

MÉTRICAS DA QUÍMICA ANALÍTICA VERDE NA AVALIAÇÃO DE MÉTODO ECOLÓGICO PARA DETERMINAÇÃO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS POR CLAE-DAD**Larissa P. dos Santos^a, Bárbara E. A. de Magalhães^b, Walter N. L. dos Santos^{a,b}, Luciana B. Oliveira^c, Madson de G. Pereira^a e Débora de A. Santana^{a,*}**^aDepartamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade do Estado da Bahia, 45700-000 Salvador – BA, Brasil^bInstituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 40170-290 Salvador – BA, Brasil^cInstituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Sergipe, 49400-000 Lagarto – SE, Brasil

Recebido: 01/04/2023; aceito: 08/07/2024; publicado online: 12/08/2024

GREEN ANALYTICAL CHEMISTRY METRICS IN THE EVALUATION OF AN ECOLOGICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDES BY HPLC-DAD. In recent years, the Brazilian government has authorized several agricultural pesticides, increasing the possibility of pollution of different ecosystems and the food consumed by a large part of the population. The analytical determination of pesticides can be carried out using different techniques associated with various methods. Their development and validation have been based on obtaining better reliability, meeting the requirements of environmental legislation, and adapting to the principles of Green Chemistry. Thus, a chromatographic method was developed for the separation and determination of eight agricultural pesticides (aldicarb, ametrine, atrazine, bendiocarb, carbaryl, hexazinone, methiocarb, and methomyl) in compliance with Green Chemistry criteria, using ethanol as the mobile phase, which it is an ecologically less aggressive solvent. The developed method showed efficient separation and excellent results for green analysis metrics with high scores on the Eco-scale and good presentation in the National Environmental Methods Index (NEMI), Green Analytical Procedure Index (GAPI), and Analytical Greenness Calculator Metric (AGREE) pictograms. The validation parameters indicated the linearity of the method with good precision, selectivity, and sensitivity with detection and quantification limits in the ranges of 0.50 to 0.94 mg L⁻¹ and 0.74 to 1.81 mg L⁻¹, respectively.

Keywords: HPLC; ethanol; Green Chemistry; pesticides.

INTRODUÇÃO

O emprego cada vez mais acentuado dos defensivos agrícolas, tanto para aumentar o rendimento das colheitas, quanto para garantir a qualidade de armazenamento de grãos, tem gerado preocupações ambientais crescentes.¹ Assim, a contaminação da água e alimentos pelos defensivos agrícolas tem recebido atenção acentuada, conduzindo ao desenvolvimento de diferentes métodos destinados às análises de uma variedade de matrizes.^{2,3}

Para análise dos defensivos agrícolas, a busca por métodos analíticos menos tóxicos tem levado a ideias acerca da substituição de solventes, redução de tempo de análise e miniaturização, sendo esta última estratégia principalmente voltada para os procedimentos de extração.⁴ Neste ínterim, muitos trabalhos utilizaram solventes verdes, tais como líquidos iônicos e solventes eutéticos nos processos de preparo de amostra.⁵ Apesar de as preocupações com procedimentos ecologicamente amigáveis serem absolutamente necessárias, é também importante que técnicas analíticas sigam os mesmos princípios da Química Verde.⁶

As análises de diferentes matrizes podem ser realizadas empregando técnicas analíticas diversas, entre as quais se encontra a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa.⁷ Os modificadores orgânicos mais utilizados na fase móvel são metanol e acetonitrila, que, embora encontrem aplicabilidade elevada, são solventes tóxicos.^{8,9}

No intuito de contribuir com a sustentabilidade das técnicas cromatográficas de análise, o uso do etanol oferece perspectivas promissoras, desde que esse álcool possui semelhança química

com o metanol. Adicionalmente, o etanol é obtido a partir de fontes renováveis, quando sua obtenção se faz pela fermentação de matérias primas ricas em açúcares, incluindo cana-de-açúcar, beterraba, milho, entre outros.¹⁰

Mesmo que não seja utilizado na mesma amplitude que o metanol e a acetonitrila como fase móvel na CLAE, o etanol tem recebido atenção crescente para os pesquisadores que realizam suas práticas de forma ambientalmente amigáveis.^{10,11}

Além da toxicidade e volume dos reagentes utilizados, o gasto energético e a segurança operacional são parâmetros a serem considerados frente aos princípios da Química Verde. Para avaliar os procedimentos analíticos nessa vertente, foram instituídos outros 12 princípios da Química Analítica Verde (QAV) e, com isso, diferentes métricas para avaliação dos métodos.^{12,13}

Devido ao crescimento da perspectiva verde nas análises químicas, hoje é extremamente corriqueiro que os trabalhos defendam que um método é verde pelo fato de utilizar reagentes menos tóxicos ou tempo de análise com relação ao gasto energético. Nesse sentido, Gałuszka *et al.*¹⁴ propõem uma Eco escala, na qual parâmetros (métricas) para verificação da proposta ecológica do método são elencados.

