

Técnicas de preparo de amostra empregadas na determinação de agrotóxicos carbamatos em água e solo

Elisa Helena da Costa Moraes, Fernanda Ribeiro Begnini, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim*

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, CP 6154,

Cep 13083-970, Campinas, SP, Brasil

e-mail: icsfj@iqm.unicamp.br

Resumo

Atualmente, dentre os diferentes tipos de agrotóxico aplicados na agricultura, os carbamatos têm se destacado em virtude de sua elevada eficiência, facilidade de síntese e baixo custo. No entanto, o uso desregrado desses agrotóxicos, não seguindo as Boas Práticas Agrícolas (BPA), tem levado à contaminação do meio ambiente, destacando-se o acúmulo desses compostos nas águas superficiais (rios e lagos), subterrâneas e no solo. Além disso, muitos desses agrotóxicos são tóxicos para os seres vivos, principalmente por inibirem a ação de enzimas biológicas, como as colinesterases. Nesse contexto, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos no solo e nas águas tornou-se imprescindível para a redução do impacto ambiental e aumento da segurança da saúde humana e animal, sendo realizado através da confirmação e quantificação desses resíduos, empregando-se diferentes técnicas analíticas. As técnicas de preparo de amostra mais empregadas e modernas para determinação analítica de resíduos de agrotóxicos carbamatos serão abordadas neste artigo.

Palavras-chave

Preparo de amostra; carbamatos; água; solo.

Sample preparation techniques for determination of carbamate pesticides in water and soil

Abstract

Currently, among the several kinds of pesticides employed in agriculture, carbamates have been widely used because of their high efficiency, ease of synthesis and low cost. However, the unjudicious use of these pesticides, not following Good Agricultural Practices, can have adverse effects on the environment, especially the accumulation of these compounds in surface waters (rivers and lakes), groundwater and soil. Furthermore, many of these pesticides are toxic to humans and animals, mainly due to their inhibition of enzymes, like cholinesterases. In this context, the monitoring of pesticide residues in soils and waters has become essential to reduce the environmental impact and improve the safety of human and animal health, being performed through the confirmation and quantification of these residues, employing different analytical techniques. The most frequently used techniques and modern sample preparation for analytical determination of carbamate pesticide residues will be discussed in this paper.

Keywords

Sample preparation; carbamates; water; soil.

1 Introdução

Define-se agrotóxicos como produtos de processos químicos ou biológicos, naturais ou sintéticos, destinados ao uso nos setores de produção; no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas; nas pastagens; e na proteção de florestas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, que possuem a finalidade de alterar a composição da flora ou fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos nocivos, de acordo com a Lei Federal Nº 7802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto Nº 98816^[1].

A aplicação de agrotóxicos em diversas culturas é inevitável, pois acarreta diminuição significativa de perdas na produção e melhora na qualidade dos produtos, devido ao controle de doenças, pragas e ervas daninhas. De acordo com pesquisas realizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola (SINDAG), o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, sendo que em 2009 gerou uma receita de US\$ 7 bilhões para essa indústria, utilizando 700 mil toneladas desses compostos, e que, em 2011, a venda de agrotóxicos foi recorde, aumentando 10% em relação às vendas em 2010^[2].

No entanto, se por um lado a utilização de agrotóxicos em larga escala é benéfica ao desenvolvimento da agricultura, por outro o uso indiscriminado, irregular e pouco criterioso de agrotóxicos, não seguindo as Boas Práticas Agrícolas, geralmente provoca a contaminação dos alimentos, devido à alta concentração dos agrotóxicos, afetando a saúde humana e animal^[3]. Além disso, a aplicação de agrotóxicos na agricultura é uma das principais causas da contaminação ambiental, especialmente o solo e as águas superficiais e subterrâneas. Essas contaminações ocorrem

especialmente pela ação das águas de irrigação ou da chuva, que provocam lixiviação, drenagem ou escoamento desses compostos presentes nas plantações e no solo^[4]. De acordo com Alves Filho^[4], não mais que 10% dos agrotóxicos aplicados às culturas por pulverização aérea ou terrestre atingem o organismo alvo, sendo sua maior parte lixiviada para o meio ambiente, contaminando-o e interferindo nos processos básicos do ecossistema, como a respiração do solo, a ciclagem de nutrientes e o ciclo da água.

Vários agrotóxicos, pertencentes a diferentes grupos químicos, são aplicados nas diversas culturas. Atualmente, os agrotóxicos do grupo químico dos carbamatos são mundialmente utilizados na agricultura, em virtude de seu baixo custo, de serem altamente eficientes no combate aos insetos, fungos e ervas daninhas e de possuírem menor potencial de bioacumulação, comparados aos organoclorados e organofosforados, apesar de serem altamente tóxicos para o meio ambiente e seres vivos, principalmente por inibirem a ação de enzimas biológicas, como as colinesterases^[5-7].

Embora os carbamatos e outros agrotóxicos sintéticos tenham sido introduzidos no mercado mundial na década de 40^[4], somente em anos mais recentes o conhecimento científico e as novas tecnologias da área laboratorial permitiram a avaliação do impacto desses compostos no meio ambiente, como a influência nos processos básicos do ecossistema e na saúde humana e dos animais. O monitoramento dos resíduos de agrotóxicos no solo e nas águas tem se tornado imprescindível para a redução do impacto ambiental, podendo ser realizado através da identificação e quantificação desses resíduos empregando-se diferentes técnicas e métodos analíticos. Com o objetivo de controlar a segurança do consumidor e do meio ambiente, órgãos nacionais e internacionais estabeleceram

o limite máximo de resíduo (LMR) correspondente à quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afim oficialmente aceita^[8] em matrizes como alimento e água, em decorrência da aplicação adequada, expressa em partes do agrotóxico, afim ou seus resíduos, por milhão de partes da matriz, que, conseqüentemente, torna-se um indicador da qualidade da produção agrícola e do meio ambiente.

No Brasil, a portaria n. 2.914 do Ministério da Saúde, de 12 de dezembro de 2011^[9], estabelece procedimentos para o controle da qualidade da água que garanta um padrão de potabilidade como, por exemplo, ações para a redução da quantidade de poluentes no meio ambiente e limites máximos de resíduos para substâncias químicas que representam risco à saúde, como os agrotóxicos, estabelecendo limites na faixa de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para esses compostos. A Comunidade Européia não restringe quais tipos de agrotóxicos são permitidos em água potável e subterrânea, mas estipula o LMR de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ para qualquer agrotóxico e de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o total de agrotóxicos^[10,11].

Em relação ao monitoramento da qualidade do solo e das águas subterrâneas, a legislação brasileira é omissa. Muitos estudos ainda devem ser realizados, principalmente no que diz respeito ao solo, uma vez que cada tipo de agrotóxico interage diferentemente com essa matriz, dependendo das suas propriedades físico-químicas, das condições climáticas da região e do tipo de solo. Além disso, os agrotóxicos estão susceptíveis a uma variedade de transformações, podendo ocasionar a formação de produtos de degradação muitas vezes mais tóxicos que os de origem e difíceis de serem analisados em virtude de suas particularidades e da indisponibilidade de padrões analíticos desses compostos^[12].

A determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais é difícil de ser realizada, já que esses, na maioria das vezes, pertencem a diferentes grupos químicos e encontram-se em concentrações menores que os compostos interferentes^[12,13]. Portanto, para análise satisfatória dos compostos de interesse é necessário realizar uma etapa fundamental, o preparo de amostra^[14], que inclui o isolamento e a concentração desses compostos, porém gera grande quantidade de resíduos. Diante disto, seguindo as diretrizes da Química Verde, iniciou-se o desenvolvimento de técnicas miniaturizadas de preparo de amostra^[15], uma vez que, além de exigirem consumo mínimo de solvente orgânico, diminuindo, portanto, o custo, são rápidas, precisas, exatas e possíveis de serem automatizadas.

No entanto, às vezes, somente a utilização da técnica de preparo de amostra não é suficiente para a concentração do analito e limpeza da amostra, requerendo, portanto, técnicas analíticas sensíveis, seletivas, além de rápidas, de baixo custo e impacto para o ambiente e que garantam a detecção de analitos em baixos níveis de concentração.

2 Agrotóxicos carbamatos

Os agrotóxicos orgânicos sintéticos começaram a ser utilizados em grande escala na década de 1940, durante a Segunda Guerra Mundial, destacando-se os organoclorados, como o DDT (1,1,1-tricloro-2,2-di(p-clorofenil) etano), o aldrin, o dieldrin, o heptacloro e o toxafeno^[16]. No entanto, o uso desses agrotóxicos tornou-se restrito no Brasil desde 1985^[17], devido à sua alta estabilidade no meio ambiente, ocasionando a contaminação das águas, solos e sedimentos; ao acúmulo desses agrotóxicos no meio ambiente, uma vez que se degradam lentamente; e à sua

elevada solubilidade em meio apolar, gerando a acumulação desses compostos nos tecidos adiposos dos organismos vivos^[5].

Nesse contexto, os carbamatos foram rapidamente difundidos e utilizados mundialmente em substituição aos organoclorados, por serem compostos de baixo custo, ampla faixa de aplicação, combatendo insetos e ervas daninhas de diferentes espécies, e por serem menos persistentes no meio ambiente, degradando-se facilmente^[5]. No entanto, seu uso desregrado e em grandes quantidades tem trazido efeitos adversos, contaminando o meio ambiente e afetando a saúde humana e animal.

Os carbamatos, compostos que possuem o grupo funcional -NHCOO- (Figura 1), são agrotóxicos altamente tóxicos para os seres vivos e difundem-se rapidamente no meio ambiente, uma vez que são solúveis em água. Além disso, são compostos polares e termicamente instáveis.

Em virtude de sua grande utilização na agricultura, embora menos persistentes no ambiente, esses agrotóxicos se acumulam no meio ambiente, principalmente nas águas superficiais (rios e lagos), subterrâneas e nos solos. Além disso, os carbamatos possuem efeito tóxico

agudo para os seres humanos e outros mamíferos, pois inibem a enzima acetilcolinesterase, além de serem agentes potencialmente carcinogênicos e mutagênicos. Esses agrotóxicos interagem com os centros ativos (grupos hidroxila) da enzima acetilcolinesterase, provocando a sua inativação e, consequente descontrole na transmissão de impulsos nervosos nos seres vivos, gerando uma série de efeitos, como convulsões e paradas respiratórias, devido o acúmulo do neurotransmissor acetilcolina^[18]. Essa ação de inibição causada por esses agrotóxicos explica a sua alta eficiência no controle de pragas, principalmente para extinção de insetos indesejados em diversas culturas^[19].

Nesse contexto, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de metodologias para a análise desses compostos nas matrizes ambientais água e solo.

A Tabela 1 apresenta os principais agrotóxicos do grupo químico dos carbamatos e algumas de suas propriedades toxicológicas e físico-químicas, de acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) e a ANVISA.

3 Técnicas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos carbamatos em água e solo

Basicamente, os métodos utilizados para a determinação de agrotóxicos envolvem as seguintes etapas: homogeneização da amostra, extração, *clean-up* (limpeza para remoção dos interferentes), concentração dos analitos e determinação analítica, a partir de análise instrumental.

A etapa de preparo de amostra, que envolve as quatro primeiras etapas acima, é de suma importância no desenvolvimento de uma metodologia analítica, pois além de permitir a extra-

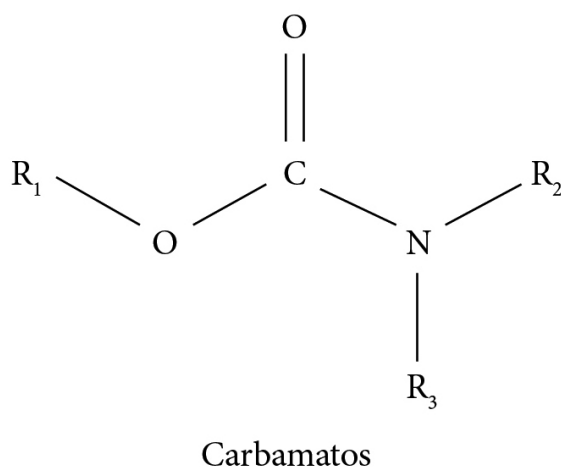


Figura 1 Representação esquemática da estrutura dos agrotóxicos carbamatos.

Tabela 1 Propriedades de alguns agrotóxicos carbamatos, de acordo com a IUPAC e a ANVISA.

Carbamatos	Fórmula química	Classe agrônômica	Classificação toxicológica ^a	S _{H2O} (mg L ⁻¹) ^b	log P ^c	pKa (25 °C) ^d
Aldicarbe	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	Inseticida/Acaricida/Nematicida	I	4.930	1,15	ND
Carbaril	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	Inseticida/Regulador de crescimento	II	9,1	2,36	10,4 (af)
Carbetamida	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₃	Herbicida	-	3.270	1,78	11,3 (af)
Carbofurano	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	Inseticida/Nematicida/Acaricida	I	322	1,8	ND
Cloroprofam	C ₁₀ H ₁₂ ClNO ₂	Herbicida/Regulador de crescimento	-	110	3,76	ND
Metiocarbe	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	Inseticida	II	27	3,18	ND
Metomil	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	Inseticida/Acaricida	I	55.000	0,09	ND
Pirimicarbe	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	Inseticida	II	3.100	1,7	4,4 (bf)
Profam	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	Herbicida/Regulador de crescimento	-	250	2,6	-
Propoxur	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	Inseticida/Acaricida	II	1.800	0,14	-

^aClassificação toxicológica de acordo com a ANVISA: I – extremamente tóxico, II – altamente tóxico e III – medianamente tóxico; ^bsolubilidade em água a 20 °C; ^clog P: logaritmo do coeficiente de partição octanol-água a pH 7 e 20 °C; ^dND: não dissocia; af: ácido fraco; bf: base fraca

ção dos analitos por um solvente orgânico, possibilita a remoção de interferentes da matriz, os quais podem afetar a concentração, a identificação e a quantificação dos analitos, uma vez que esses podem estar presente em baixas concentrações na matriz^[20].

