

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Luis Henrique Silva Vieira

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE EXTRAÇÃO DO HERBICIDA
FLORPIRAUXIFEN-BENZIL EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

Montes Claros – MG

2022

Luis Henrique Silva Vieira

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE EXTRAÇÃO DO HERBICIDA
FLORPIRAUXIFEN-BENZIL EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

VERSÃO FINAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Flaviano Oliveira
Silvério

Coorientador: Prof. Dr. Lázaro Chaves
Sicupira

Montes Claros – MG

2022

Vieira, Luis Henrique Silva.

V657o
2022

Otimização e validação de método de extração do herbicida florpírauxifen-benzil em amostras de água [manuscrito] / Luis Henrique Silva Vieira. Montes Claros, 2022. 54 f.:il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Flaviano Oliveira Silvério

Banca examinadora: Flaviano Oliveira Silvério, Paulo Henrique Fidêncio, Gevany Paulino de Pinho, Francine Souza Alves da Fonseca.

Inclui referências: Inclui referências: f. 23-29; 50-52.

1. Herbicidas -- Teses. 2. Águas residuais -- Teses. 3. Águas subterrâneas -- Purificação -- Teses. 4. Cromatografia líquida de alta eficiência -- Teses. I. Silvério, Flaviano Oliveira.. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.


CDU: 504

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 13 dias do mês de maio do ano de dois mil e vinte e dois, às 13:30 horas, sob a Presidência do Professor Flaviano Oliveira Silvério, D. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores Paulo Henrique Fidêncio, D. Sc. (UFVJM) e Gevany Paulino de Pinho, D. Sc. (UFMG/ICA) e; Francine Souza Alves da Fonseca, D. Sc. (UFMG/ICA) reuniu-se, por videoconferência, a Banca de Defesa de Dissertação de **LUIS HENRIQUE SILVA VIEIRA**, aluno do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. Após avaliação da defesa de Dissertação do referido aluno, a Banca Examinadora procedeu à publicação do resultado da defesa de Dissertação intitulada: “ **OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE EXTRAÇÃO DO HERBICIDA FLORPIRAUXIFEN-BENZIL EM AMOSTRAS DE ÁGUA**”, sendo o aluno considerado **APROVADO**. E, para constar, eu, Professor Flaviano Oliveira Silvério, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.


OBS.: O aluno somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 68 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Documento assinado digitalmente
 FLAVIANO OLIVEIRA SILVERIO
 Data: 27/05/2022 08:43:37-0300
 Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof Dr. Flaviano Oliveira Silvério


Orientador

Documento assinado digitalmente
 GEVANY PAULINO DE PINHO
 Data: 27/05/2022 08:51:44-0300
 Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profª Dra. Gevany Paulino de Pinho


Membro Interno

Montes Claros, 13 de maio de 2022.

Documento assinado digitalmente
 PAULO HENRIQUE FIDENCIO
 Data: 30/05/2022 13:56:25-0300
 Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof Dr Paulo Henrique Fidêncio

Membro Externo

Documento assinado digitalmente
 FRANCINE SOUZA ALVES DA FONSECA
 Data: 30/05/2022 13:06:46-0300
 Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dra. Francine Souza Alves da Fonseca

Membro Interno

Dedico este trabalho a quem sonhou juntamente comigo, em especial aos meus pais, que jamais pouparam esforços em me auxiliar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de poder lutar e concluir mais uma etapa em minha vida.

À Universidade Federal de Minas Gerais pelo custeio e pela infraestrutura disponibilizada para desenvolvimento deste projeto de pesquisa e, também, pela oportunidade de cursar o mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Aos Professores Flaviano e Lázaro, orientador e coorientador, respectivamente. Pelas imensas contribuições e auxílios durante esta caminhada.

Aos meus pais, Inês e Francisco, e a minha irmã Daniele, por sempre estarem ao meu lado e entenderem as diversas ausências em função do desenvolvimento deste trabalho.

As minhas colegas de trabalho e amigas, Ane e Érica, pelo auxílio, paciência, contribuições e por serem minhas estrelas guias durante as fases de execução do trabalho.