Algumas métricas, como o índice nacional de métodos ambientais (NEMI, do inglês, *national environmental methods index*) patrocinado pela Agência de Proteção Ambiental americana (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) e pelo Serviço Geológico dos Estados Unidos (USGS, do inglês, *United States Geological Survey*) e gerido por agências governamentais federais e estaduais dos EUA, que avaliam os resíduos gerados,^{13,15} são passíveis de avaliação imediata. Contudo, apesar de não ter um pictograma, a Eco escala fornece mais informações que o NEMI, pois avalia a quantidade dos resíduos gerados e apresenta um resultado numérico.¹²

*e-mail: deboradeandradesantana@gmail.com

Editor Convidado responsável pelo artigo: Marco T. Grassi

De forma mais abrangente e de fácil interpretação, a métrica AGREE (do inglês, *analytical greenness metric*) possui um pictograma, que considera os 12 princípios da QAV. Nesse pictograma, há um espaço maior no centro e doze espaços menores dispostos nas bordas. O referido pictograma avalia a compatibilidade de um método analítico com os princípios da QAV, atribuindo pontuações fundamentadas em colorações que variam do verde ao vermelho.¹⁶

Mediante a avaliação de quinze parâmetros, o índice de procedimento analítico verde (GAPI, do inglês, *green analytical procedure index*) produz um pictograma com cinco hexágonos com coloração verde, amarela ou vermelha.¹⁷

Diante disso, o desenvolvimento de um método cromatográfico para análise de defensivos agrícolas, que utilize o etanol como fase móvel em substituição ao metanol, que é a fase móvel do método cromatográfico de referência, torna-se analiticamente relevante. Esta afirmação se justifica pela adequação do método cromatográfico de análise proposto aos critérios da Química Verde apresentados neste trabalho.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes

Os padrões utilizados na análise cromatográfica foram aldicarbe, ametrina, atrazina, bendiocarbe, carbaril, hexazinona, metiocarbe, metomil (Sigma Chemical Company, EUA). Por sua vez, para a fase móvel foi utilizado o etanol de grau cromatográfico (Honeywell Riedel-de Haën, EUA) e água ultrapura obtida de um sistema de purificação da Gehaka, modelo Master P&D (Brasil).

Análises cromatográficas

O método foi desenvolvido utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (modelo LC-2030C 3D Plus Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japão). A separação foi realizada em uma coluna Shim-pack CLC-C8(M) (5 μm , 150 \times 4,0 mm) e controlada pelo *software* LC-Solution.¹⁸

Otimização de variáveis que influenciam a separação cromatográfica

Para avaliar os diferentes fatores capazes de afetar a separação cromatográfica, como o gradiente de eluição de fase móvel, vazão e temperatura do forno, vários estudos univariados foram realizados para alcançar as melhores condições para o método. A avaliação foi realizada por meio dos seguintes parâmetros de eficiência de separação cromatográfica: tempo de retenção (Tr), fator de retenção (K), fator de separação (α), resolução (Rs), número de pratos (N) e altura de prato (H).

Validação do método

Após a otimização dos parâmetros de eficiência de separação cromatográfica, o método foi validado avaliando-se: curva analítica (0,5 a 5,0 mg L⁻¹), linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária em 3 níveis de 1,0; 3,0 e 5,0 mg L⁻¹), exatidão (recuperação em 3 níveis 1,5; 2,0 e 3,0 mg L⁻¹), robustez, efeitos matriz e eficiência do processo com os protocolos sugeridos pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, IUPAC).¹⁹

Métricas de avaliação para o método verde

A avaliação do “perfil verde” do método desenvolvido foi realizada utilizando-se as métricas: NEMI, Eco escala, e AGREE.

Software usado no processamento de dados

Para a obtenção dos dados cromatográficos, utilizou-se o *software* LabSolutions,¹⁸ do próprio equipamento de HPLC, ao passo que os *softwares* Statistica® 7²⁰ e Microsoft Excel®²¹ foram empregados para o tratamento desses dados.

Para avaliação do “perfil verde” foram utilizados aplicativos disponíveis em <https://mostwiedzy.pl/wojciech-wojnowski,174235-1/> AGREE²² e <https://mostwiedzy.pl/en/justyna-plotka-wasylika,647762-1/> complexgapi²³ para a métricas AGREE e GAPI, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Otimização univariada da separação cromatográfica

Otimização da fase móvel

Inicialmente foram realizados estudos empregando gradiente linear sem sucesso, por isso, a separação cromatográfica foi otimizada por estudos isolados de cada variável (gradiente, temperatura e vazão), com variação de apenas uma delas por vez.

A condição de análise para o estudo do gradiente foi adaptada de De Llasera e Bernal-González²⁴ que estudaram analitos semelhantes. No referido estudo, a vazão foi de 1 mL min⁻¹ e a temperatura de 37 °C. Por sua vez, os solventes para a fase móvel foram água (solvente A) e etanol (solvente B), com os seguintes gradientes de eluição com acréscimos do % de B entre cada intervalo de tempo: 0-5 min: 18% (v v⁻¹) B em A; 6-11 min: 19% (v v⁻¹) B em A; 12-13 min: 20% (v v⁻¹) B em A; 14-15 min: 27% (v v⁻¹) B em A; 16-25 min: 49% (v v⁻¹) B em A; 26-35 min: 70% (v v⁻¹) B em A; 36-45 min: 80% (v v⁻¹) B em A; 46-50 min: 49% (v v⁻¹) B em A com redução para 18% (v v⁻¹) até 55 min adaptado que estudou analitos semelhantes (Figura 1a).