A extração líquido-líquido (Liquid-Liquid Extraction – LLE), baseada na partição da amostra entre duas fases imiscíveis, e a extração sólido-líquido (Liquid-Solid Extraction – LSE) são técnicas tradicionais empregadas na extração de agrotóxicos em amostras líquidas e sólidas, respectivamente, como água e solo^[21]. Porém, são técnicas laboriosas, requerem grande quantidade de solventes orgânicos tóxicos, acarretam a extração de muitos interferentes da matriz e, consequentemente, se torna necessário realizarem-se etapas adicionais de *clean-up* e concentração dos analitos^[12,22], desfavorecendo seu emprego. A LSE por Soxhlet, desenvolvida em 1879^[23], é atualmente pouco utilizada para solos, pois além

das desvantagens citadas acima, por utilizar altas temperaturas pode ocasionar a degradação de agrotóxicos termicamente lábeis^[12]. Devido a essas limitações e às exigências cada vez maiores dos órgãos nacionais e internacionais, novas técnicas foram desenvolvidas e introduzidas, com o intuito de reduzir significativamente o consumo de solvente orgânico, o custo, o tempo no preparo de amostra e extração de interferentes, garantir o *clean-up* e a concentração dos analitos e melhorar a eficiência de sua extração^[24]. As técnicas mais utilizadas e relevantes para determinação de resíduos de agrotóxicos em água e solo são descritas a seguir.

3.1 Extração assistida por micro-ondas e por ultrassom

Várias técnicas têm sido aplicadas para extração de agrotóxicos do solo e cada uma apresenta suas vantagens e limitações.

A LSE pode ser auxiliada com solvente, sob agitação e/ou aquecimento, para melhorar a eficiência de extração dos analitos, utilizando-se um micro-ondas ou um ultrassom, sendo conhecida como extração assistida por micro-ondas (Microwave-Assisted Extraction – MAE) ou extração por ultrassom (Ultrasonic Extraction – USE), respectivamente^[22]. Ambas as técnicas foram desenvolvidas como alternativas à extração Soxhlet, sendo mais rápidas e requerendo menores quantidades de solvente.

A MAE pode ser realizada com o uso de um micro-ondas industrial ou caseiro, sendo muito empregada para determinação de resíduos de organofosforados em solo^[25], mas principalmente para análise de carbamatos e agrotóxicos da classe herbicida^[21]. De forma semelhante à técnica MAE, a USE utiliza solventes orgânicos ou misturas desses com água, com pH modificado ou não, visando melhorar a eficiência de extração. Além disso, apresenta a vantagem de poder ser realizada à temperatura ambiente, o que permite a determinação de compostos termolábeis^[22].

A Tabela 2 mostra as principais vantagens e desvantagens das técnicas MAE e USE.

Apesar das desvantagens, como necessidade de realização de etapas de *clean-up* do extrato e/ou concentração dos analitos, o ultrassom é muito utilizado para extração de agrotóxicos do solo pela boa eficiência de extração e, principalmente, pela disponibilidade dos materiais necessários e pelo equipamento utilizado ser simples e de baixo custo.

3.2 Extração em fase sólida

A extração em fase sólida (Solid-Phase Extraction – SPE), extração líquido-sólido, foi introduzida em meados de 1970^[26] e baseia-se nos mecanismos de separação da cromatografia líquida clássica (baixa pressão). é uma das técnicas de preparo de amostra mais utilizadas para determinação de agrotóxicos em matrizes ambientais, especialmente água^[24], devido ao baixo consumo de solvente, se comparada à LLE e LSE, ao tempo reduzido para obtenção dos extratos, à facilidade de automatização e *clean-up* das amostras e, principalmente, por garantir a concentração dos analitos.

Basicamente, as etapas da técnica resumem-se na ativação e condicionamento do sorvente contido em um cartucho ou em um disco

Tabela 2 Vantagens e desvantagens das técnicas MAE e USE para amostras sólidas.

Técnica de extração	Vantagens	Desvantagens
MAE	• Rapidez • Baixo consumo de solvente • Extração de várias amostras simultaneamente • Aumento de seletividade	• Possibilidade de degradação de alguns compostos • São necessárias etapas adicionais de <i>clean-up</i> e concentração dos analitos • Baixa eficiência de extração para compostos apolares
USE	• Rapidez • Baixo consumo de solvente • Extração de várias amostras simultaneamente • Aumento de seletividade • Equipamento simples • Baixo custo	• Possibilidade de degradação de alguns compostos (se a extração utilizar altas temperaturas) • São necessárias etapas adicionais de <i>clean-up</i> e concentração do extrato

impregnado com esse material^[27], percolação da amostra/sorção dos analitos no sorvente, lavagem do sorvente para remoção dos interferentes (*clean-up*), eluição dos analitos, utilizando-se solventes orgânicos adequados, e posterior concentração dos compostos de interesse, quando necessário, para submetê-los a análise instrumental^[26,28]. Os extratos obtidos, na maioria das vezes, são analisados por cromatografia líquida (Liquid Chromatography – LC) ou por cromatografia gasosa (Gas Chromatography – GC)^[29], acopladas a um detector apropriado.

É uma técnica muito versátil devido à grande disponibilidade de sorventes, como octil (C8), octadecil (C18), sílica gel, carvão ativado ou grafitizado, polímeros, como o copolímero de estireno entrecruzado com divinilbenzeno, entre outros, sendo que a escolha da fase sólida depende das características dos analitos e dos interferentes da matriz^[26]. Em análises ambientais, particularmente no isolamento e pré-concentração de agrotóxicos presentes em águas, os sorventes hidrofóbicos não seletivos, como C18 e estireno divinilbenzeno, são os mais empregados^[24]. Além disso, diferentes sorventes podem ser utilizados em conjunto para a extração de uma mesma amostra, aumentando-se a eficiência da extração.

Apesar das várias vantagens, a técnica de extração em fase sólida apresenta algumas limitações, como: cartuchos de custo elevado e descartáveis, em virtude da ocorrência do efeito de memória (dessorção incompleta dos analitos do cartucho, interferindo em outras análises), requer consumo significativo de solventes, embora em menor quantidade que as técnicas clássicas; apresenta dificuldade de seleção do(s) sorvente(s) e do(s) solvente(s) que serão utilizados, principalmente quando se trabalha com analitos de diferentes propriedades; e dificuldades no emprego em matrizes sólidas, como

solo, já que essas provocam a saturação dos sítios adsorventes ou bloqueiam os poros do sorvente, resultando em extrações ineficientes^[30].

