tabela 4 - Resultados das amostras reais em mg/kg.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CLAE-UV - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CV- Coeficiente de Variação

DPR – Desvio Padrão Relativo

DPX - Disposable Pippete Tip Extraction

ESL-PBT - Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura

LD – Limite de Detecção

LMR - Limite Máximo de Resíduo

LQ – Limite de Quantificação

PARA - Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico

Si(PGPMS) - Solvente Baseado Na Imobilização Térmica Sobre Sílica

QuEChERS - Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
1.1	Objetivos.....	11
1.2	Justificativa.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Clorpirifós.....	12
2.2	Técnica de extração e análise.....	13
2.3	Planejamento experimental.....	14
2.4	Validação do método ESL-PBT.....	15
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1	Verificação da aplicabilidade do método ESL-PBT em amostras de cenoura.....	17
3.2	Análise por CLAE-UV.....	18
3.3	Otimização e validação.....	18
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
4.1	Otimização do método ESL-PBT em cenoura.....	22
4.1	Validação do método ESL-PBT em cenoura.....	23
5	CONCLUSÕES.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial tem gerado a necessidade do aumento da produção agrícola, sendo preciso o uso de técnicas mais elaboradas, fomentando assim o uso de pesticidas para o controle de pragas que assolam as plantações. O Projeto de Lei (PL) 6.299/2022 repercute entre o Senadores, a lei prevê a alteração do nome “agrotóxicos” para “pesticidas”, com o intuito de suavizar uma situação de iminente problema, uma vez que a flexibilização do uso de agrotóxicos está em pauta (BRASIL, 2022).

O Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking mundial, desde 2008, no uso de agrotóxicos (FROTA; SIQUEIRA, 2021). É preocupante os perigos causados pelo uso excessivo dos agrotóxicos para o meio ambiente e a saúde humana, como: infertilidade dos solos, contaminação dos lençóis freáticos, doenças provenientes da intoxicação ou exposição demasiada a esses compostos. E essas questões têm se tornado cada vez mais frequentes devido ao uso exorbitante, inadequado e ao acúmulo de resíduos dessas substâncias no meio ambiente (ANHOLETE; OSÓRIO; VIEIRA, 2019).

A cenoura, cujo nome científico é *Dacus carota*, pertencente à família Apiaceae, é nativa da Europa e da Ásia, ela é produzida em diversas regiões do mundo e tende a se adaptar a climas amenos, onde a temperatura esteja entre 10 e 15 °C, que é a temperatura ideal para o crescimento saudável das raízes, parte comestível da hortalça (BATISTA, 2015). É uma das hortaliças mais consumidas pelos brasileiros, seja *in natura* ou processada (cortada e/ou congelada). Sua versatilidade no consumo tem atraído os produtores rurais e impulsionado a comercialização no país. As principais regiões de cultivo da cenoura no Brasil se concentram nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Bahia (BRASIL, 2015).

Segundo Guimarães e colaboradores (2012), em dados publicados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), alguns fatores influenciam no ataque de pragas em plantações da cenoura, e estão relacionados com os desequilíbrios causados por fatores abióticos, como longos períodos de secas e altas temperaturas. Ainda de acordo com esses autores, essas pragas podem ser divididas em dois grupos: pragas mastigadoras, como a lagarta-roscas (*Agrotis ipisilon*), e pragas sugadoras, como pulgões-da-cenoura (*Aphis gossypii glover*).

Nas análises realizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com dados publicados no último Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos (PARA) (Ciclo 2017

e 2018) divulgados em 2019, 139 amostras de 353 apresentaram agrotóxicos não autorizados para a cultura da cenoura. O clorpirifós está entre os três agrotóxicos com maiores detecções irregulares. Considerando 13 tipos de alimentos monitorados, e analisadas 4.318 amostras, o clorpirifós foi detectado em 4,6% dessas amostras (BRASIL, 2019).

O agrotóxico clorpirifós (O,O-dietil-O- (3,5,6- tricloro-2-piridinil-) fosforotioato) é pertencente a classe dos organofosforados e apresenta alta eficiência no combate de insetos e pragas inibindo a transmissão dos impulsos nervosos. Ele é muito utilizado em culturas de alimentos e rações agrícolas, plantas industriais e veículos, tratamento de madeiras não-estrutural e controles de pragas de interesse da saúde pública, como mosquitos e formigas de fogo (PEREIRA, 2014).

Este agrotóxico é autorizado pela ANVISA para o cultivo de diversos alimentos, sendo encontrado em grandes concentrações na cultura de alface, abobrinha, uva e tomate (BRASIL, 2019). Para que níveis aceitáveis estejam presentes nos alimentos para consumo, deve-se seguir a modalidade de emprego (aplicação), Limite máximo de resíduo (LMR) e o intervalo de segurança preconizados pela ANVISA.

Segundo Rodrigues e colaboradores (2018), uma técnica analítica muito utilizada para a extração de agrotóxicos de alimentos é a Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ESL-PBT). Esse método já foi utilizado para extração de agrotóxicos em várias matrizes, como abacaxi (NUNES et al, 2019) e alface (COSTA et al, 2015). Em amostras de cenoura, foi validado e aplicado ao monitoramento de resíduos de agrotóxicos em 20 amostras de cenouras produzidas no Alto do Paranaíba, Minas Gerais, Brasil (ARAÚJO et al, 2016). As análises realizadas através desse método são eficientes, tem um número reduzido de etapas e baixo consumo de solventes orgânicos, aproximadamente 4 mL para extração de agrotóxicos (Rodrigues et al, 2018).

É de grande relevância estudar e analisar amostras de cenouras, visto que, segundo dados publicados pela ANVISA no último PARA, foram encontrados agrotóxicos não autorizados para a cultura desta hortaliça. Com base nesses dados, otimizou-se o método ESL-PBT para determinação de clorpirifós em cenoura. O método otimizado foi validado e aplicado em amostras de cenoura comercializadas em Itumbiara-GO.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Otimizar, validar e aplicar o método de Extração Sólido Líquido com Partição à Baixa Temperatura (ESL-PBT) para determinação de clorpirifós em cenoura.