Utilizando um volume de injeção de 20 μL , uma mistura dos pesticidas foi analisada e, após dezoito alterações na proporção da composição da fase móvel, houve uma melhoria na resolução e redução do tempo de análise. O gradiente otimizado com acréscimos do % de B entre cada intervalo de tempo, foi: 0-3 min: 18% (v v⁻¹) B em A; 4-18 min: 25% (v v⁻¹) de B em A; 20-27 min: 35% (v v⁻¹) de B em A; 29-36 min: 55% (v v⁻¹) de B em A; 38-40 min: 18% (v v⁻¹) B em A (Figura 1b).

Otimização da temperatura e de vazão

Ao comparar os cromatogramas das Figuras 1a e 1b, percebe-se que, além da redução do tempo de análise, houve uma melhoria na separação. No entanto, as resoluções para dois compostos identificados com os números 4 e 5 foram inferiores a 2. Assim, foi realizado o estudo da temperatura, variando de 35 a 41 °C (Figura 2a). O melhor cromatograma obtido foi com o sistema a 39 °C, devido à antecipação dos picos, quando comparado à temperatura de 37 °C utilizada inicialmente. Consequentemente, o encerramento da análise pôde ocorrer em menor tempo, aumentando a frequência analítica e reduzindo consumo de reagente e energia elétrica.

A vazão da fase móvel foi o último parâmetro de estudo a ser avaliado. Para tanto, esse parâmetro foi avaliado em três níveis: 0,8; 1,0 e 1,2 mL min⁻¹ (Figura 2b). No nível de 0,8 mL min⁻¹, houve um alargamento das bases dos picos, aumento no tempo de retenção e diminuição da resolução do método cromatográfico. Já para a vazão de 1,2 mL min⁻¹, apesar de ter ocorrido uma antecipação dos picos, houve uma elevação da pressão que atingiu 22,6 MPa.

Identificação dos compostos

A identificação foi realizada comparando os tempos de retenção com padrões de referência e avaliando os espectros fornecidos

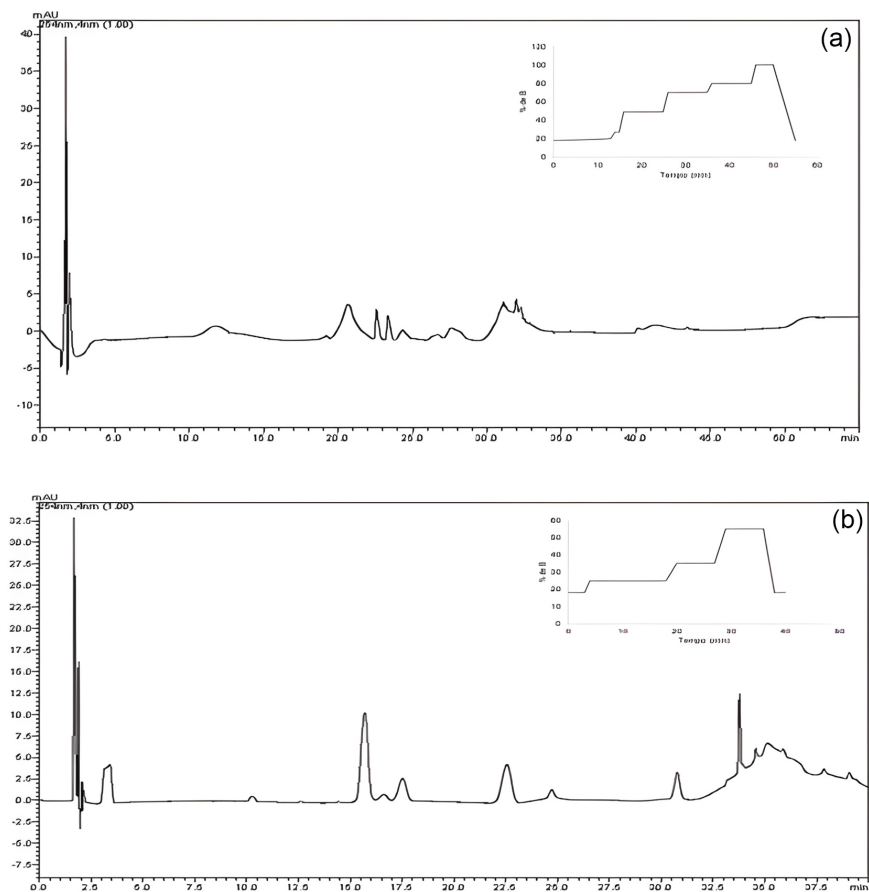


Figura 1. Cromatogramas de uma mistura de oito pesticidas agrícolas: (a) gradiente inicial e (b) gradiente otimizado