Dependendo da complexidade da matriz e das características e concentrações dos compostos de interesse, os sorventes convencionais de SPE podem ser inadequados, devido à sua baixa seletividade, o que pode acarretar retenção e posterior eluição simultânea das substâncias interferentes e de interesse de polaridades similares. No entanto, essa dificuldade pode ser contornada através do uso de polímeros de impressão molecular (Molecularly Imprinted Polymers – MIP), também chamados de materiais biomiméticos^[31], como sorventes seletivos para SPE.

A impressão molecular é uma tecnologia capaz de produzir polímeros dotados de sítios específicos de reconhecimento, preparados a partir de uma molécula molde, por exemplo, o agrotóxico de interesse. Para a síntese dos MIP, o analito utilizado como molde, denominado *template*, é adicionado a uma solução contendo monômeros apropriados. Por meio de ligações covalentes, iônicas, ou interações intermoleculares, as moléculas molde interagem estrategicamente em posições específicas e complementares com as moléculas do monômero funcional. Em seguida, pela adição de um agente reacional, que promove ligações cruzadas entre as moléculas do monômero e de um indicador radicalar, responsável por gerar radicais reativos, inicia-se a reação de polimerização em torno do *template*. Após o término dessa reação, o *template* é removido, por meio de solvente ou clivagem química, da matriz polimérica, e essa é usada como um meio seletivo de ligação para a molécula molde ou compostos estruturalmente semelhantes^[31-34].

O emprego do MIP como material sorvente em SPE, técnica conhecida como extração em fase sólida molecularmente impressa (Molecularly

Imprinted Solid-Phase Extraction – MISPE), vem se destacando, pois oferece alto grau de seletividade.

Os procedimentos realizados com MISPE não diferem dos da técnica de SPE, no entanto a espécie de interesse fica retida seletivamente quando se utiliza o MIP como sorvente. Uma etapa de *clean-up*, com solvente apropriado, é realizada com a finalidade de extrair os componentes interferentes ligados ao MIP por interações não específicas, formadas devido ao excesso de monômeros no meio reacional de produção do polímero. Na etapa final, pela adição de um solvente adequado no cartucho, o analito é eluído na ausência dos interferentes. Portanto, a técnica MISPE garante, além de *clean-up* das amostras, devido à alta seletividade, a concentração do composto de interesse^[34-36].

No entanto, a técnica MISPE apresenta algumas limitações, uma vez que, durante a síntese do MIP, algumas moléculas molde podem não ser removidas e, conseqüentemente, há formação de polímeros irregulares, com baixa afinidade com os analitos. Além disso, após a interação dos compostos de interesse com a superfície do MIP, a remoção rápida e quantitativa desses pode ser ineficiente, uma vez que os analitos possuem elevada afinidade com esse tipo de sorvente^[37].

4 Técnicas miniaturizadas de preparo de amostra para determinação de resíduos de agrotóxicos carbamatos em água e solo

Na década de 1990 surgiu um novo conceito denominado Green Chemistry, Química Verde, cujos princípios básicos são extinguir ou minimizar a utilização ou geração de substâncias prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente^[38]. A partir disso, iniciaram-se várias

pesquisas com o objetivo de desenvolver novas técnicas analíticas ambientalmente corretas^[15]. Dentre as técnicas miniaturizadas de preparo de amostra para determinação de agrotóxicos carbamatos, destacam-se a microextração em fase sólida (Solid-Phase Microextraction – SPME) e a microextração em fase líquida (Liquid-Phase Microextraction – LPME).

4.1 Microextração em fase sólida

A microextração em fase sólida, SPME, desenvolvida no início da década de 1990 por Arthur e Pawliszyn^[39], é uma técnica que supera as desvantagens e limitações, do ponto de vista analítico e ambiental, apresentadas pelas técnicas LLE, LSE e SPE. Além disso, é uma técnica que permite extrair e concentrar simultaneamente os analitos de amostras, incluindo as complexas, como as de solo^[40,41].

A técnica baseia-se na sorção dos analitos em uma fibra de sílica fundida quimicamente modificada, revestida por um filme de material sorvente, como poli(dimetilsiloxano), poliacrilato, MIP, entre outros, e na dessorção deles em uma fase líquida, para análise por cromatografia líquida ou na dessorção térmica no injetor de um cromatógrafo a gás, sendo essa última mais comum e ambientalmente correta, já que elimina completamente o uso de solventes orgânicos^[29,42].

Existem dois modos principais de operação em SPME: a extração direta e a extração via *headspace* (HS-SPME). Na extração direta, a fibra é exposta e inserida diretamente na amostra líquida ou gasosa, e, após certo tempo, necessário para que se estabeleça um equilíbrio entre as fases envolvidas, a fibra é reposicionada para o interior da agulha, para posterior dessorção. Na extração via *headspace*, a fibra é exposta sobre a amostra líquida ou sólida, aquecida e sob agitação, não havendo interação entre elas, fato que prolonga a vida útil da fibra. Após estabelecido

o equilíbrio entre a fase vapor, contendo os analitos voláteis, e a amostra, a fibra é recolhida^[15]. Portanto, esse último modo de operação da SPME só é aplicado para determinação de analitos de volatilidade média e alta e termicamente estáveis, o que origina uma limitação de uso^[26]. A quantidade de analito adsorvido na fibra, após atingido o equilíbrio de sorção, está linearmente relacionada à concentração inicial do soluto na amostra, permitindo a análise quantitativa.

É importante destacar que se pode trabalhar fora das condições de equilíbrio, principalmente nos casos em que o tempo de extração é muito longo. No entanto, as condições de extração devem ser bem controladas para garantir a precisão e a exatidão da técnica.

Quando os analitos são retirados da fibra usando-se um solvente orgânico, como a acetoneitrila, a dessorção pode acontecer por dois modos, dinâmico ou estático^[42]. No primeiro, os analitos estão fracamente adsorvidos na fibra e a dessorção ocorre pela passagem da fase móvel. No modo estático, utilizado quando os compostos estão fortemente adsorvidos, a fibra é mergulhada na fase móvel ou em outro solvente por um determinado período de tempo^[26].

Alguns parâmetros experimentais devem ser otimizados e controlados na SPME, como: material sorvente, temperatura e tempo de extração, velocidade de agitação, pH, força iônica do meio, tempo de dessorção e volume de amostra^[26,43].

A microextração em fase sólida apresenta algumas limitações, como: obtenção de baixas porcentagens de recuperação, não reprodutibilidade do revestimento da fibra em diferentes lotes, instabilidade da fibra devido à exposição a solventes orgânicos e/ou a temperaturas elevadas (acima de 280 °C), fragilidade e custo elevado da fibra e possibilidade de ocorrência do efeito de memória.