1.1.2 Objetivos específicos

- Verificar a aplicabilidade da técnica ESL-PBT e análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-UV) para extração de clorpirifós em cenoura;
- Otimizar os parâmetros de análise, tais como relação tipo de solvente e tipo de agitação;
- Empregar a quimiometria utilizando o planejamento fatorial 2^2 de experimentos;
- Validar o método otimizado para extração de clorpirifós em cenoura;
- Analisar a presença de clorpirifós em cenouras comercializadas em de Itumbiara-GO e região utilizando a técnica otimizada nesse trabalho.

1.2 Justificativa

Em dados publicados pela ANVISA no último PARA (Ciclo 2017 e 2018) divulgados em 2019, foram analisadas 353 amostras de cenouras, deste total de amostras analisadas 213 foram consideradas satisfatórias, sendo que 33 não apresentaram resíduos dos agrotóxicos pesquisados e 180 amostras apresentaram resíduos em concentrações iguais ou inferiores ao LMR definidos na legislação brasileira. Dentre as amostras analisadas, 139 apresentaram agrotóxicos não autorizados para o cultivo de cenoura. Das substâncias mais detectadas nessa situação está o clorpirifós, agrotóxico encontrado em 24,93% das amostras da hortaliça, ou seja, em 88 amostras do total de 353 amostras de cenouras analisadas (BRASIL, 2019).

Inexistem trabalhos de análise de clorpirifós em cenoura utilizando a ESL-PBT conforme foi otimizada e validada nesse trabalho. Além disso, inexistem análises locais do comércio de Itumbiara para detecção de clorpirifós em cenoura. Portanto, esse trabalho tem uma grande relevância científica e local.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Clorpirifós

A partir de 2008, o Brasil ocupou o lugar de maior mercado consumidor de agrotóxicos no mundo. O uso de agrotóxicos tendo sido parte crucial de um modelo agrícola que busca elevados índices de produção (TAVARES et al, 2020). Ainda de acordo com esse autor, o estado de Goiás é o sexto colocado em comercialização de agrotóxicos no ano de 2020. Essas substâncias usadas de forma incorreta, se torna um risco à saúde, devido à alta toxicidade de alguns produtos, a falta de utilização de equipamentos de proteção e a debilidade dos mecanismos de vigilância são as maiores razões de doenças e intoxicações incitados pelos agrotóxicos (TAVARES et al, 2020).

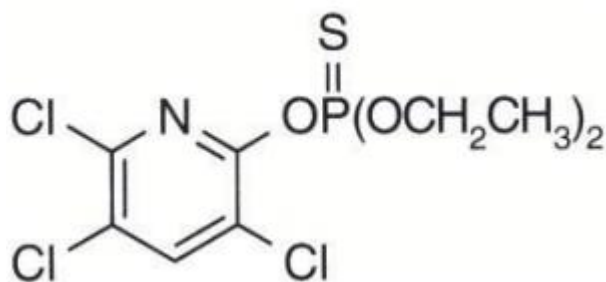
No último PARA Ciclo 2017-2018, disponibilizado pela ANVISA, foram analisadas 353 amostras de cenouras, das quais 33 não apresentaram resíduos dos agrotóxicos pesquisados, 180 apresentaram concentrações iguais ou inferiores ao LMR. Dentre os 153 agrotóxicos pesquisados, apenas 30 foram detectados. Os ativos com maiores detecções foram procimidona (147 amostras), piraclostrobina (143 amostras) e tebuconazol (142 amostras). Os agrotóxicos triflurarina e tetraconazol foram os mais detectados acima do LMR. Dentre as amostras analisadas, 139 apresentaram agrotóxicos não permitidos para a cultura da cenoura, os mais detectados foram clorpirifós, acefato e flutiafol (BRASIL 2019).

O clorpirifós age no sistema nervoso do inseto que é afetado por meio da quebra da acetilcolina (ACh), neurotransmissor do sistema nervoso. O clorpirifós liga-se ao sítio ativo da enzima colinesterase (ChE), quando os insetos são expostos, impedindo a quebra da ACh na fenda sináptica. Provoca-se desse modo superestimulação das células neuronais, devido ao acúmulo resultante de ACh na fenda sináptica, levando á neurotoxicidade e consequentemente a morte (PEREIRA, 2014).

O clorpirifós pertence a classe dos organofosforados, que são capazes de induzir humanos e animais a uma miopatia caracterizada pela degeneração de células musculares, danificando especialmente a musculatura respiratória. Sua estrutura química é apresentada na Figura 1. Alguns impactos notados em mamíferos intoxicados por organofosforados foram, distúrbios neurológicos, necrose de neurônios e atrofia da camada molecular do córtex parietal (MARQUES; PINHEIRO, 2020). O uso exacerbado desse agrotóxico pode acarretar vários impactos ao meio ambiente e a

saúde humana. Complicações como a infertilidade dos solos para o cultivo devido a sua acidificação; a contaminação de lençóis freáticos por conta do fenômeno conhecido como lixiviação; doenças provenientes da intoxicação ou exposição acentuada a esses compostos tem se tornado cada vez mais regulares devido ao uso desmedido, inapropriado e ao acúmulo de resíduos dessas substâncias (ANHOLETI; OSÓRIO; VIEIRA, 2019).

Figura 1- Estrutura química do Clorpirifós



Fonte: BRASIL, 2022

2.2 Técnica de extração e análise

Segundo Anholeti, Osório e Vieira, (2019) uma técnica analítica de extração de agrotóxicos em matrizes sólidas muito eficiente que tem sido empregada com sucesso é Extração Sólido-Líquido com Partição a Baixa Temperatura (ESL-PBT). Nesta técnica, a amostra sólida é colocada em um solvente orgânico (extrator), submetida à agitação e, em seguida, a amostra é levada ao freezer. A baixas temperaturas, o analito desloca para a fase orgânica, enquanto a fase aquosa e a amostra congelam. Com isso, é possível injetar a fase orgânica em um equipamento de análise instrumental, como o cromatógrafo líquido, por exemplo.