Otimização e validação de método de extração do herbicida florpirauxifen-benzil em amostras de água

RESUMO

Os herbicidas são grandes aliados na constante busca por uma maior produtividade agrícola mundial. Diante do cenário de muitos anos de uso indiscriminado e de forma errônea dos herbicidas, as plantas daninhas acabaram criando resistência a diversos dos compostos presentes no mercado. O Florpirauxifen-benzil é um herbicida sistêmico, da classe dos mimetizadores de auxina, utilizado em plantas daninhas infestantes em áreas de cultivo de arroz em sistemas alagados ou de sequeiro. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) autorizou a comercialização desse agrotóxico, entretanto não estabeleceu instruções com método de extração e quantificação de resíduos desse composto como forma de monitoramento ambiental. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar a extração líquido-líquido com purificação a baixa temperatura (ELL-PBT) para determinar o teor de florpirauxifen-benzil em amostras de água por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e avaliar a estabilidade do composto em água subterrânea. Na análise cromatográfica, os parâmetros de temperatura, tipo de coluna, comprimento de onda, composição e fluxo da fase móvel foram avaliados de modo univariado. A ELL-PBT foi otimizada por meio de experimento fatorial completo (2^3), tendo como fatores: fase extratora (8,0 mL de acetonitrila e 6,5 mL de acetonitrila+1,5 mL de acetato de etila), força iônica (0,0 e 0,1 g de NaCl) e tempo de congelamento (60 e 120 min). Nos experimentos realizados a recuperação variou de 95,84 a 105,4% com desvio padrão relativo menor que 1,5. A ELL-PBT foi seletiva, precisa, exata, linear na faixa de 4,00 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, e o limite de quantificação foi de 4,00 $\mu\text{g L}^{-1}$. O estudo de estabilidade do composto em água revelou sua degradação em 25 dias e DT_{50} em aproximadamente 5 dias. Foi possível otimizar e validar o método ELL-PBT acoplado ao HPLC-DAD sendo um método fácil e eficiente que pode ser utilizado no monitoramento do florpirauxifen-benzil em amostras de água.

Palavras-chave: herbicida; florpirauxifen-benzil; ELL-PBT; HPLC-DAD.

Optimization and validation of a method for extracting the herbicide florpyrauxifen-benzyl in water samples

ABSTRACT

The herbicides are great allies in the constant search for greater world agricultural productivity. Given the scenario of many years of indiscriminate and erroneous use of herbicides, weeds ended up creating resistance to several of the compounds present in the market. The florpyrauxifen-benzyl is a systemic herbicide, of the auxin mimetic class, used in weeds in rice cultivation areas in flooded or rainfed systems. The National Health Surveillance Agency (ANVISA) authorized the commercialization of this pesticide, however it did not establish instructions with a method of extraction and quantification of residues of this compound as a form of environmental monitoring. Therefore, the present study aimed to optimize and validate the liquid-liquid extraction with low temperature purification (LLE-LTP) to determine the florpyrauxifen-benzyl content in water samples by high performance liquid chromatography with array detection of diodes (HPLC-DAD) and evaluate the stability of the compound in groundwater. In the chromatographic analysis, the parameters of temperature, column type, wavelength, composition and flow of the mobile phase were evaluated in a univariate way. The LLE-LTP was optimized through a full factorial experiment (2^3), having as factors: extractor phase (8.0 mL of acetonitrile and 6.5 mL of acetonitrile + 1.5 mL of ethyl acetate), ionic strength (0.0 and 0.1 g of NaCl) and freezing time (60 and 120 min). In the experiments performed, the recovery ranged from 95.84 to 105.4% with a relative standard deviation of less than 1.5. The LLE-LTP was selective, precise, exact, linear in the range of 4.00 to 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, and the limit of quantification was 4.00 $\mu\text{g L}^{-1}$. The stability study of the compound in water revealed its degradation in 25 days and DT_{50} in approximately 5 days. It was possible to optimize and validate the LLE-LTP method coupled to HPLC-DAD, being an easy and efficient method that can be used in the monitoring of florpyrauxifen-benzyl in water samples.

Keywords: herbicide; florpyrauxifen-benzyl; LLE-LTP; HPLC-DAD.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