4.2 Microextração em fase líquida

A microextração em fase líquida, LPME, é uma miniaturização da LLE e engloba diferentes técnicas de extração que utilizam pouca quantidade de solventes, sendo a microextração em fase líquida com fibras ocas (Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction – HF-LPME), também denominada de membrana líquida suportada em fibra oca (Hollow Fiber Supported Liquid Membrane – HFSLM), e a microextração líquido-líquido dispersiva (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction – DLLME)^[44] as técnicas mais empregadas para a determinação de agrotóxicos carbamatos em amostras ambientais.

4.2.1 Microextração em fase líquida com fibras ocas

A técnica microextração em fase líquida com fibras ocas foi inicialmente desenvolvida por Pedersen-Bjergaard e Rasmussen em 1999^[45]. Fundamentalmente, os poros de uma membrana capilar porosa e hidrofóbica (fibra oca) são impregnados com um solvente orgânico de extração e o seu interior é preenchido com microlitros de uma fase aceptora aquosa ou orgânica. Essa fibra é imersa na matriz aquosa contendo os compostos de interesse, denominada fase doadora, sem que haja contato direto entre a fase aceptora e a amostra, sendo também possível aplicar agitação constante durante o processo de extração^[46,47].

Essa técnica é controlada por equilíbrios de partição, podendo ser empregada em dois modos diferentes, dependendo da natureza da fase aceptora e das características dos analitos a serem extraídos. Para compostos de caráter hidrofóbico, a técnica HF-LPME em duas fases é utilizada, sendo a fase aceptora composta pelo mesmo solvente orgânico imobilizado nos poros da membrana. Para analitos com funções ácidas ou básicas, a configuração em três fases é a

mais utilizada, sendo a fase aceptora uma solução aquosa com pH controlado. Nessa última configuração, os analitos devem estar em sua forma não ionizada na solução doadora, a fim de interagirem com a membrana orgânica e atingirem a fase aceptora, que por sua vez ionizará os analitos, impedindo-os de retornarem à solução doadora.

A HF-LPME promove a concentração dos analitos e o *clean-up* das amostras, fazendo com que macromoléculas não atinjam o interior das fibras, além de ser possível de ser automatizada. Para o desenvolvimento de um método empregando a HF-LPME, diferentes parâmetros são importantes, como o ajuste do pH da amostra e da solução aceptora, o tempo e a temperatura de extração, a composição da solução aceptora, a agitação do sistema e a seleção do tipo de solvente orgânico, que deve ser pouco solúvel em água e de baixa volatilidade.

A HF-LPME também é empregada em duas configurações principais, sem que haja necessidade de nenhuma instrumentação específica: a configuração em U, que utiliza duas microseringas conectadas à fibra (mais empregada), e a configuração tipo haste, que utiliza somente uma microseringa para injetar e coletar a fase aceptora^[48].

As principais vantagens dessa técnica são: baixo custo de cada unidade de extração, o que possibilita o seu uso uma única vez, evitando problemas de contaminação; obtenção de altas porcentagens de recuperação; utilização de pouca quantidade de solventes orgânicos; rapidez; e elevada flexibilidade, que permite a criação de diferentes unidades extratoras.

No entanto, a HF-LPME também apresenta algumas limitações, como a dificuldade de se analisar compostos altamente polares e hidrofílicos, sendo necessário adicionar agentes carreadores na amostra, a fim de aumentar a permeabi-

lidade dos analitos na membrana hidrofóbica, e a redução da precisão do método, ocasionada pela operação manual do procedimento de preparo das unidades extratoras.

4.2.2 Microextração líquido-líquido dispersiva

A microextração líquido-líquido dispersiva, DLLME, foi desenvolvida em 2006 por Rezaee et al.^[49], primeiramente para ser empregada na determinação de compostos orgânicos em água, por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama. A DLLME consiste nos mesmos princípios da extração líquido-líquido, baseada nos coeficientes de partição do analito no solvente extrator e na solução da amostra, porém em escala miniaturizada, com a utilização de pequeno volume de solventes.

A técnica fundamenta-se na injeção rápida, em um recipiente contendo a amostra aquosa e os compostos de interesse, de uma mistura de solvente extrator (geralmente de maior densidade e pouco miscível em água) e solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator), sendo esse último responsável pela dispersão do primeiro e, conseqüentemente, pelo grande contato com a solução contendo os analitos. Após agitação branda forma-se uma mistura turva com microgotas, constituídas pelo solvente extrator e compostos de interesse. Posteriormente, a solução é centrifugada, ocorrendo a deposição das microgotas, que são removidas e submetidas à análise por técnica instrumental apropriada^[49,50].

O processo de extração por DLLME é influenciado por alguns parâmetros, entre os quais volume e tipo dos solventes extrator e dispersor, tempo de extração, tempo e velocidade de centrifugação, força iônica (que influencia na separação das fases) e pH da amostra, que devem ser otimizados para maximizar a recuperação dos compostos de interesse.

Na extração de agrotóxicos em água por DLLME, os solventes extratores mais utilizados são os clorados, pois são imiscíveis em água e de maior densidade. No entanto, a elevada toxicidade desses solventes levou à introdução de líquidos iônicos como solventes alternativos, originando-se a IL-DLLME (Ionic Liquid Dispersive Liquid-Liquid Microextraction)^[51]. Liu et al.^[52] utilizaram a DLLME para determinação de inseticidas em água, sendo que o solvente orgânico extrator foi substituído pelo líquido iônico hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio. Para a escolha do solvente dispersor, a principal característica a ser considerada é a sua miscibilidade na fase orgânica (solvente extrator) e na fase aquosa, sendo mais comum o uso de metanol e acetonitrila.

As vantagens da DLLME em relação às técnicas convencionais de extração com solventes são: fácil manipulação, devido à simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, principalmente pelo consumo reduzido de solventes orgânicos, obtenção de altas recuperações, compatibilidade com as análises cromatográficas, entre outras. No entanto, a técnica apresenta dificuldade de automatização, devido à necessidade de etapas para separação de fases, e não isola os analitos dos coextrativos solúveis no solvente extrator, o que pode ocasionar erros na quantificação e afetar a exatidão e precisão dos resultados devido ao efeito matriz^[53,54].

5 Aplicações de métodos para determinação de resíduos de agrotóxicos carbamatos em água e solo

Nos últimos anos, vários estudos e determinações de resíduos de agrotóxicos carbamatos em amostras de interesse ambiental (água e

solo) empregando diferentes técnicas de preparo de amostra têm sido relatadas na literatura, conforme descrito na Tabela 3.

Como se pode observar na Tabela 3, as microextrações em fase líquida, como a microextração líquido-líquido dispersiva e a microextração em fase líquida com fibras ocas, têm se destacado para a análise de água, uma vez que fornecem resultados exatos e precisos, atingem baixos limites de detecção e quantificação, fornecem elevadas porcentagens de recuperação, consomem pequeno volume de solventes e permitem a eliminação de interferentes e a concentração dos analitos. Em relação à análise de carbamatos em solos, a extração por ultrassom, com o auxílio de solventes, tem se destacado, uma vez que é eficiente e rápida, permitindo alcançar elevadas porcentagens de recuperação e baixos limites de detecção e quantificação.