Nesse trabalho, a análise instrumental após a extração foi a cromatografia. Ela é uma técnica que contém processos de separação de misturas e identificação de substâncias, isto é, tem por objetivo a identificação, separação e a purificação de misturas. A interação das substâncias na mistura como estas duas fases são influenciadas por diferentes forças intermoleculares, incluindo iônica, bipolar, apolar, efeitos de afinidade e solubilidade. Esta pode ser utilizada para

reconhecimento das substâncias, na comparação com padrões. Classifica-se as diferentes formas de cromatografia da seguinte forma: a classificação pela forma física do sistema cromatográfico (coluna ou planar); classificação pela fase móvel empregada (gás, líquido ou fluido supercrítico); classificação pela fase estacionária utilizada (líquida, sólida ou líquido ligado) e a classificação pelo modo de separação (adsorção, partição, troca iônica, tamanho molecular) (CRUZ; VENÂNCIO; SILVA, 2018; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica versátil, devido ao grande número de fases estacionárias existentes, que possibilitam análises e separações de uma ampla cadeia de compostos com alta eficiência. Tem sido empregada em várias áreas da ciência, no acompanhamento de sínteses, em análises de pesticidas, feromônios, segregação de produtos naturais e sintéticos e na produção e controle de qualidade de medicamentos, entre tantas outras aplicações. As separações em CLAE podem se dar por absorção, partição ou ambos (CRUZ; VENÂNCIO; SILVA, 2018).

2.3 Planejamento experimental

O planejamento de experimentos é utilizado para a realização de uma sequência de coletas de dados experimentais para alcançar determinados objetivos. Há diversos métodos de planejamento experimentais disponíveis na literatura, como: Planejamento Composto Central, Planejamento Box-Behnken e Planejamento Doehlert (NOVAES et al. 2017). Entretanto, o planejamento fatorial é o mais indicado quando o objetivo é estudar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência, que em cada tentativa ou réplica, todas as combinações possíveis do nível de cada variável são analisadas. Torna-se muito vantajoso a utilização do planejamento, visto que há uma redução do número de ensaios, sem prejuízo da qualidade da informação, indicação da confiabilidade dos resultados e seleção das variáveis que induzem um processo com número curto de ensaios (CUNICO et al. 2008).

O trabalho realizado por Goulart e colaboradores (2016) utilizou a ESL-PBT para extração de carbofurano em solo, o experimento foi executado obedecendo o planejamento fatorial 2^2 . A análise foi realizada para estudar o comportamento simultâneo do tempo de agitação e da solução extratora. Foram utilizados 4 níveis e 8 ensaios, onde obteve resultados satisfatórios.

No trabalho realizado por Aguiar Junior (2019) utilizou-se o método Disposable Pippete Tip Extraction (DPX) de extração de resíduos do carbendazim de suco de laranja, empregando o solvente baseado na imobilização térmica sobre sílica Si(PGPMS), que foi validado de acordo com o protocolo de validação de métodos de determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, proposto pela Comunidade Europeia (SANTE, 2021). Esse protocolo é o mais utilizado e reconhecido dentre os utilizados nas referências quanto as metodologias analíticas para determinação de resíduos de agrotóxicos, devido a obtenção de critérios rigorosos e bem precisos para aceitação dos parâmetros analíticos de uma metodologia.

2.4 Validação do método ESL-PBT

Para que haja a validação de um método, há alguns parâmetros que são trabalhados. A linearidade, limite de detecção e quantificação, seletividade, exatidão e precisão, são alguns exemplos.

A linearidade de um método, segundo Martins (2014), está relacionada à capacidade do mesmo em produzir um sinal que seja diretamente proporcional à concentração do analito, dentro de uma determinada gama de trabalho. Nesse sentido, para que haja a construção da curva de calibração, é necessário que haja ao menos cinco pontos, não incluindo o zero da curva, para que de fato não haja erros eventuais associados.

O Limite de Detecção (LD) está relacionado a mais baixa concentração do analito em análise na relação ingrediente ativo, que se refere a matriz que pode ser detectada com certa confiabilidade utilizando determinado procedimento experimental. Já a determinação do Limite de Quantificação (LQ) diz respeito a mais baixa concentração que pode ser identificada e quantificada em determinada matriz com certo limite de confiabilidade, geralmente entre 95% e 99% (IMOTO; FREITAS, 2008).

Brito e colaboradores (2003) afirmam que a seletividade determina a capacidade do método em detectar o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz. Em técnicas como análises cromatográficas, esse parâmetro pode ser estabelecido pela comparação do resultado obtido com a combinação de vários fatores.

A precisão de um método está relacionada com o fornecimento da dispersão dos valores medidos em torno de um valor médio, e seu valor numérico é definido pelo desvio padrão relativo,

ou DPR, se tratando de análises de amostras contendo a mesma quantidade das espécies de interesse. Já a exatidão pode ser estabelecida mediante comparação entre os valores obtidos pelo método proposto com os valores obtidos para as mesmas amostras com outro método validado ou por ensaios de recuperação. Ao final, estabelece-se, desse modo, o nível de confiança de acordo com o intervalo de concentração (BRITO et al. 2003).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

De início, foi empregada a metodologia de extração do clorpirifós na cenoura utilizando o método de ESL-PBT, seguido de análise por CLAE-UV, conforme metodologia proposta por Cardoso e colaboradores (2021). Essa técnica foi otimizada e validada para análise de carbaril em banana.

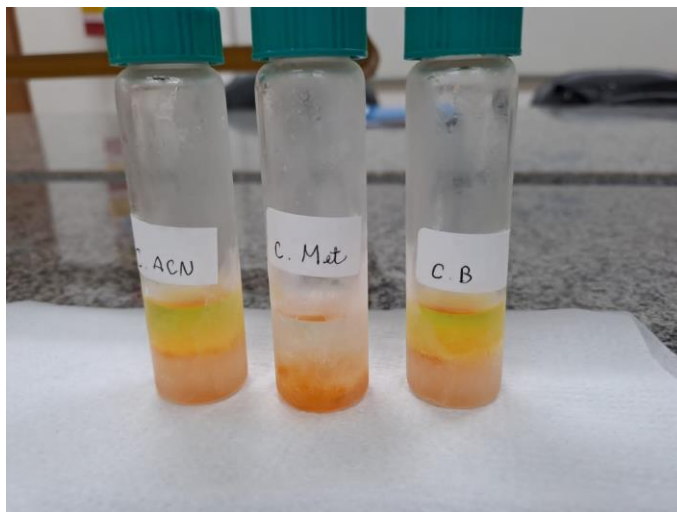
Para a verificação da aplicabilidade do método, foram obtidas cenouras cultivadas sem aplicação de nenhum tipo de agrotóxico.