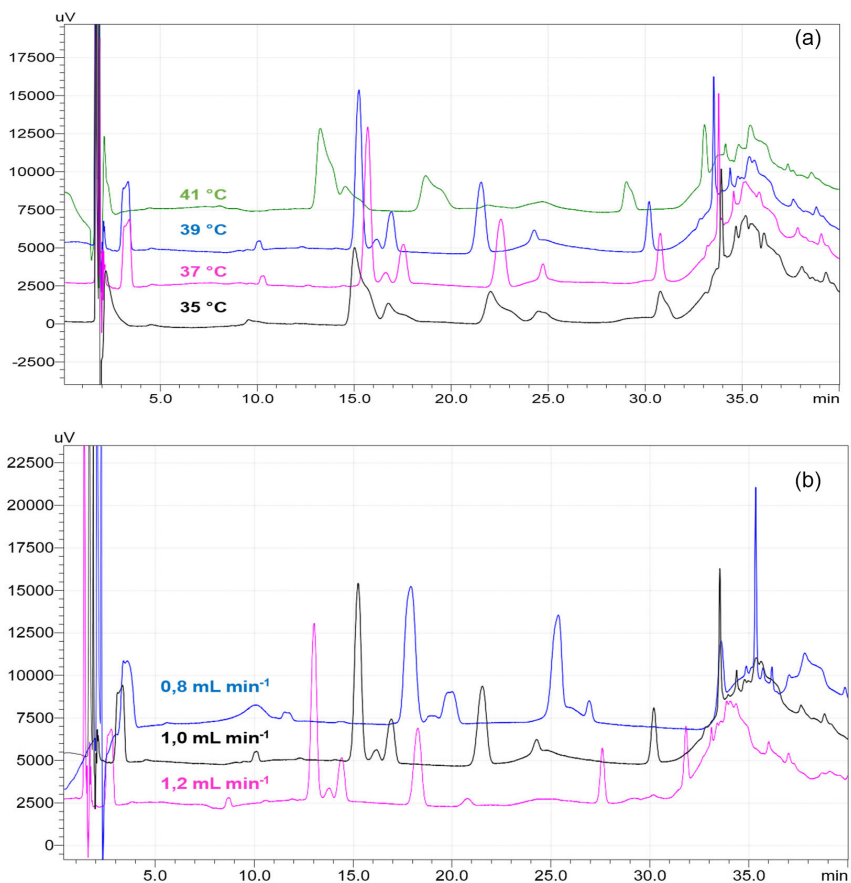


Figura 2. Cromatogramas de uma mistura de oito pesticidas agrícolas: (a) estudo de temperatura do forno, (b) estudo da vazão de fase móvel

pelo *software* LC Solution.¹⁸ Maior eficiência na identificação e quantificação foi alcançada com a escolha do comprimento de onda de absorção máxima. Assim, cinco comprimentos de onda (210, 220, 230, 238 e 254 nm) foram avaliados e estão acima do *cut-off* do etanol (205 nm). A Figura 3 mostra os cinco comprimentos de onda escolhidos, com destaque para a atrazina, que possui maior intensidade em 220 nm.

Avaliação da eficiência de separação

Para avaliar a eficiência da separação apresentada na Figura 3, utilizando o método otimizado, os parâmetros de avaliação tempo de retenção (*Tr*), fator de retenção (*K*), fator de separação (α), resolução (*Rs*) e número de pratos (*N*), foram calculados (Tabela 1).

É possível perceber, para os três primeiros compostos, que o valor de *N* foi inferior à 2000. No entanto, os pratos médios (\bar{N}) calculado foi de 10.981,00, neste parâmetro valores superiores a 2000, com altura do prato (*H*) de 0,014 caracterizam uma boa separação dos analitos.²⁵

A eficiência de uma separação depende, também, da capacidade de resolução da técnica, visto que os picos devem estar suficientemente distantes para poderem ser resolvidos, sem que isso resulte em um tempo de análise muito elevado. Assim, o parâmetro resolução (*Rs*) mede quanto dois analitos podem estar separados. Em uma separação

eficiente, a *Rs* deve ser superior à 1,5 e isso foi observado para todos os compostos estudados.

Validação do método

O método apresentou faixa dinâmica de trabalho, variando de 0,5 a 5,0 mg L⁻¹, com a linearidade confirmada pelo teste *F* (95% de significância). Os valores de *F* experimentais foram inferiores ao valor de *F* tabelado, considerando 5 graus de liberdade.²⁶

A precisão avaliada em relação aos níveis de repetibilidade e precisão intermediária (*n* = 9) foi comprovada por um desvio padrão relativo (RSD) inferior a 8%, que está abaixo do limite máximo estabelecido para microconstituintes.²⁷

Considerando as condições apresentadas, uma boa sensibilidade foi obtida com limites de detecção e quantificação variando de 0,50 a 0,94 mg L⁻¹ e de 0,75 a 1,41 mg L⁻¹, respectivamente (Tabela 2). O método terá uma melhoria na sensibilidade se for associado a uma etapa de pré-concentração ou extração dependendo da amostra a ser analisada. A legislação vigente considera a ingestão diária aceitável (IDA) como sendo valores de 0,003 mg kg⁻¹ para o carbaril, 0,01 mg kg⁻¹ para atrazina, 0,02 mg kg⁻¹ para ametrina, metomil e bendiocarbe além de 0,072 mg kg⁻¹ para ametrina.