6 Conclusões

O uso intenso de agrotóxicos na agricultura tem causado grandes impactos em virtude da mobilidade desses compostos no meio ambiente, contaminando o solo, as águas subterrâneas, os rios e lagos. Em virtude disso, torna-se indispensável o desenvolvimento constante de metodologias para monitoramento de agrotóxicos nessas matrizes.

Através dessa revisão foi possível abordar as principais técnicas desenvolvidas para a determinação de resíduos de agrotóxicos carbamatos em amostras de água e solo, destacando-se a utilização de técnicas modernas e eficientes de preparo de amostra.

A técnica tradicional de extração em fase sólida é comumente utilizada para determinação de agrotóxicos em água e solo, pois atende às exigências de uma análise a nível de traços, devido à concentração e ao *clean-up* das amostras. Dentre

Tabela 3 Levantamento bibliográfico das técnicas de preparo de amostras empregadas na determinação de carbamatos em água e solo.

Número de carbamatos	Amostra	Técnica de preparo de amostra	Fator de concentração	Técnica de análise ^a	Limite de detecção	Limite de quantificação	Exatidão Recup. ^b (%)	Precisão DPR ^c (%)	Ref. ^d
7	Água	1) SPME 2) SPE-SPME 3) SPE	2) 31,2 3) 500	GC-MS	1) 0,6-19 µg L ⁻¹ 2) 0,05-0,46 µg L ⁻¹ 3) 0,020-0,038 µg L ⁻¹	-	2) 64-85	1) 10-17 2) 10-21 3) 15	55
5	Água	HF-LPME	37-144	GC-MS	0,2-0,8 µg L ⁻¹	-	83,04-127,93	4,86-7,81	56
1	Água	DLLME	70,7	LC-DAD	1,0 ng mL ⁻¹	-	> 90	2,6	57
3	Água	DLLME	148-189	LC-UV	0,1-0,9 µg L ⁻¹	-	74,2-94,4	1,8-4,6	58
4	Água	DLLME	101-145	LC-DAD	0,4-1,0 ng mL ⁻¹	1,3-3,3 ng mL ⁻¹	76-94	4,7-6,5	59
5	Água	DLLME	80-177	LC-DAD	0,1-0,5 ng mL ⁻¹	-	86,0-97,2	3,5-8,7	60
1	Água	-	-	Biossensor	1.10 ⁻¹² g L ⁻¹	-	99,8	2,7	61
3	Água	DLLME	-	LC-UV	0,1-0,5 µg L ⁻¹	-	63,45-105,30	2,18-5,06	62
3	Água	IL-DLLME	-	LC-DAD	0,45-1,40 µg L ⁻¹	-	82,6-108,7	1,0-1,8	63
6	Água	IL-DLLME	10-25	LC-UV	2-40 µg L ⁻¹	-	87-116	0,6-10,2	64
4	Água	LPME automatizada	57-138	GC-MS	0,05-0,1 µg L ⁻¹	-	81-125	1,0-6,0	65
5	Água	SPME	-	GC-MS/MS	0,04-1,5 ng L ⁻¹	0,64-2,0 ng L ⁻¹	70,8-125	1,0-9,0	66
4	Água	1) HFSLM 2) SPE	1) 1-8 2) 10	LC-MS	-	-	1) 8-58 2) 8-98	1) 0,02-1,46	67
5	Água	LLE	-	GC-MS	2-9 ng L ⁻¹	7-28 ng L ⁻¹	79,2-117,3	2,61-15,0	68
1	Água	-	-	Biossensor	5,32.10 ⁻⁸ g L ⁻¹	-	-	2,3-3,9	69
1	Água	-	-	Biossensor	10 µg L ⁻¹	-	-	2,3-3,4	70
6	Solo	USE	-	LC-FLD	1,6-3,7 µg kg ⁻¹	10 µg kg ⁻¹	82-99	0,4-10	71
6	Solo	USE e SPE	-	LC-UV	0,01-0,4 ng g ⁻¹	0,03-1,20 ng g ⁻¹	93-110	5-11	72
10	Solo	Extração com solvente	-	LC-FLD	0,21-1,12 ng g ⁻¹	0,84-4,47 ng g ⁻¹	0-121,1	0,1-38	73

^aGC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry): cromatografia gasosa-espectrometria de massas; LC-DAD (Liquid Chromatography-Diode Array Detector): cromatografia líquida-detector por arranjo de diodos; UV: detector por ultravioleta; FLD (Fluorescence Detector): detector por fluorescência; ^bRecup.: porcentagem de recuperação; ^cDPR: desvio-padrão relativo; ^dRef.: referência.

as tendências observadas na literatura, destacam-se os polímeros de impressão molecular (MIP), novos materiais utilizados como sorvente na SPE, que proporcionam aumento da seletividade.

A microextração em fase sólida, apesar de ser uma técnica ambientalmente segura, utiliza fibras que, dependendo do material, são relativamente caras, além dos parâmetros de extração e dessorção terem de ser rigorosamente otimizados para garantir a precisão dos resultados, já que na maioria dos casos trabalha-se fora das condições de equilíbrio. Além disso, é uma técnica por meio da qual são obtidas baixas recuperações.

Do ponto de vista econômico e ambiental, a microextração líquido-líquido dispersiva, miniaturização da extração líquido-líquido, apresenta várias vantagens em relação às técnicas convencionais de extração por solvente, como simplicidade de operação, rapidez, baixo custo devido ao baixo consumo de solvente orgânico, alta recuperação, fator de concentração elevado e compatibilidade com as técnicas cromatográficas.

Agradecimentos

À FAPESP (Projeto Temático 2006/57897-9 e Projeto de Pesquisa 2011/23127-0) e ao CNPq, pelo apoio financeiro.

Referências

- 1 Brasil. Lei n. 7802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo decreto n. 98816. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 12 jul. 1989. Seção 1, p. 11459.
- 2 Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. *Dados de Mercado*. [cited 2013 Aug 15]. Available from: http://www.sindag.com.br/dados_mercado.php.
- 3 Ahmed A, Randhawa MA, Yusuf MJ, Khalid N. Effect of Processing on Pesticide Residues in Food Crops – A Review. *Journal of Agricultural Research* 2011; 49(3):379-390.
- 4 Alves JP Fº. *Uso de Agrotóxicos no Brasil: Controle Social e Interesses Corporativos*. São Paulo: Annablume; 2002.
- 5 Tankiewicz M, Fenik J, Biziuk M. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2010; 29(9):1050-1063. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2010.05.008>
- 6 Santaladchaiyakit Y, Srijaranal S, Burakham R. Methodological aspects of sample preparation for the determination of carbamate residues: A review. *Journal of Separation Science* 2012; 35(18):2373-2389. PMID:22997028. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.201200431>
- 7 Kamanyire R, Karalliedde L. Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occupational Medicine* 2004; 54(2):69-75. <http://dx.doi.org/10.1093/occmed/kqh018>
- 8 Brasil. Resolução - RDC n. 4, de 18 de janeiro de 2012. Dispõe sobre os critérios para a realização de estudos de resíduos de agrotóxicos para fins de registro de agrotóxicos no Brasil. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 23 jan. 2012. Seção 1, p. 40.
- 9 Brasil. Portaria n. 2914 do Ministério da Saúde, de 12 de dezembro de 2011. Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de Potabilidade. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 4 jan. 2012. Seção 1, p. 43.
- 10 European Union - EU. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities*, 5 Dec 1998. L 330, p. 32.
- 11 European Union - EU. Directive 2006/118/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on the protection of groundwater against pollution and deterioration. *Official Journal of the European Union*, 27 Dec 2006. L 372, p. 19.
- 12 Andreu V, Picó Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2004; 23(10-11):772-789. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.008>