3.1 Verificação da aplicabilidade do método ESL-PBT em amostras de cenoura

Após liquidificar a casca e a polpa da cenoura livre de agrotóxicos, pesou-se 1 g do material obtido e colocou-se em frascos de vidro transparentes (22 mL). Posteriormente, as amostras foram fortificadas com 200 μ L de solução-padrão contendo o agrotóxico clorpirifós, para que nos extratos finais fosse obtida uma concentração de 5,0 mg. L⁻¹ do agrotóxico, e, em seguida, foram homogeneizadas. Após fortificação, as matrizes, em triplicata, foram submetidas à extração ESL-PBT. Também, fez-se um “branco” da cenoura, ou seja, uma duplicata sem adição do padrão de clorpirifós, para verificar a seletividade da ESL-PBT em comparação com as amostras fortificadas.

A extração pelo método ESL-PBT se deu da seguinte forma nas amostras fortificadas e no branco da matriz: foram adicionados 2 mL de água purificada, 4 mL de acetonitrila, e homogeneização por 60 segundos em vórtex. Após essa etapa, os extratos foram resfriados a -20°C por 3 horas em freezer para partição à baixa temperatura, como mostrado na Figura 2, e após retirou-se 1 mL de fase orgânica para análise cromatográfica.

Figura 2 - Extratos de cenoura após resfriadas a -20°C .



C. ACN: cenoura com solvente acetonitrila;

C. MET: cenoura com solvente metanol; C.B cenoura branco

Fonte: Autoria própria

3.2 Análise por CLAE-UV

Foi utilizado um cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20AT com detector UV/VIS Shimadzu SPD. As condições cromatográficas foram: coluna cromatográfica C18 (Modelo Coluna KINETEX® 5 μ EVO C18 100A 150 x 4,6 mm); fase móvel: água purificada: acetonitrila 65:35 (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

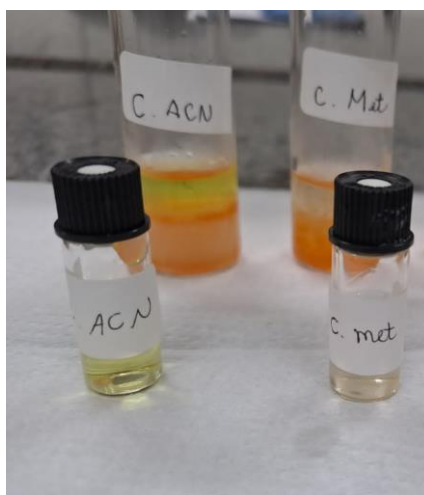
Após verificada a aplicabilidade da técnica ESL-PBT para extração de clorpirifós em cenoura através da análise dos cromatogramas e porcentagens de extração obtidos pela metodologia de Cardoso e colaboradores (2021), essa técnica foi otimizada para análise de cenoura. Dois fatores foram analisados: tipo de solvente extrator (acetonitrila ou metanol), e tipo de agitação (vórtex e banho ultrassônico). 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. As análises foram feitas em triplicata. Na Figura 3 pode-se observar as amostras com os dois tipos de solvente extrator.

Tabela 1 - Planejamento fatorial 2² para matrizes de cenoura 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.G= Tipo de Agitação; S.E= Solução extratora; ACN= Acetonitrila; MET= Metanol V= vórtex US= Ultrassom

Fonte: Os autores (2022).

Figura 3 - Amostras com os solventes extratores metanol e acetonitrila.

Fonte: Autoria própria.

Na validação foi utilizado o protocolo europeu para validação de métodos para análise de agrotóxicos em alimentos (SANTE, 2021), conforme apresentado nos tópicos seguintes.

3.3.1 Seletividade

Para a verificação da seletividade do método, injetou-se no cromatógrafo um branco da cenoura, e a matriz fortificada com o agrotóxico clorpirifós, submetidos ao ensaio otimizado do planejamento fatorial. Em sequência analisou-se e comparou-se os tempos de retenção de ambos para a comprovação da seletividade.

3.3.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada a partir da construção de uma curva analítica preparada na matriz. Injetou-se amostras de cenouras fortificadas com o padrão clorpirifós em concentrações de 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7 mg. L⁻¹, e submeteu-se ao método de extração também utilizando o ensaio otimizado. Em sequência, construiu-se uma curva analítica no programa Excell®, para verificar a linearidade do método.

3.3.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados baseando-se nos parâmetros das curvas analíticas obtidas pela fortificação das amostras. 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 do método de ESL-PBT, os valores de LQ foram divididos por 3.

3.3.4 Exatidão

Avaliou-se a exatidão a partir da fortificação/recuperação em sextuplicata. A matriz foi fortificada em três níveis de concentração, em triplicata (nível baixo - 0,15 mg. L⁻¹; nível médio - 0,45 mg. L⁻¹; nível alto - 1,5 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

Para determinar a precisão do método, avaliou-se o desvio padrão relativo (DPR), de matrizes fortificadas em três níveis de concentração em sextuplicata, (nível baixo - 0,15 mg. L⁻¹; nível médio - 0,45 mg. L⁻¹; nível alto - 1,5 mg. L⁻¹). Em sequência, analisou-se o $RSD \leq 20\%$, que é o valor considerado como nível de aceitabilidade.