3 REVISÃO DE LITERATURA	14
Figura 1 - Dez países que mais utilizaram agrotóxicos no ano de 2019.....	15
Figura 2 - Classificação dos Herbicidas pelo modo de ação na planta	18
4 ARTIGO	30
4.1 Otimização e validação da ELL-PBT para determinação do teor de Florpirauxifen-benzil em amostras de água por HPLC-DAD.....	30
Figura 1. Espectro de absorção na região do ultravioleta da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹	39
Figura 2. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; fase móvel ACN:H ₂ O = 100:0; T = 30 °C; fluxo da fase móvel = 0,5 mL min ⁻¹ ; (a) λ = 210 nm; (b) λ = 243 nm; (c) λ = 250 nm; (d) λ = 260 nm.....	39
Figura 3. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; λ = 243 nm; T = 30 °C; fluxo da fase móvel = 0,5 mL min ⁻¹ ; (a) ACN:H ₂ O = 100:0; (b) ACN:H ₂ O = 80:20; (c) MeOH:H ₂ O = 100:0; (d) MeOH:H ₂ O = 90:10.....	40
Figura 4. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Condições cromatográficas: Poroshell column; λ = 243 nm; fase móvel ACN:H ₂ O = 100:0; T = 30 °C; fluxo da fase móvel = 1.0 mL min ⁻¹ (a); 0,5 mL min ⁻¹ (b) e 0,4 mL min ⁻¹ (c).....	41
Figura 5. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; λ = 243 nm; fase móvel ACN:H ₂ O = 100:0; fluxo da fase móvel = 0,4 mL min ⁻¹ ; (a) T = 30 °C; (b) T = 35°C.....	42
Figura 6. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Condições cromatográficas: λ = 243 nm; fase móvel ACN:H ₂ O = 100:0; fluxo da fase móvel = 0,5 mL min ⁻¹ ; T = 30 °C; Coluna Poroshell (a); Coluna Kinetex (b).....	42
Figura 7. Cromatograma da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L ⁻¹ . Coluna Poroshell, fase móvel ACN:H ₂ O = 100:0, T = 30 °C, λ = 243 nm, fluxo de fase móvel = 0,4 mL min ⁻¹	43
Figura 8. Porcentagens de recuperação de florpirauxifen-benzil na otimização da metodologia ELL-PBT. Barras seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste	

Duncan ao nível de 5% significância. 1 - 8,0 mL de ACNa, 0,0 g de NaCl e 60 min; 2 - 8,0 mL de ACN, 0,0 g de NaCl e 120 min; 3 - 8,0 mL de ACN, 0,1 g de NaCl e 60 min; 4 - 8,0 mL de ACN, 0,1 g de NaCl e 120 min; 5 - 6,5 mL ACN + 1,5 mL AEb, 0,0 g NaCl e 60 min; 6 - 6,5 mL de ACN + 1,5 mL de AE, 0,0 g de NaCl e 120 min; 7 - 6,5 mL de ACN + 1,5 mL de AE, 0,1 g de NaCl e 60 min; 8 - 6,5 mL ACN + 1,5 mL AE, 0,1 g NaCl e 120 min.	43
Figura 9. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo 2^3 (a linha vertical define o intervalo de confiança de 95%).	44
Figura 10. Superfície de resposta obtida para a interação da fase extratora (FE) e tempo de congelamento (TC).	45
Figura 11. Cromatogramas do extrato de matriz isento de analito (a) e do extrato de matriz fortificado com florniraxifen-benzil na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b).....	46
Figura 12. Gráficos obtidos no estudo da linearidade da ELL-PBT. Curvas analíticas das soluções de florniraxifen-benzil em solvente e extratos da matriz (a). Regressão linear dos resíduos após a exclusão dos valores extremos (Teste de Jackknife) (b). Probabilidade normal dos resíduos de regressão para o florniraxifen-benzil (c). Autocorrelação dos resíduos de regressão para o florniraxifen-benzil (d).....	47
Figura 13. Concentração média de florniraxifen-benzil em amostras de águas subterrâneas na presença de luz solar e na ausência de luz solar, por 35 dias.....	49

LISTA DE TABELAS

3 REVISÃO DE LITERATURA	14
Tabela 1 - Principais plantas daninhas de importância global	16
Tabela 2 – Estrutura química do Flornipiraxifen-benzil e suas características físico-químicas.....	20
4 ARTIGO	30
4.1 Otimização e validação da ELL-PBT para determinação do teor de Flornipiraxifen-benzil em amostras de água por HPLC-DAD.....	30
Tabela 1. Parâmetros cromatográficos avaliados na otimização de condições para a determinação de flornipiraxifen-benzil	35
Tabela 2. Parâmetros avaliados na ELL-PBT de flornipiraxifen-benzil em amostras de água e descrição do esquema fatorial (2 ³)	36
Tabela 3. Resultados da validação da metodologia ELL-PBT em amostras de águas	46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.1 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Agrotóxicos	14
3.2 Herbicidas	15
3.2.1 Classificação dos herbicidas	17
3.2.2 Mimetizadores de auxina	18
3.2.2.1 Flópirauxifen-benzil	19
3.3 Métodos de extração e análise de herbicidas	20
3.3.1 Extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura	21
3.4 Referências	23
4 ARTIGO	30
4.1 Otimização e validação da ELL-PBT para determinação do teor de Flópirauxifen-benzil em amostras de água por HPLC-DAD	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53