- 13 Brondi SHG, Lanças FM. Development and validation of a multi-residue analytical methodology to determine the presence of selected pesticides in water through liquid chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2005; 16(3B):650-653. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532005000400026>
- 14 Yang Z, Liu Y, Liu D, Zhou Z. Determination of Organophosphorus Pesticides in Soil by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 2012; 50(1):15-20. PMID:22291051 PMCID:PMC3252121. <http://dx.doi.org/10.1093/chromsci/bmr011>
- 15 Rodrigues GD, Silva LHM, Silva MCH. Alternativas verdes para o preparo de amostra e determinação de poluentes fenólicos em água. *Química Nova* 2010; 33(6):1370-1378. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000600027>
- 16 Braibante MEF, Zappe JAA. A química dos agrotóxicos. *Química Nova na Escola*, 2012; 34(1):10-15.
- 17 Almeida FV, Centeno AJ, Bisinoti MC, Jardim WF. Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. *Química Nova* 2007; 30(8):1976-1985. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000800033>
- 18 Hardman JG, Limbird LE, Gilman GA. *Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2005.
- 19 Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. [cited 2013 Aug 16]. Available from: <http://portal.anvisa.gov.br/>.
- 20 Caldas SS, Gonçalves FE, Primel EG, Prestes OD, Martins ML, Zanella R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. *Química Nova* 2011; 34(9):1604-1617. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000900021>
- 21 Stoytcheva M. *Pesticides - Strategies for Pesticides Analysis*. Rijeka: InTech; 2011.
- 22 Ridgway K, Lalljie SPD, Smith RM. Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. *Journal of Chromatography A* 2007; 1153(1-2):36-53. PMID:17313955. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.134>
- 23 Jensen WB. The Origin of the Soxhlet Extractor. *Journal of Chemical Education* 2007; 84:1913-1914. <http://dx.doi.org/10.1021/ed084p1913>
- 24 Picó Y, Fernández M, Ruiz MJ, Font G. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2007; 70(2):117-131. PMID:17175029. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.10.010>
- 25 Fuentes E, Báez ME, Labra R. Parameters affecting microwave-assisted extraction of organophosphorus pesticides from agricultural soil. *Journal of Chromatography A* 2007; 1169(1-2):40-46. PMID:17870081. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.08.064>
- 26 Lanças FM. *Extração em Fase Sólida (SPE)*. São Carlos: RiMa; 2004.
- 27 Hagen DE, Markell CG, Schmitt G. A. Membrane approach to solid-phase extractions. *Analytica Chimica Acta* 1990; 236:157-164. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)83309-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(00)83309-7)
- 28 Lanças FM. *Cromatografia Líquida Moderna: HPLC/CLAE*. Campinas: Átomo; 2009.
- 29 Chen J, Duan C, Guan Y. Sorptive extraction techniques in sample preparation for organophosphorus pesticides in complex matrices. *Journal of Chromatography B* 2010; 878(17-18):1216-1225. PMID:20378426. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.02.031>
- 30 Zhang L, Liu S, Cui X, Pan C, Zhang A, Chen F. A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. *Central European Journal of Chemistry* 2012; 10(3):900-925. <http://dx.doi.org/10.2478/s11532-012-0034-1>
- 31 Tarley CRT, Sotomayor MPT, Kubota LT. Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 2: aplicações de MIP ("Molecularly Imprinted Polymers") no desenvolvimento de sensores químicos. *Química Nova* 2005; 28(6):1087-1101. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000600025>
- 32 Zhu X, Yang J, Su Q, Cai J, Gao Y. Selective solid-phase extraction using molecularly imprinted polymer for the analysis of polar organophosphorus pesticides in water and soil samples. *Journal of Chromatography A* 2005; 1092(2):161-169. PMID:16199222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.037>
- 33 Beltran A, Borrull F, Cormack PAG, Marcé M. Molecularly-imprinted polymers: useful sorbents for selective extractions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2010; 29(11):1363-1375. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2010.07.020>

- 34 Turiel E, Martín-Esteban A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review. *Analytica Chimica Acta* 2010; 668(2):87-99. PMID:20493285. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>
- 35 Masqué N, Marcé RM, Borrull F. Molecularly imprinted polymers: new tailor-made materials for selective solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2001; 20(9):477-486. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936\(01\)00062-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936(01)00062-0)
- 36 Núñez O, Gallart-Ayala H, Martins CPB, Lucci P. New trends in fast liquid chromatography for food and environmental analysis. *Journal of Chromatography A* 2012; 1228:298-323. PMID:22153282. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.091>
- 37 Pichon V. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *Journal of Chromatography A* 2000; 885(1-2):195-215. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00456-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00456-8)
- 38 Lelé SM. Sustainable development: A critical review. *World Development* 1991; 19(6):607-621. [http://dx.doi.org/10.1016/0305-750X\(91\)90197-P](http://dx.doi.org/10.1016/0305-750X(91)90197-P)
- 39 Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry* 1990; 62(19):2145-2148. <http://dx.doi.org/10.1021/ac00218a019>
- 40 Durovic RD, Dordevic TM, Santric LR, Gasic SM, Ignjatovic LM. Headspace solid phase microextraction method for determination of triazine and organophosphorus pesticides in soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 2010; 45(7):626-632. PMID:20803366. <http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2010.502416>
- 41 Durovic RD, Dordevic TM, Santric LR. Liquid-Solid Sample Preparation Followed by Headspace Solid-Phase Microextraction Determination of Multiclass Pesticides in Soil. *Journal of AOAC International* 2012; 95(5):1331-1337. PMID:23175962. http://dx.doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Durovic
- 42 Vas G, Vékey K. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* 2004; 39(3):233-254. PMID:15039931. <http://dx.doi.org/10.1002/jms.606>
- 43 Komatsu E, Vaz JM. Otimização dos parâmetros de extração para determinação multiresíduo de pesticidas em amostras de água empregando microextração em fase sólida. *Química Nova* 2004; 27(5):720-724. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500008>
- 44 Sarafraz-Yazdi A, Amiri A. Liquid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2010; 29(1):1-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2009.10.003>
- 45 Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-Liquid-Liquid Microextraction for Sample Preparation of Biological Fluids Prior to Capillary Electrophoresis. *Analytical Chemistry* 1999; 71(14):2650-2656. PMID:10424162. <http://dx.doi.org/10.1021/ac990055n>
- 46 Rasmussen KE, Pedersen-Bjergaard S. Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2004; 23(1):1-10. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936\(04\)00105-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936(04)00105-0)
- 47 Oliveira ARM, Magalhães IRS, Santana FJM, Bonato PS. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. *Química Nova* 2008; 31(3):637-644. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000300031>
- 48 Ghambarian M, Yamini Y, Esrafil A. Developments in hollow fiber based liquid-phase microextraction: principles and applications. *Microchimica Acta* 2012; 177(3-4):271-294. <http://dx.doi.org/10.1007/s00604-012-0773-x>
- 49 Rezaee M, Assadi Y, Hosseini MRM, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A* 2006; 1116(1-2):1-9. PMID:16574135. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>
- 50 Zgola-Grzeskowiak A, Grzeskowiak T. Dispersive liquid-liquid microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2011; 30(9):1382-1399. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2011.04.014>
- 51 Vickackaitė V, Padarauskas A. Ionic liquids in microextraction techniques. *Central European Journal of Chemistry* 2012; 10(3):652-674. <http://dx.doi.org/10.2478/s11532-012-0023-4>
- 52 Liu Y, Zhao E, Zhu W, Gao H, Zhou Z. Determination of four heterocyclic insecticides by ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction in water samples. *Journal of Chromatography A* 2009; 1216(6):885-891. PMID:19118833. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2008.11.076>
- 53 Pinho GP, Neves AA, Queiroz MELR, Silvério FO. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. *Química Nova* 2009;