3.3.6 Detecção de clorpirifós em amostras de cenouras comercializadas em Itumbiara - GO

Após otimização e validação do método de extração de clorpirifós, analisou-se a presença de clorpirifós em cenouras no comércio de Itumbiara-GO. Foram analisadas cenouras coletadas em quatro pontos diferentes, sendo três supermercados e uma feira livre.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

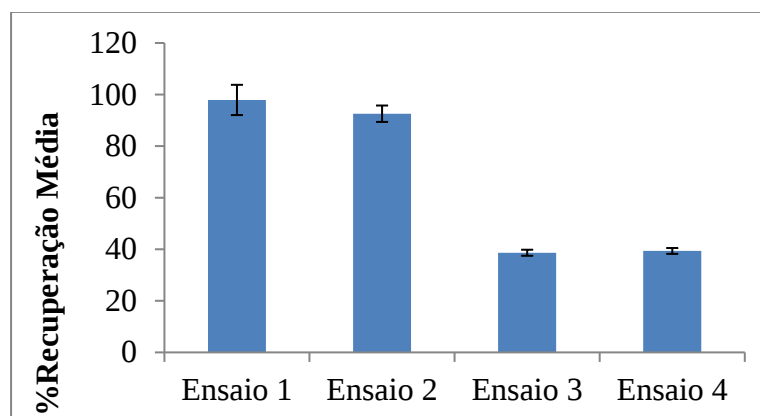
4.1 Otimização do método ESL-PBT em cenoura

Para a execução das análises foram realizados 4 ensaios e 3 replicatas, avaliando o tipo de solvente extrator (acetonitrila ou metanol) e tipo de agitação (vórtex ou banho ultrassônico), por meio do planejamento fatorial 2^2 .

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 apenas o fator 2 foi significativo, ou seja, a mudança de solvente orgânico de acetonitrila para metanol proporcionou uma redução de 56,24% na recuperação do clorpirifós na matriz cenoura. Em relação ao tipo de agitação, houve uma diminuição de 2,325 % na recuperação do clorpirifós quando se utilizou o banho ultrassônico, porém não foi significativo.

Portanto, escolheu-se o banho ultrassônico pelo fato de ser mais rápido na agitação das amostras, podendo agitar várias ao mesmo tempo ao passo que o vórtex agita apenas uma por vez.

Figura 4 - Porcentagens de recuperação de clorpirifós dos ensaios.



Fonte: Autoria própria

Após avaliar os efeitos dos fatores decidiu-se utilizar o ensaio 2, banho ultrassônico e o solvente acetonitrila, que obteve 92,56% de recuperação. Contudo, o ensaio 1, Vórtex e o solvente acetonitrila, apresentou uma maior porcentagem de recuperação como mostrado na Figura 4, porém não é estatisticamente significativo.

Tabela 2: Efeitos dos fatores

Efeitos		Erros	P
Média	67,11	± 0,991	3E-12
Tipo agitação	-2,325	± 1,982	0,2746
Tipo de solvente	-56,24	± 1,982	3E-09
1x2	3,02	± 1,982	0,1661

Fonte: Autoria própria.

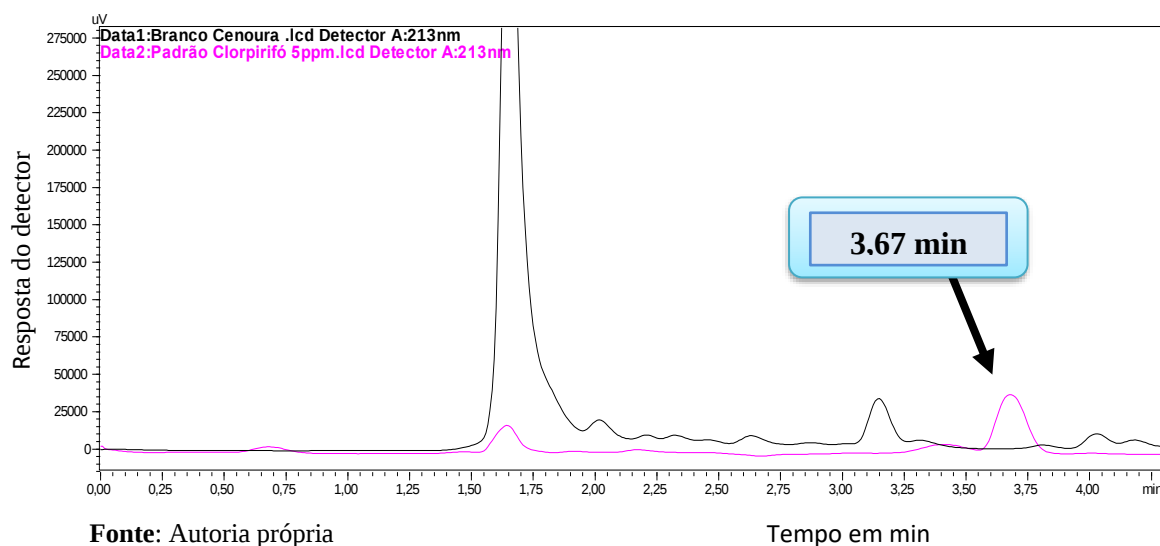
Nunes e colaboradores (2019), também comprovaram a eficiência do método ESL-PBT na determinação do carbaril em abacaxi, no qual obteve uma porcentagem de recuperação que ficou dentro da faixa de aceitação de 70 a 120%, conforme estabelecido pelo guia SANTE (2021).

4.2 Validação do método ESL-PBT em cenoura

4.2.1 Seletividade

A cenoura pode conter alguns componentes que pode interferir nas análises, como carboidratos, fibras alimentares, proteínas (SILVA, et al 2016) , e a seletividade é usada para estudar a interferência no método e as influências nos resultados (RIBANI; BOTTOLI; COLLINS, 2004). Quando não há ocorrência de sinais cromatográficos atribuídos no mesmo tempo de retenção do agrotóxico o método é considerado seletivo. Verifica-se (Figura 5), que não há interferentes do branco da cenoura no mesmo tempo de retenção do clorpirifós (3,67 min), o que comprova a seletividade da ESL-PBT para determinação de clorpirifós em cenouras.

Figura 5 - Cromatograma da seletividade do método.