1 INTRODUÇÃO GERAL

No ano de 2019, o Ministério da Agricultura do Brasil inseriu o princípio ativo florpiauxifen-benzil no seu portfólio de agrotóxicos permitidos (BRASIL, 2019). Nessa perspectiva, é necessário a proposição de métodos analíticos para controle e monitoramento desses agrotóxicos nos alimentos e amostras ambientais (CAMPANALE *et al.*, 2021).

Este composto é um potente herbicida do grupo químico arilpicolinato, seletivo e pós-emergente indicado para plantas daninhas que atuam principalmente na cultura do arroz alagado (US EPA, 2017). A estrutura química do florpiauxifen-benzil é composto por um anel aromático 4-aminopiridina substituído (4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluor-3-metoxifenil)-5-fluor-piridina-2-benzil éster) (MILLER; NORSWORTHY, 2018).

Este herbicida é uma substância sintética, altamente específico e efetivo no controle de plantas daninhas do gênero *Hydrilla* na cultura do arroz (RICHARDSON; HAUG; NETHERLAND, 2016). De modo alternativo, esse composto pode ser utilizado com a mesma função em ambientes aquáticos (NETHERLAND; RICHARDSON, 2016).

Os métodos oficiais para o monitoramento do florpiauxifen-benzil são: a extração em fase sólida (SPE) para amostras de água e solo (US EPA, 2017) e o método QuEChERS (do inglês, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) em matrizes alimentares (EFSA, 2018). Após a extração, é recomendada a análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS/MS) (US EPA, 2017; EFSA, 2018). No entanto, essas metodologias demandam maiores consumos de reagentes, insumos e elevados custos de análise. Até o momento, a extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) não foi empregada para o monitoramento deste composto.

Esta técnica de extração se baseia na miscibilidade entre os solventes empregados e na partição que ocorre durante o tempo de congelamento (-20 °C), entre a fase aquosa e a fase orgânica do sistema (PINHO *et al.*, 2010), e se destaca por apresentar número reduzido de etapas de execução e volume reduzido de reagentes e solventes. Este método tem sido aplicado com sucesso para extração de diferentes compostos em matrizes como água (SICUPIRA *et al.*, 2019; FREITAS *et al.*, 2020), leite (VIEIRA; NEVES; QUEIROZ, 2007) e mel (PINHO *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2021).

Por isso, o objetivo neste trabalho foi otimizar e validar a ELL-PBT na extração do florpiauxifen-benzil com análise por HPLC-DAD em amostras de água e aplicar o método validado no estudo de estabilidade desse composto.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Otimizar a metodologia de extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) para o herbicida florigrauxifen-benzil em amostras de água e quantificar por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD).

2.2 Objetivos específicos

- Otimizar as condições de análise do florigrauxifen-benzil por HPLC-DAD;
- Otimizar a metodologia ELL-PBT;
- Validar a metodologia ELL-PBT em termos das figuras de método seletividade, linearidade, limites de quantificação e detecção, precisão, exatidão e efeito de matriz;
- Avaliar a estabilidade do florigrauxifen-benzil, sob condições ambientais, em amostras de água subterrânea.