O método cromatográfico proposto apresentou tempo de análise (36 min) bastante adequado para a separação de oito analitos, uma vez

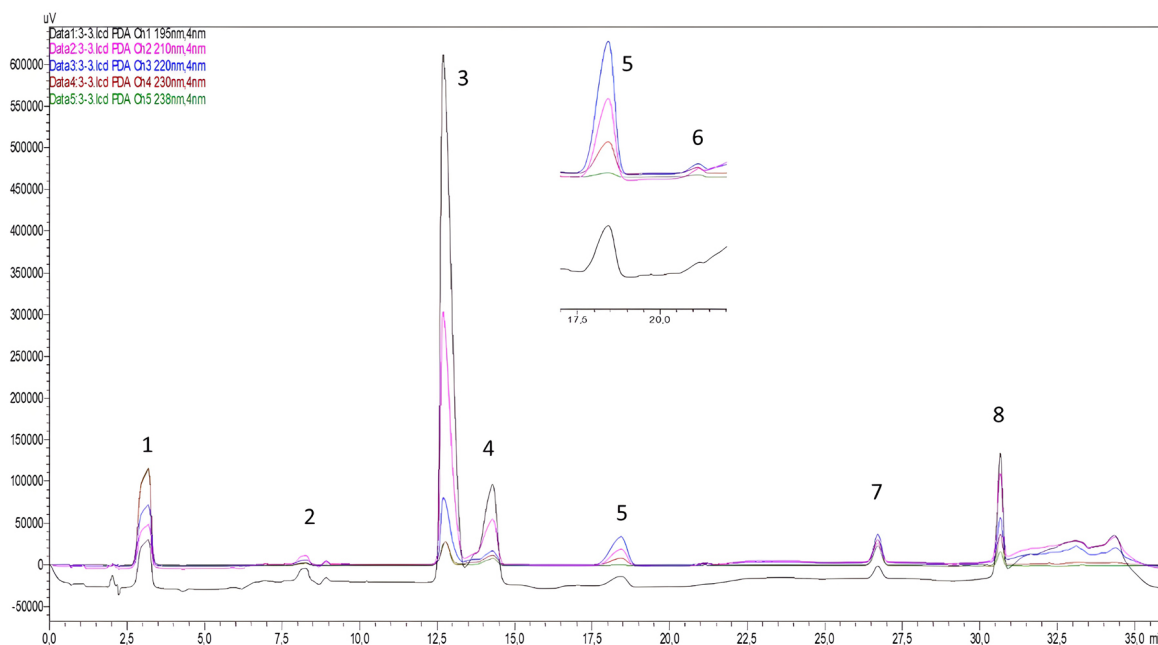


Figura 3. Cromatogramas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de uma mistura de (1) metomil; (2) aldicarbe; (3) hexazinona; (4) bendiocarbe; (5) carbaril; (6*) atrazina; (7) ametrina; (8) metiocarbe

Tabela 1. Parâmetros de avaliação da separação cromatográfica em equipamento CLAE

| Analito | Tr | Wb | k | α | N | Rs |
|-------------|-------|------|------|-------------------|----------|-------------------|
| Metomil | 3,18 | 0,70 | 0,39 | 5,13 | 329,79 | 5,86 |
| Aldicarbe | 8,23 | 1,02 | 0,76 | 1,71 | 1034,02 | 3,96 |
| Hexazinona | 12,72 | 1,24 | 0,85 | 1,14 | 1312,67 | 1,53 |
| Bendiocarbe | 14,18 | 0,5 | 0,86 | 1,33 | 12863,19 | 3,74 |
| Carbaril | 18,26 | 1,48 | 0,89 | 1,17 | 1881,21 | 2,45 |
| Atrazina | 21,05 | 0,80 | 0,91 | 1,29 | 10093,77 | 6,80 |
| Ametrina | 26,51 | 0,81 | 0,93 | 1,16 | 10497,64 | 5,92 |
| Metiocarbe | 30,50 | 0,54 | 0,94 | 1,16 ^a | 54404,00 | 5,92 ^a |

^aValores do pico anterior. CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; Tr: tempo de retenção do pico; Wb: largura da base do pico; k: fator de retenção; α : fator de separação; N: número de pratos; Rs: resolução.

que alguns métodos têm demandado muito tempo para suas análises, com 15 min para a determinação de três analitos ou mesmo 32 min para a separação de quatro analitos.^{28,29} Adicionalmente, deve-se destacar a capacidade do método proposto em atender as demandas por métodos analíticos ambientalmente amigáveis, desde que houve a utilização de solventes da fase móvel de menor toxicidade e sem etapa de pré-tratamento, ou seja, menor consumo de reagentes e, consequentemente, menor geração de resíduos.

Na avaliação do efeito matriz obteve-se valores máximos de 1% pela comparação das inclinações curvas analíticas dos analitos preparados em água ultrapura e em amostra de água potável. Para avaliar a exatidão, foram realizados ensaios de adição de padrão em amostras de água potável nas concentrações de 1,5; 2,0 e 3,0 mg L⁻¹ em triplicata totalizando 9 ensaios (n = 9). Com taxas de recuperação variando de 90,8 a 105,2% e RSD inferior a 20%, o método cromatográfico proposto demonstrou exatidão adequada (Tabela 2).