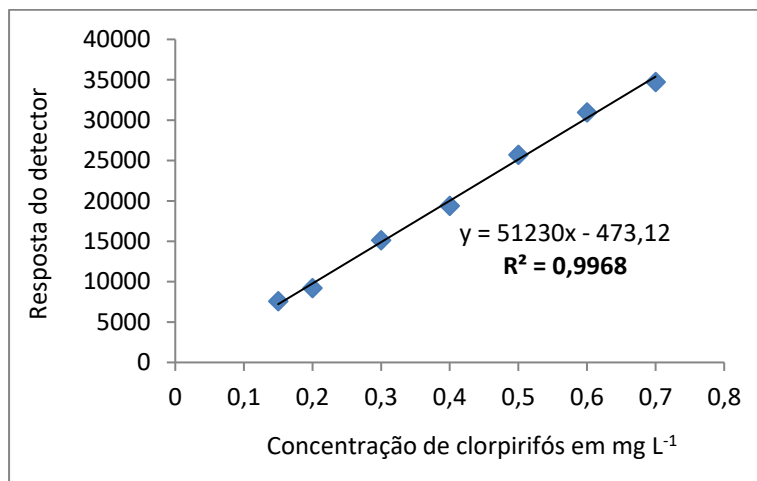
Fonte: Autoria própria

Tempo em min

Lara (2014), avaliou esse parâmetro na análise de três agrotóxicos, sendo eles, Procimidona, Haloxyfop-Metil e Linuron. A autora comparou cromatogramas de extrato de cenoura isenta de agrotóxicos, com extratos da matriz fortificada com 10 ppm dos agrotóxicos monitorados. Após comparação dos cromatogramas, não foi observado nenhum interferente como resposta nos tempos de retenção à ESL-PBT dos analitos de interesse para nenhum dos agrotóxicos.

4.2.2 Linearidade

A linearidade de um método se dá com a análise de padrões do agrotóxico injetadas em diferentes concentrações em triplicata, sendo fortificadas em solvente com o agrotóxico, ou o branco da matriz da amostra fortificado e submetido ao método conforme realizado nesse trabalho. A Figura 6 abaixo apresenta o gráfico da curva analítica do clorpirifós.

Figura 6 - Curva analítica do clorpirifós

Fonte: Autoria própria

Para determinar se o coeficiente de correlação (r) e a linearidade é considerada aceitável, o r obtido deve ser maior que 0,90 (SANTE; 2021). Desse modo, como observado na Figura 6, esse método é linear, visto que o r obteve um valor de 0,9983, sendo a raiz quadrada de R^2 .

Pinho (2007), realizou a verificação do parâmetro em questão utilizando a ESL-PBT na matriz tomate, utilizando quatro tipos de agrotóxicos diferentes, sendo eles, λ -Cialontrina, Clorpirifós, Cipermetrina e Deltametrina. Ao utilizar o teste t de “Student”, após cálculos realizados, concluiu-se que os coeficientes obtidos foram significativos para os quatro agrotóxicos, apontando os valores 0,9545; 0,9460; 0,9368; 0,9857 respectivamente, expondo, desse modo, a linearidade do método.

4.2.3 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) são importantes pois permitem que sejam estabelecidos limites analíticos possíveis de alcançar com o método. O limite de detecção corresponde a menor quantidade de analito que pode ser detectada em uma amostra. Já o limite de quantificação está relacionado a menor concentração do analito possível de ser quantificada em uma determinada amostra. (MARTINS, 2016). Abaixo observa-se os valores dos LD e LQ estabelecidos na matriz fortificada, no qual 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.

Mansur (2013), analisou nas matrizes maçã e tomate diferentes agrotóxicos. Para a maçã, analisou-se os agrotóxicos Clorpirifós, Deltametrina e Tiametoxam. E para o tomate, os agrotóxicos Clorpirifós, λ -cialotrina, Cipermetrina e Deltametrina. Nessa pesquisa, utilizou-se duas técnicas, sendo elas QuEChERS e ESL-PBT, contudo a ESL-PBT apresentou menores valores de LD e LQ, para todos os compostos nas duas matrizes, sendo, portanto, mais eficiente.

4.2.4 Exatidão

A exatidão foi avaliada através da fortificação/recuperação. A matriz foi fortificada em três níveis de concentração, em sextuplicatas (nível baixo 0,15 mg L⁻¹; nível médio 0,45 mg L⁻¹; nível alto 1,5 mg L⁻¹). Observando a Tabela 3, podemos concluir que o método é exato, pois as porcentagens médias de recuperação das seis replicatas ficaram entre 70 e 120%, apresentando apenas um valor acima do limite máximo.

Tabela 3 - Níveis de concentração para determinação da exatidão e precisão.

Nível Baixo 0,15		Nível Médio 0,45		Nível Alto 1,5	
% média de Recuperação	DPR	% média de Recuperação	DPR	% média de Recuperação	DPR
97,00		116,51		96,02	
78,89		95,48		100,64	
86,30	17,7	114,63	10,29	101,40	3,58
125,36		96,80		99,18	
96,44		96,75		105,93	
112,98		96,35		96,83	
Média geral		102,75		100	
99,45					

Fonte: Autoria própria

Alguns dos motivos que podem ter causado esse valor é o fato de estar em uma concentração muito baixa e a matriz apresentar uma estrutura muito complexa, pois contém carboidratos ; fibras alimentares; proteínas; lipídios; minerais (cálcio, magnésio, potássio, sódio, fósforo, manganês, ferro, cobre e zinco); vitamina C; e carotenoides, com destaque para o β -caroteno (pró-vitamina A) (SILVA, et al 2016). Nesse contexto, as porcentagens de recuperação obtidas nos três níveis ensaiados mostraram-se superiores a 90%. deste modo há uma boa exatidão do método proposto.

4.2.5 Precisão

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

No trabalho realizado por Lara (2014), analisou-se os seguintes agrotóxicos, haloxyfop-metil, Linuron, Procimidona na matriz cenoura, por meio do método ESL-PBT, de modo que as amostras foram fortificadas em seis replicatas nas concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5 mg kg⁻¹. Os resultados foram expressos pelo coeficiente de variação (CV). A precisão ficou dentro do intervalo do CV $\leq 20\%$.