3 REVISÃO DE LITERATURA

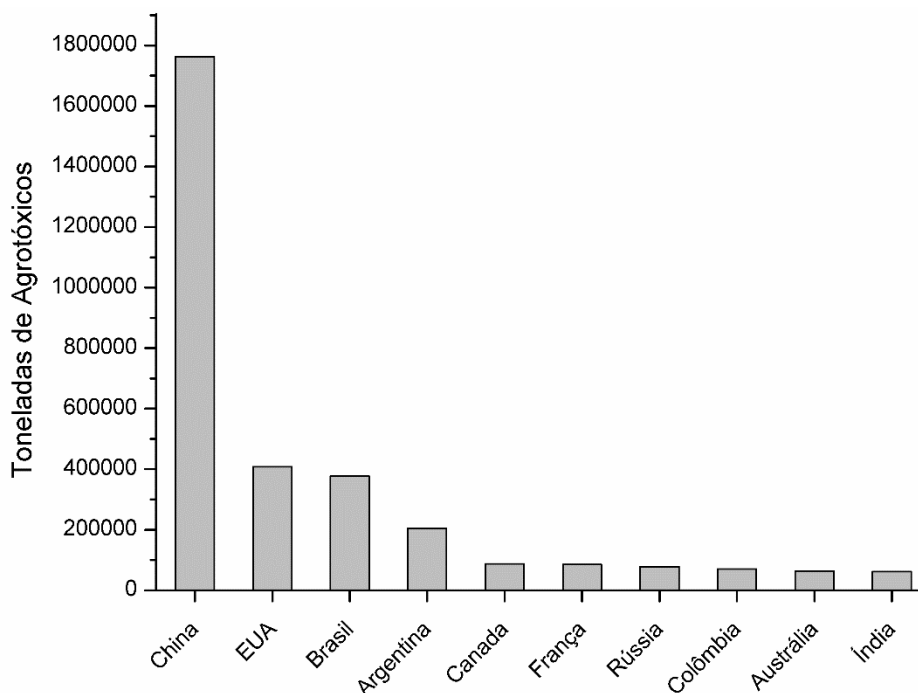
3.1 Agrotóxicos

Os agrotóxicos são definidos como substâncias químicas utilizadas no controle, prevenção ou destruição, de forma direta ou indireta, de agentes patogênicos para plantas, animais e às pessoas (LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). No Brasil, os agrotóxicos foram introduzidos em meados dos anos 60 durante a Revolução Verde, que tinha como ideal a ampliação da produtividade agrícola sendo incentivado seu uso pelo Programa Nacional de Defensivos Agrícolas (PNDA) (JOBIM *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2011; SIQUEIRA *et al.*, 2013).

O Brasil possui grande parte do seu produto interno bruto (PIB) baseado no setor do agronegócio, sendo este um grande consumidor de sementes transgênicas e insumos químicos, como os fertilizantes e agrotóxicos (PIGNATI *et al.*, 2017). Dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, mostram que a cada ano o uso de agrotóxicos vem crescendo, tendo sua quantidade praticamente triplicada entre 2000 e 2018 (IBAMA, 2021).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, do inglês, “Food and Agriculture Organization of the United Nations”) elaborou um levantamento sobre a utilização mundial de agrotóxicos (FAO, 2019). Parte deste estudo é apresentado na Figura 1, que revela os dez países que mais utilizaram agrotóxicos no ano de 2019, segundo os dados apresentados pela organização.

Figura 1 – Dez países que mais utilizaram agrotóxicos no ano de 2019



EUA = Estados Unidos da América

Fonte: Adaptado de FAO (2019).

Como pode ser observado na Figura 1, o Brasil ocupou o terceiro lugar no ranking mundial de maior quantidade de uso de agrotóxicos no ano de 2019, com uma média de aproximadamente 377.000 toneladas de ingredientes ativos (FAO, 2019).

O aumento expressivo no consumo de agrotóxicos pelo Brasil e sua manutenção entre os países que mais utilizam desses produtos, pode ser também explicado pelo custo irrisório para registro de produtos na Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) e a isenção, na maioria dos estados, do ICMS sobre produtos desse tipo (SOARES; PORTO, 2012). Ademais, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, no ano de 2019, autorizou 470 novos registros de Ingredientes Ativos (IAs), quando comparamos o ano de 2005 ao ano de 2019, esses dados apresentam um aumento de 5 vezes no número de autorizações de comercialização (MAPA, 2020).

3.2 Herbicidas

Os herbicidas são definidos como compostos que possuem atividade biológica importante para a cadeia produtiva de alimentos (STEPHENSON *et al.*, 2006). Na década de 1940 o número de herbicidas disponíveis no mercado era muito baixo, cerca de 17 produtos sintéticos, e por volta de 1970 foi quando houve um aumento no desenvolvimento de herbicidas, sua disponibilização no mercado, com novas estruturas químicas e também a combinação de

ingredientes ativos já existentes com novos nomes comerciais (LEIN *et al.*, 2004; MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008).

A infestação por plantas daninhas é um dos fatores que mais trazem prejuízos aos campos de cultivos, sendo que estes problemas podem variar de uma simples queda na produtividade da área cultivada, até a perda total de uma área de lavoura ocasionando elevados prejuízos econômicos (FONTES, 2003).

A Tabela 1 apresenta as principais plantas daninhas com importância global, que podem causar prejuízos aos sistemas produtivos agrícolas.