A robustez do método proposto foi avaliada, aplicando um planejamento fatorial completo de dois níveis (2²), com triplicata do ponto central (condições ótimas estabelecidas), onde temperatura (38, 39 e 40 °C) e vazão foram variadas (0,9; 1,0 e 1,1). Os resultados obtidos, a um nível de significância de 0,05, não indicaram influência significativa nos resultados.³⁰

Avaliação do perfil verde

As métricas contidas na Eco escala, NEMI, GAPI e AGREE foram utilizadas na avaliação do método desenvolvido.

A rotulagem de NEMI é uma das métricas mais antigas e considera, qualitativamente, os tipos de resíduos gerados, o ambiente não corrosivo, se os reagentes são perigosos e se são do tipo PBT (persistentes, bioacumuláveis e tóxicos) através de uma listagem de Inventário de Liberação de Tóxicos (TRI) da US EPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos).^{31,32}

Mais uma vez, o método proposto para separação cromatográfica dos oito defensivos agrícolas, como apresentado na Figura 4, se mostrou com alto caráter verde frente à essa métrica e ao comparar com outro trabalho.²⁹

O pictograma de NEMI para este método indica que os reagentes utilizados não são persistentes, bioacumuláveis ou tóxicos; não são perigosos, não apresentam caráter corrosivo, com pH abaixo de 2 ou acima de 12 e a geração de resíduos é menor que 50 mL por amostra.^{31,32} Para efeito de comparação, o método apresentado em 2018 por Liu *et al.*²⁹ demonstrou baixo caráter verde, uma vez que o referido método teve apenas uma de suas áreas pintada.

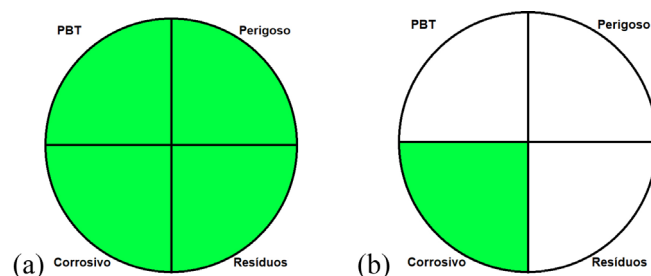


Figura 4. Pictogramas da métrica NEMI (national environmental methods index) para os métodos: (a) desse trabalho e (b) Liu *et al.*²⁹

A métrica NEMI não considera o consumo energético e, diante disso, foi realizada a análise da escala ecológica (Eco escala). A Eco escala pontua as penalidades, que são subtraídas de 100, sendo que quanto mais próxima for a avaliação do limite máximo (100), mais verde e econômico é o método analítico considerado.¹⁷

Assim, considerando a escala ecológica, o método proposto foi penalizado em relação à quantidade de reagente utilizado, entre 10 e 100 mL (2 pontos) vs. o risco menos grave do reagente (1 ponto) = 2 pontos. No parâmetro de energia do instrumento, como citado pelo autor,¹⁷ cromatógrafos líquidos consomem menos que 1,5 kW h⁻¹ e, portanto, houve a penalidade de 1 ponto. Por não haver risco associado ao método cromatográfico, este não foi penalizado nessa categoria e, com relação ao desperdício, o método proposto foi penalizado em 5 pontos, visto que um volume maior que 10 mL de resíduos foi gerado. Finalmente, por não ter ocorrido o tratamento desses resíduos dentro do laboratório, o método foi penalizado em mais 3 pontos.

Com 11 pontos de penalidade, o método proposto obteve 89 pontos (de 100) na escala ecológica, classificando-o como ecologicamente amigável. Esta classificação corrobora com o proposto em 2012 por Gałuszka *et al.*,¹⁴ que preconiza que um fator verde acima de 75 pontos indica uma excelente análise verde.

Devido à aplicabilidade em diferentes procedimentos analíticos e à abrangência na avaliação dos princípios da QAV, as métricas GAPI e AGREE são amplamente utilizadas e, portanto, foram também utilizadas na avaliação do método proposto neste trabalho. Ambos os pictogramas apresentados nas Figuras 5 e 6 indicam uma predominância da cor verde, indicando que o método proposto é ambientalmente amigável.

A métrica AGREE se baseia nos 12 princípios da QAV, permitindo, com o uso do pictograma, a avaliação qualitativa e quantitativa do método através da variação da intensidade da cor

Tabela 2. Validação dos parâmetros analíticos do método desenvolvido

| Analito | Equação de regressão $y = ax + b$ | R | LOD / (mg L ⁻¹) | LOQ / (mg L ⁻¹) | Precisão / % DPR | | Recuperação / % (n = 9) |
|-------------|--------------------------------------|--------|-----------------------------|-----------------------------|------------------|------------------|----------------------------|
| | | | | | Intradia (n = 9) | Interdia (n = 9) | |
| Metomil | $y = 1000000x - 140881,0$ | 0,9978 | 0,52 | 0,77 | 0,4 | 3,2 | 99,7 |
| Aldicarbe | $y = 89258x + 2185,3$ | 0,9926 | 0,94 | 1,41 | 2,9 | 5,5 | 111,3 |
| Hexazinona | $y = 194260x - 27152,0$ | 0,9979 | 0,50 | 0,74 | 0,8 | 4,7 | 90,8 |
| Bendiocarbe | $y = 117273x - 21118,0$ | 0,9979 | 0,50 | 0,75 | 0,4 | 7,9 | 98,2 |
| Carbaril | $y = 435015x - 67165,0$ | 0,9976 | 0,53 | 0,79 | 0,7 | 4,0 | 91,7 |
| Atrazina | $y = 16628x - 5833,1$ | 0,9953 | 0,75 | 1,12 | 3,7 | 7,6 | 103,5 |
| Ametrina | $y = 55750x - 8042,6$ | 0,9977 | 0,53 | 0,79 | 1,4 | 3,3 | 105,2 |
| Metiocarbe | $y = 156389x - 15797,0$ | 0,9979 | 0,51 | 0,75 | 1,6 | 3,3 | 98,3 |