4.2.6 Aplicação do método ESL-PBT em cenouras

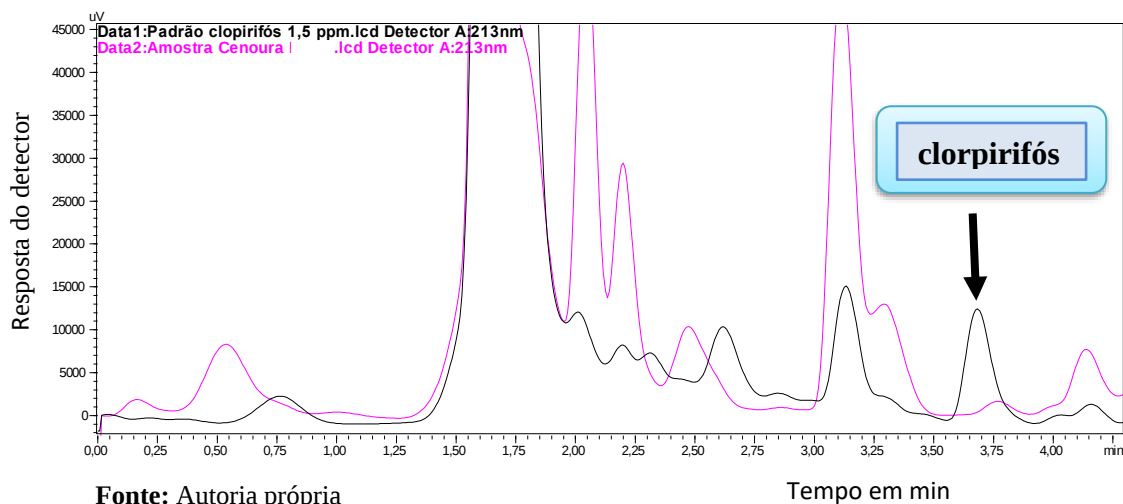
Foram analisadas cenouras de 4 pontos diferentes sendo 3 supermercados e 1 feira, foi escolhido pontos distantes para que abrangesse, de uma certa forma, a cidade inteira, na qual foi detectada a presença de clorpirifós em diferentes concentrações. A partir da curva analítica, através da equação disponibilizada na curva da linearidade do método, $y = 51230x - 473,12$ e também considerando a porcentagem de recuperação do clorpirifós no ensaio 2, solvente extrator acetonitrila e tipo de agitação banho ultrassônico, (92,56%), foi possível quantificar a concentração em miligramas do agrotóxico clorpirifós por kg de cenoura, como mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados das amostras reais em mg/kg.

Ponto	Resposta do detector	mg de clorpirifós por kg de cenoura
1	24.558	1,96 mg
2	9.841	0,8 mg
3	35.054	2,76 mg
4	11.618	0,96 mg

Fonte: Autoria própria

No cromatograma da Figura 7, observa-se que o clorpirifós em cenoura apareceu no tempo de retenção de 3,67 minutos. Esse cromatograma é do ponto 4 e todos os pontos tiveram cromatogramas semelhantes, mostrando a presença do clorpirifós nas amostras de cenoura comercializadas em supermercados e feira de Itumbiara-GO.

Figura 7 - Cromatograma do agrotóxico detectado no ponto 4 analisado.

Em dados publicados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foi exposto que agrotóxico clorpirifós não é permitido para o cultivo da cenoura (BRASIL, 2019). Porém, esse agrotóxico é permitido para outras culturas como o tomate, podendo chegar ao limite máximo de resíduo de $0,5 \text{ mg/kg}^{-1}$ (SANTOS, 2021) e para a maçã 1 mg/kg^{-1} (PUSSENTE, 2008).

No trabalho realizado por Da Paixão Alves (2020), 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 mg/kg). Nas outras duas amostras o agrotóxico foi detectado nas concentrações de 55 mg/kg e 34 mg/kg. Contudo, a ANVISA determina que não tenha traços do clorpirifós em alface, mas caso ocorra aplicação do defensivo, possua traços máximos de 0,01mg/kg.

Considerando a alface, percebe-se que os valores encontrados em cenoura dos pontos 1,2 e 3 estão baixos, e o ponto 4 bem alto. Nesse contexto, mesmo tendo sido baixo na maioria dos pontos, é preocupante, pois é um agrotóxico que não é permitido para a cultura, ou seja, não pode ser aplicado em nenhuma concentração, mesmo pequena. No período de 2017-2018, esse ingrediente ativo foi detectado em 5,3% das amostras, com irregularidade verificada em 4,6% delas, subindo para o segundo lugar em relação ao índice de detecções irregulares. Nesse cenário, o agrotóxico foi colocado em reavaliação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (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 cenoura, utilizando a técnica de ESL-PBT e análise por CLAE-UV, mostrou-se eficiente e prático. Desse modo, com poucas etapas, baixos volumes de solvente e amostra, foi possível identificar e quantificar o princípio ativo estudado.

Nesse sentido, pode-se obter resultados excelentes quanto aos parâmetros analisados, de modo que se comprovou a linearidade do método na obtenção de 0,9968 no valor do r . Fica evidenciado que não houve interferentes do branco da cenoura no mesmo tempo de retenção do clorpirifós mostrando a seletividade do método. Os valores obtidos dos LD e LQ estabelecidos na matriz fortificada foram de, limite máximo de detecção do agrotóxico na matriz $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$, e o limite de quantificação do agrotóxico na matriz $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$. Garantiu a comprovação da exatidão, apresentando porcentagem de recuperação acima de 90% e inferiores a 120 % e a precisão ficando dentro do intervalo do $\text{RSD} \leq 20 \%$.

As análises realizadas nas amostras reais, coletadas no município de Itumbiara-GO, apresentaram resíduos de clorpirifós em todos os quatro pontos de comercialização.