Tabela 1 - Principais plantas daninhas de importância global

Nome científico	Nome comum	Cultura afetada
<i>Conyza bonariensis</i> <i>Conyza canadensis</i>	Buva ou voadeira	Soja, Algodão e Milho
<i>Amaranthus retroflexus</i>	Caruru	Arroz, Milho e Soja
<i>Echinochloa sp.</i>	Capim-arroz	Arroz
<i>Cyperus rotundus</i>	Tiririca	Arroz e Milho
<i>Ipomoea sp</i>	Corda-de-viola	Arroz
<i>Brachiaria plantaginea</i>	Papuã	Arroz
<i>Euphorbia heterophylla</i>	Leiteira	Arroz
<i>Bidens pilosa</i>	Picão-preto	Arroz, Milho e Soja

Fontes: SOUSA *et al.* (2011), PANNACCI *et al.* (2015) e GIRALDELI *et al.* (2018).

A resistência de plantas daninhas a herbicidas é definida como a capacidade de alguns biótipos de uma certa população sobreviverem a aplicação de um ou mais tipos de herbicidas, em condições normais, mesmo quando letais a outros biótipos desta mesma população (OLIVEIRA; CONSTANTIN; INQUE, 2011). Esse efeito de resistência tem levado os pesquisadores a buscarem o desenvolvimento de novas moléculas ativas, exploração de moléculas ativas em extratos de plantas ou em caldos fermentados de microorganismos, bem como a modificação química de compostos (BAQUE *et al.*, 2012; HINZ *et al.*, 2014; BAJWA *et al.*, 2016).

No Brasil, até o ano de 2018 foram registrados 48 casos de resistência de plantas daninhas aos produtos que possuem registro no país (GIRALDELI *et al.*, 2018). O mau uso e/ou o indiscriminado desses produtos de controle, podem favorecer o surgimento de plantas resistentes, bem como resultar em efeitos tóxicos e danosos ao homem e ao meio ambiente (CHOU, 2010; VIEIRA *et al.*, 2017).

3.2.1 Classificação dos herbicidas

O conhecimento a respeito do funcionamento dos herbicidas auxilia na definição do uso dos mesmos, ajuda no diagnóstico de problemas com seu desempenho e com a sua relação com os sintomas de injúrias causados (MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008).

A classificação dos herbicidas pode ser feita de diversas maneiras tendo em consideração o espectro de ação, em referência ao grupo de plantas que o herbicida controla; a seletividade, sendo a capacidade do produto de não matar a planta; a época de aplicação, podendo ser um produto de pré ou pós-emergência; a translocação na planta; o caráter iônico; e ao mecanismo de ação, sendo o sítio de ação do herbicida (CARVALHO, 2013).

O Comitê Global de Ação para Resistência a Herbicidas (do inglês "*Global Herbicide Resistance Action Committee*" - HRAC), classifica os herbicidas conforme a inibição da proteína das plantas, ou seja, o local de ação, e ainda quando possível, agrupá-los em diferentes classes químicas (BEFFA; MENNE; KÖTCHER, 2019).

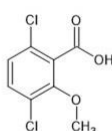
Na Figura 2 são apresentadas as 15 classes dos herbicidas de acordo com o mecanismo de ação nas plantas, bem como a subdivisão do grupo químico em que o florpiauxifen-benzil está inserido.

Figura 2 - Classificação dos Herbicidas pelo modo de ação na planta

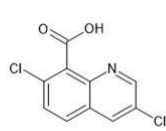
Herbicidas	Classificação por mecanismo de ação	Classe	Mecanismo de ação
		A	Inibidores da Acetil CoA carboxilase (ACCase)
		B	Inibidores da Acetolactato sintase (ALS)
		C1/C2	Inibição da fotossíntese no fotossistema II – Acopladores da D1 serina 264
		C3	Inibição da fotossíntese no fotossistema II – Acopladores da D1 histidina 215
		D	Inibição da fotossíntese no fotossistema I (PSI) – Desvio de elétrons
		E	Inibidores da Protoporfirinogênio oxidase (PPO/PROTOX)
		F2	Inibidores da Hidroxifenil Piruvato Dioxigenase (HPPD)
		F4	Inibidores da Deoxi-D-Xilulose Fosfato (DOXP) sintase
		G	Inibidores da Enol Piruvil Shiquimato Fosfato Sintase (EPSP sintase)
		H	Inibidores da glutamina sintetase
		I	Inibidores da síntese de dihidropteroato (DHP)
		K1	Inibidores da formação de microtúbulos
		K3	Inibidores da síntese de ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFAs)
		L	Inibidores da síntese de celulose
O	Mimetizadores de auxina		
Z	Desconhecido		