^aExpressa a resposta de detecção (área de pico, mAU) vs. concentração de defensivo agrícola (em mg L⁻¹); ^bmédia do desvio padrão relativo (DPR) para três medidas diferentes, expressa em %; ^cmédia de recuperações em três níveis de concentração (1,5; 2,0 e 3,0 mg L⁻¹); LOD: limite de detecção, a menor concentração de analito que produz uma resposta detectável acima do nível de ruído do sistema; LOQ: limite de quantificação, o nível mais baixo de analito que pode ser medido com precisão; n: número de amostras; R: coeficiente de correlação.

verde e da pontuação total disponível ao centro, respectivamente. O método proposto obteve uma pontuação final de 0,82 (Figura 5a), que foi considerada como bem adequada estando próximo a 1,0, o valor máximo dessa métrica.¹⁶ Ao comparar com o método de referência, de pontuação de 0,34, é possível perceber as diferenças de coloração a cada princípio analisado na métrica AGREE (Figura 5b).

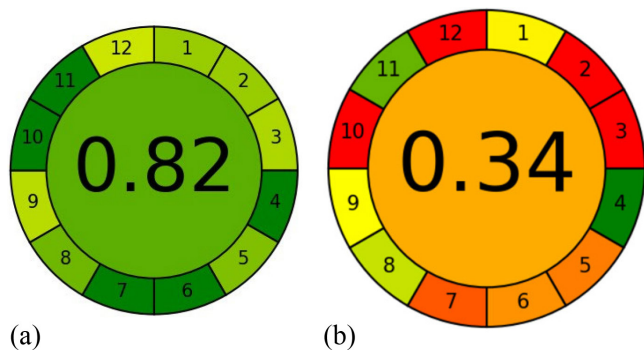


Figura 5. Pictogramas da métrica AGREE (*analytical greenness calculator metric*) para o método proposto (a) e para o método de referência (b)²⁴

O princípio 12, que se refere à segurança do operador, teve uma intensidade de cor mais clara devido ao uso dos analitos que são muito tóxicos. O item 9, que avalia o consumo energético, devido ao uso do cromatógrafo de 0,5 a 1,5 kW h⁻¹, teve uma pontuação de 0,5 e por isso a coloração verde menos intensa. Com colocações semelhantes, os itens 1, 2, 3, 5 e 8 avaliam, respectivamente, a amostragem, o tamanho, a forma de medida da amostra, a automatização e a multiplicidade dos analitos. Para o método desenvolvido, a amostragem foi feita de forma *on-line*, empregando um volume de 20 µL, requerendo 30 min para determinar 8 analitos.

Os itens melhores avaliados foram os de número 4, 6, 7, 10 e 11 que avaliam, respectivamente, a quantidade de etapas, a necessidade de derivatização, o volume de resíduo tóxico gerado, a toxicidade e a fonte dos reagentes utilizados. Diante do uso de apenas uma etapa, da ausência de derivatização, do baixo volume de resíduo e do uso dos solventes etanol e água, o método proposto teve a pontuação máxima.



Figura 6. Pictogramas da métrica GAPI (*green analytical procedure index*) para o método proposto

É possível destacar que, dos 15 parâmetros avaliados no pictograma GAPI, 10 são verdes (Figura 6). Está claro, nesse pictograma, que o parâmetro instrumentação foi o mais penalizado no item 15, desde que se encontra em vermelho, devido ao fato de o volume do resíduo gerado ter sido superior a 10 mL. No item 13, que trata do risco operacional, o parâmetro instrumentação está em verde por se tratar de um sistema vedado (Figura 6). Nesse pictograma,

constam, ainda, a avaliação dos reagentes e o tipo do método, no pentagrama 5, indicado com um círculo ao meio que é realizada simultaneamente análise qualitativa e quantitativa. O método aqui proposto não fez uso da etapa de preparo de amostra, estando de acordo com o primeiro princípio da QAV e poderá ser realizada para aumentar a sensibilidade da técnica cromatográfica pelo uso de métodos miniaturizados sem grande prejuízo a característica verde. Ao comparar com o método de referência²⁴ além da etapa de extração em fase sólida os autores também usaram uma etapa de derivatização que deve ser evitada considerando o sexto princípio da QAV.

CONCLUSÕES

A otimização do método cromatográfico permitiu a separação e identificação simultânea de oito defensivos agrícolas, apresentando bons resultados, tanto na avaliação da eficiência da separação, quanto nos parâmetros de validação.