Em suma, trabalhos como este são muito importantes, pois contribuem significativamente com a ciência, além de trazerem muitas possibilidades de trabalhos futuros, como a análise do efeito de matriz do clorpirifós em cenoura e outros agrotóxicos nessa cultura.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR JÚNIOR, C. A. S. **Determinação de carbendazim em suco de laranja, empregando extração na ponteira descartável de micropipeta com sorvente preparado em laboratório.** Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, p.69. 2019.
- 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.
- ARAÚJO, E. A.; LARA, M. C. R.; REIS, M. R.; VIRIATO, R. L. S.; ROCHA, R. A. R.; GONÇALVES, R. G. L.; HELENO, F. F.; QUEIROZ, M. E. L. R.; TRONTO, J.; PINTO, F. G. Determination of Haloxyfop-Methyl, Linuron, and Procymidone Pesticides in Carrot Using SLE-LTP Extraction and GC-MS. **Food analytical methods**, v.9, n. 5, p. 1344-1352, 2016.
- BATISTA, J. L. da S. **Determinação multiclasse de resíduos de agrotóxicos em cenoura empregando QuEChERS e GC-MS.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande (RS). Santo Antônio da Patrula-RS, p. 112. 2015.
- 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. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acesso em 18 de abril de 2022.
- 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/view>. Acesso em 08 de maio de 2022.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Reavaliação Clorpirifós.** Brasília, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos-2/MotivosClorpirifos>. Acesso em 21 de maio de 2023.
- BRASIL. SNA. Sociedade Nacional de Agricultura. **Produção de cenoura contribui para a lucratividade dos agricultores.** Brasília, 2015. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/producao-de-cenoura-contribui-para-a-lucratividade-dos-agricultores/>. Acesso em 25 de abril de 2022.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 2003.

CARDOSO, A. T.; GOULART, A. C.; SANTOS, J. P. C.; OLIVEIRA, M. A. C.; GOULART, S. M. Extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura para determinação de carbaril em banana prata (*Musa sapientum* L.) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Química Industrial**. 1º semestre de 2021. p.45-43, 2021.

COSTA, A. I. G.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; SOUSA, F. A.; ZAMBOLIM, L. Determination of pesticides in lettuce using solid-liquid extraction with low temperature partitioning. **Food Chemistry**, v. 181, p. 64-71, 2015.

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**. Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, p.95. 2018.

CUNICO, M. W. M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P; VOLPATO, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, [S.l.], v. 9, n. 1, jun. 2008.

DA PAIXÃO ALVES, D.; MARIANO JUNIOR, D. R.; SILVA, G. O.; ALMEIDA, V. G. K. Quantificação de clorpirifós em alfaves comercializadas no município de Seropédica-RJ, através de cromatografia líquida de alta eficiência. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química nova na escola**, v. 7, n. 1, 1998.

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

GOULART, A. C.; GOULART, S. M; WENDLING, B; MEDEIROS, M.S.; Determinação de carbofurano em solo utilizando a extração sólido líquido e partição a baixa temperatura. In: XIII CONGRESSO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE DE POÇOS DE CALDAS. 2016, Poços de Caldas.

GUIMARÃES, J. A.; FILHO M. M.; MOURA A. P.; CARVALHO A.D.F. **Reconhecimento e manejo das principais pragas da cenoura**. Embrapa, Comunicado Técnico. Brasília, DF. n. 82. 6 p. ISSN: 1414.9850, 2012.

IMOTO, M. N.; FREITAS, R. J. S. D. Determinação dos limites de detecção (ld) e quantificação (lq) em análise de resíduos de pesticidas organohalogenados por cromatografia em fase gasosa. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, [S.l.], v. 18, dez. 2008.

LARA, M. C. R. **Determinação dos agrotóxicos procimidona, haloxyfop-metil e linuron em cenoura por ESL-PBT e CG-MS. Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Viçosa, Campus de Rio Paranaíba. Rio Paranaíba-MG, p.55. 2014.

MANSUR, B. L. **Estudo comparativo de métodos de extração multirresíduo de agrotóxicos em maçã e tomate. Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, p.82. 2013.

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

MARQUES, M. B. L.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.. Ocorrência de clorpirifós em ambientes aquáticos e seus efeitos ecotoxicológicos em bioindicadores. **Revista Nacional de Gerenciamento de Cidades**, v. 8, n. 65, 2020.

NOVAES, C. G. et al. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de resposta-Parte I: variáveis de processo. **Revista Virtual Química**, v. 9, n. 3, p. 1284-1215, 2017.

NUNES, R. C. N; GOULART, S. M.; DOS SANTOS, A. L. R.; RODRIGUES, R. P.; CARDOSO, A. T.; GOULART, A. C.; SANTOS, J. P. V. Avaliação da ESL-PBT na determinação de carbaril em amostras de abacaxi pérola (Ananás comosus) comercializadas no município de Itumbiara. **Tecno-Lógica**, v. 23, n. 2, p. 100-107, 5 jul. 2019.

PEREIRA, C. **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.

PINHO, G. P. **Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas: extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa.** Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, p.98. 2007.

PUSSENTE, I. C. **Extração sólido-líquido e partição em baixa temperatura (ESLPBT) de Clorpirifós, Thiamethoxam e Deltametrina em maçã e análise por cromatografia gasosa.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, p.73. 2008.

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

RODRIGUES, R. P.; FARIAS, W. R.; GOULART, S. M.; GOULART, A. C.; SANTOS, J. P. V.; QUEIROZ, M. E. L. R. Otimização da extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para determinação de carbofurano em Cucurbita pepo l (“abobrinha”) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 41, n. 2, p. 213-218, 2018.

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.

SANTOS, A. M. da S. **Estudos de diferentes híbridos de tomates de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) por espectrometria de massas com ionização por paper spray (PSI-EM): determinação do perfil químico e quantificação de agrotóxico**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, p.72. 2021.

SILVA, A. C. B.; SCHUQUEL, L. C.S.; SILVA, C. O.; PASCOAL, G. B. Qualidade nutricional e físico-química em cenoura (*Daucus carota* L.) in natura e minimamente processada. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, p. 355-367, 2016.

TAVARES, D. C. G.; SHINODA, D. T.; MOREIRA, S. S. da C.; FERNANDES, A. da C. Utilização de agrotóxicos no Brasil e sua correlação com intoxicações . **Sistemas & Gestão**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 2–10, 2020. DOI: 10.20985/1980-5160.2020.v15n1.1532. Disponível em: <https://www.revistasg.uff.br/sg/article/view/1532>. Acesso em: 15 maio. 2022.