Subdivisão da classe O:

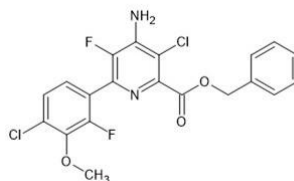
Benzoato



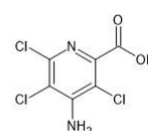
Fenoxicarboxilatos



Piridinacarboxilato



Quinolinacarboxilato



Fonte: Adaptado de Comitê de Ação a Resistência aos Herbicidas (2022).

3.2.2 Mimetizadores de auxina

Os herbicidas classificados como mimetizadores de auxina, ou auxina sintéticas (SAHs, sigla em inglês), são pertencentes ao grupo “O” de classificação da HRAC e atuam para mimetizar o hormônio natural que ocorre nas plantas, o ácido indol-3-acético (IAA) (BUSI *et al.*, 2018). O 2,4-D, principal e o primeiro herbicida a ser relatado nessa classe, sendo muito utilizado na agricultura desde sua descoberta por volta de 1940 (PETERSON *et al.*, 2016).

A ação de controle das plantas daninhas por meio das auxinas sintéticas dar-se-á ao fato de que com o aumento da concentração das mesmas, estas tornam-se fitotóxicas, pois as plantas não possuem mecanismos de rápido controle das auxinas sintéticas quando em comparação com as auxinas naturais. Com efeito o grande aumento desses compostos induz uma reação generalizada de estímulo a auxina natural causando lesões e a morte da planta (GROSSMANN, 2010; QUARESHY *et al.*, 2018).

Os SAHs estão subdivididos de acordo com seus grupos químicos, sendo eles: ácidos fenoxicarboxílicos, ácidos benzoicos, ácido piridinacarboxílicos, ácidos piridiloxicarboxílicos, ácidos quinolinocarboxílicos, ácido piramidinacarboxílicos e arilpicolinatos (BUSI *et al.*, 2018).

Há relatos de resistência a todos os modos de ação dos herbicidas descritos na Figura 2 (DÉLYE; JASIENIUK; LE CORRE, 2013). No caso do 2,4-D, principal herbicida da classe dos mimetizadores de auxinas, há relatos de que 32 espécies de plantas daninhas apresentaram resistências entre os anos de 1957 e 2016 (GOGGIN; CAWTHRAY; POWLES, 2016).

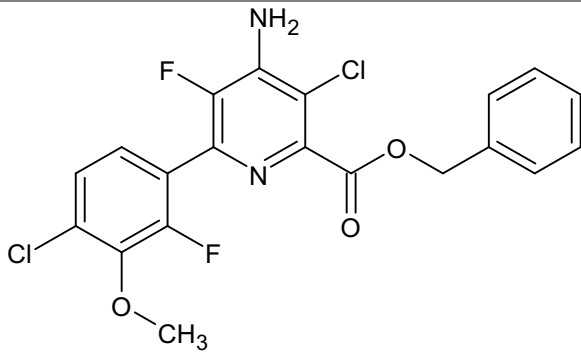
Grupos de estudos e empresas, a fim de conseguir suprir o aumento das espécies resistentes aos herbicidas presentes no mercado, buscam desenvolver novos compostos de herbicidas, bem como novas modos de ação de herbicidas (QUARESHY *et al.*, 2018). Pesquisas recentes desenvolveram dois novos compostos ativos da subclasse dos arilpicolinatos, demonstrando que, apesar de mais de 70 anos de estudos sobre os SAHs, ainda não se esgotaram e que podem ser fonte de novos resultados de interesse científico (EPP *et al.*, 2016).

3.2.2.1 Florpirauxifen-benzil

Florpirauxifen-benzil é um novo herbicida químico da classe das auxinas sintéticas, desenvolvido pela empresa Dow AgroSciences, para controle de pós-emergência em plantios alagados de arroz (DUY *et al.*, 2018; EPP *et al.*, 2016). Esse herbicida apresenta eficiência no combate a plantas daninhas dicotiledôneas e monocotiledôneas (EPP *et al.*, 2016).