Além disso, o método cromatográfico desenvolvido, com baixo consumo de reagentes tóxicos, rapidez e eficiência na separação dos defensivos agrícolas estudados apresentou características adequadas à adoção da Química Verde, estando dentro das métricas de Eco escala e pictogramas de NEMI, AGREE e GAPI. Isso corrobora a utilização futura do método, seguindo princípios ecologicamente modernos.

A validação desse método, indicou resultados satisfatórios atingindo boa seletividade e precisão o que possibilitará a aplicação associada a uma etapa de extração de amostras alimentícias e/ou ambientais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa de pós-graduação em Química Aplicada, ao CNPQ, à CAPES e à FAPESB.

REFERÊNCIAS

- Centner, T. J.; *Agriculture* **2021**, *11*, 486. [Crossref]
- Abolghasemi, M. M.; Piryaei, M.; Imani, R. M.; *Microchem. J.* **2020**, *158*, 105041. [Crossref]
- Narendran, S. T.; Meyyanathan, S. N.; Babu, B. J. F. R. I.; *Food Res. Int.* **2020**, *133*, 109141. [Crossref]
- Sani, M. Z.; Mogaddam, M. R. A.; Khandaghi, J.; *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2023**, *103*, 6367. [Crossref]
- Al Hassan, M. K.; Alfarsi, A.; Nasser, M. S.; Hussein, I. A.; Khan, I.; *J. Mol. Liq.* **2023**, *391*, 123163. [Crossref]
- Galuszka, A.; Migaszewski, Z.; Namieśnik, J.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2013**, *50*, 78. [Crossref]
- Liang, Z.; Abdelshafy, A. M.; Luo, Z.; Belwal, T.; Xingyu, L.; Xu, Y.; Wang, L.; Mingyi, L.; Ming, Q.; Dong, Y.; Li, L.; *Food Chem.* **2022**, *384*, 132494. [Crossref]
- Kapsi, M.; Tsoutsi, C.; Paschalidou, A.; Albanis, T.; *Sci. Total Environ.* **2019**, *650*, 2188. [Crossref]
- Huang, Y.; Shi, T.; Luo, X.; Xiong, H.; Min, F.; Chen, Y.; Nie, S.; Xie, M.; *Food Chem.* **2019**, *275*, 255. [Crossref]
- Ribeiro, R. L.; Bottoli, C. B.; Collins, K. E.; Collins, C. H.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 300. [Crossref]
- Akbel, E.; Bulduk, I.; Gökçe, S.; *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **2024**, *38*, 11. [Crossref]
- Sajid, M.; Plotka-Wasyłka, J.; *Talanta* **2022**, *238*, 123046. [Crossref]
- Shi, M.; Zheng, X.; Zhang, N.; Guo, Y.; Liu, M.; Yin, L.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2023**, *166*, 117211. [Crossref]
- Galuszka, A.; Migaszewski, Z. M.; Konieczka, P.; Namieśnik, J.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2012**, *37*, 61. [Crossref]

15. Keith, L. H.; Gron, L. U.; Young, J. L.; *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2695. [Crossref]
16. Pena-Pereira, F.; Wojnowski, W.; Tobiszewski, M.; *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 10076. [Crossref]
17. Plotka-Wasyłka, J.; *Talanta* **2018**, *181*, 204. [Crossref]
18. *LabSolutions*, versão 1.25SP4; Shimadzu, Kyoto, Japão, 2020.
19. Danzer, K.; Currie, L. A.; *Pure Appl. Chem.* **1998**, *70*, 993. [Crossref]
20. *Statistica 7*, versão 7; Data Analysis Software System; StatSoft Inc., Tulsa, USA, 2016.
21. *Microsoft Excel*, versão 2303; Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA, 2023.
22. Pena-Pereira, F.; Wojnowski, W.; Tobiszewski, M.; *AGREE*, versão 1.0; Gdańsk, Polónia, 2020.
23. Plotka-Wasyłka, J.; *GAPI*, versão 1.0; Gdańsk, Polónia, 2021.
24. De Llasera, M. P. G.; Bernal-González, M.; *Water Res.* **2001**, *35*, 1933. [Crossref]
25. Ito, M.; Shimizu, K.; Nakatani, K.; *J. Chromatogr. A* **2021**, *1653*, 462417. [Crossref]
26. Olivieri, A. C.; *Anal. Chim. Acta* **2015**, *868*, 10. [Crossref]
27. Ribeiro, F. A. D. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Silva, L. R. D.; Schneider, R. P.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 164. [Crossref]
28. Liu, T.; Cao, P.; Geng, J.; Li, J.; Wang, M.; Wang, M.; Yin, D.; *Food Chem.* **2014**, *142*, 358. [Crossref]
29. Liu, W.; Quan, J.; Hu, Z.; *J. Anal. Methods Chem.* **2018**, *2018*, 1. [Crossref]
30. Ferreira, S. L.; Caires, A. O.; Borges, T. D. S.; Lima, A. M.; Silva, L. O.; dos Santos, W. N.; *Microchem. J.* **2017**, *131*, 163. [Crossref]
31. Tobiszewski, M.; *Anal. Methods* **2016**, *8*, 2993. [Crossref]
32. Environmental Protection Agency, https://www.epa.gov/system/files/documents/2024-01/tri-chemical-list-changes-12-27-2023_0.pdf, acessado em Agosto 2024.