- 32(4):987-995. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000400030>
- 54 Martins ML, Primel EG, Caldas SS, Prestes OD, Adaime MB, Zanella R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica* 2012; 4(1):35-51. <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2012.004>
- 55 Carabias-Martínez R, García-Hermida C, Rodríguez-Gonzalo E, Ruano-Miguel L. *Journal of Separation Science* 2005; 28(16):2130-2138. PMID:16318209. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.200400047>
- 56 Zhang J, Lee HK. Application of liquid-phase microextraction and on-column derivatization combined with gas chromatography-mass spectrometry to the determination of carbamate pesticides. *Journal of Chromatography A* 2006; 1117(1):31-37. PMID:16626723. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.102>
- 57 Wei G, Li Y, Wang X. Application of dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of methomyl in natural waters. *Journal of Separation Science* 2007; 30(18):3262-3267. PMID:18008284. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.200700291>
- 58 He L, Wang C, Sun Y, Luo X, Zhang J, Lu K. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for the determination of three carbamate pesticides in water samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2009; 89(6):439-448. <http://dx.doi.org/10.1080/03067310802627239>
- 59 Wu Q, Zhou X, Li Y, Zang X, Wang C, Wang Z. Application of dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography to the determination of carbamate pesticides in water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2009; 393(6-7):1755-1761. PMID:19214486. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-2625-z>
- 60 Liu Z. M, Zang XH, Liu WH, Wang C, Wang Z. Novel method for the determination of five carbamate pesticides in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography. *Chinese Chemical Letters* 2009; 20(2):213-216. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cclet.2008.10.047>
- 61 Firdoz S, Ma F, Yue X, Dai Z, Kumar A, Jiang B. A novel amperometric biosensor based on single walled carbon nanotubes with acetylcholine esterase for the detection of carbaryl pesticide in water. *Talanta* 2010; 83(1):269-273. PMID:21035674. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.028>
- 62 Khodadoust S, Hadjmohammadi M. Determination of N-methylcarbamate insecticides in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC with the aid of experimental design and desirability function. *Analytica Chimica Acta* 2011; 699(1):113-119. PMID:21704765. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.04.011>
- 63 Zhou Q, Pang L, Xiao J. Ultratrace determination of carbamate pesticides in water samples by temperature controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction combined with high performance liquid phase chromatography. *Microchimica Acta* 2011; 173(3-4):477-483. <http://dx.doi.org/10.1007/s00604-011-0587-2>
- 64 Vichapong J, Burakham R, Srijaranai S, Grudpan K. Room temperature imidazolium ionic liquid: A solvent for extraction of carbamates prior to liquid chromatographic analysis. *Talanta* 2011; 84(5):1253-1258. PMID:21641434. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.01.002>
- 65 Lee J, Lee HK. Fully Automated Dynamic In-Syringe Liquid-Phase Microextraction and On-Column Derivatization of Carbamate Pesticides with Gas Chromatography/Mass Spectrometric Analysis. *Analytical Chemistry* 2011; 83(17):6856-6861. PMID:21761858. <http://dx.doi.org/10.1021/ac200807d>
- 66 Cavaliere B, Monteleone M, Naccarato A, Sindona G, Tagarelli A. A solid-phase microextraction-gas chromatographic approach combined with triple quadrupole mass spectrometry for the assay of carbamate pesticides in water samples. *Journal of Chromatography A* 2012; 1257:149-157. PMID:22907043. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.011>
- 67 Msagati TAM, Mamba BB. Monitoring of N-methyl carbamate pesticide residues in water using hollow fibre supported liquid membrane and solid phase extraction. *Physics and Chemistry of the Earth* 2012; 50-52:149-156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pce.2012.08.016>
- 68 Yang EY, Shin HS. Trace level determinations of carbamate pesticides in surface water by gas chromatography-massspectrometryafterderivatization with 9-xanthidrol. *Journal of Chromatography A*

- 2013; 1305:328-332. PMID:23890551. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.055>
- 69 Chai Y, Niu X, Chen C, Zhao H, Lan M. Carbamate Insecticide Sensing Based on Acetylcholinesterase/ Prussian Blue-Multi-Walled Carbon Nanotubes/ Screen-Printed Electrodes. *Analytical Letters* 2013; 46(5):803-817. <http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2012.733899>
- 70 Samphao A, Suebsanoh P, Wongsu Y, Pekec B, Jitchareon J, Kalcher K. Alkaline Phosphatase Inhibition-Based Amperometric Biosensor for the Detection of Carbofuran. *International Journal of Electrochemical Science* 2013; 8(3):3254-3264.
- 71 Sánchez-Brunete C, Rodríguez A, Tadeo JL. Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2003; 1007(1-2):85-91. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00953-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00953-1)
- 72 Basheer C, Alnedhary AA, Rao BSM, Lee HK. Determination of carbamate pesticides using micro-solid-phase extraction combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2009; 1216(2):211-216. PMID:19062025. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2008.11.042>
- 73 Lu H, Lin Y, Wilson PC. Organic-Solvent-Free Extraction Method for Determination of Carbamate and Carbamoyloxime Pesticides in Soil and Sediment Samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2009; 83(5):621-625. PMID:19771381. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-009-9873-7>

Recebido: 09/09/2013

Aceito: 03/10/2013