Esse composto pertencente a classe O, subclasse química dos piridinacarboxilatos/arilpicolinatos (Tabela 2), além disso, é descrito pela ANVISA como medianamente tóxico e não possui classificação carcinogênica pela IARC (International Agency for Research on Cancer) (BEFFA; MENNE; KÖTCHER, 2019; BRASIL, 2020; IARC, 2022). O florpirauxifen-benzil apresenta uma taxa de aplicação que varia de 20-25 g ia ha⁻¹ e de 5-50 µg L⁻¹ em ambientes aquáticos, o herbicida 2,4-D, que está inserido na mesma subclasse química, apresenta taxas de aplicação de 500-800 g ia ha⁻¹ e de 2000-4000 µg L⁻¹ em ambientes aquáticos (RAUZAN; LORSBACH, 2021).

Tabela 2 – Estrutura química do florpiauxifen-benzil e suas características físico-químicas

Florpiauxifen-benzil	
Fórmula Molecular	C ₂₀ H ₁₄ Cl ₂ F ₂ N ₂ O ₃
Massa molar	439,2 g mol ⁻¹
Solubilidade em água	0,015 mg L ⁻¹
Coefficiente de partição do contaminante na fração orgânica do solo (K _{oc})	32308 mg L ⁻¹
Constante de partição octanol/água (Log K _{ow})	5,46

Fonte: Adaptado de MILLER; NORSWORTHY, 2018 e ASSUNÇÃO *et al.*, 2020.

Em sua estrutura química, o florpiauxifen-benzil é composto por um anel aromático 4-aminopiridina substituído (4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluor-3-metoxifenil)-5-fluor-piridina-2-benzil éster) que compartilha muitas características com halauxifen-metil, um ingrediente ativo em muitos novos produtos herbicidas (MILLER; NORSWORTHY, 2018). Sua estrutura simula ação de hormônios endógenos e causa uma desordem hormonal no sistema vegetal, ocasionando sérios danos ao crescimento, desenvolvimento e, conseqüentemente, a morte da planta (GROSSMANN, 2000).

No Brasil, o florpiauxifen-benzil teve sua liberação de comercialização deferida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por meio do Ato nº 42 de 19 de junho de 2019 (BRASIL, 2019). O índice monográfico F71 da ANVISA indica a aplicação de pós-emergência para a cultura do arroz, com intervalo de segurança de 60 dias, e aplicação de pré-emergência para as culturas do milho e soja (BRASIL, 2020).

3.3 Métodos de extração e análise de herbicidas

Para a extração de agrotóxicos em amostras ambientais são utilizados diferentes métodos e técnicas de análise. A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês, “*Dispersive liquid-liquid microextraction*”) vem se tornando uma alternativa à clássica extração líquido-líquido pela diminuição drástica do consumo dos solventes orgânicos envolvidos no procedimento (LASARTE-ARAGONÉS *et al.*, 2015). Outro exemplo é a microextração em fase líquida e o congelamento de solvente eutético profundo (LPME-FDES, do inglês, “*liquid-phase*”

microextraction and the freezing of deep eutectic solvent") que foi utilizada na extração de agrotóxicos em amostras de água ambiental, com método de homogeneização utilizando-se vórtex e posterior análise por meio de HPLC-UV (do inglês, "*high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection*") (PIRSAHEB; FATTAHI, 2018).

Outro método utilizado na extração de herbicidas, chamada de extração por barra de adsorção (SBSE, do inglês, "*stir bar sorptive extraction*") foi utilizada com êxito na extração de triazinas em amostras aquosas (LEI *et al.*, 2017).

A microextração com sorvente empacotado e análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (HPLC-MS/MS) foi utilizada em trabalho de extração e quantificação de seis herbicidas de triazina (JIANG *et al.*, 2018).

O método QuEChERS (do inglês, "*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*") em seu próprio nome apresenta suas principais características de ser um método rápido, fácil, barato, efetivo, robusto e seguro, sendo desenvolvido e descrito por Anastassiades *et al.* (2003). O método QuEChERS vem sendo alvo de inúmeros estudos e melhorias, de acordo com as necessidades dos analitos e técnicas a serem utilizadas na análise.

A extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura vem sendo utilizada como uma vertente dos estudos de extração de pesticidas em amostras de mel (FREITAS *et al.*, 2021; PINHO *et al.*, 2010), leite (GOULART *et al.*, 2008) e água (FREITAS *et al.*, 2020; SICUPIRA *et al.*, 2019; VIEIRA; NEVES; QUEIROZ, 2007). E a análise por GC-ECD (do inglês, "*gas chromatography coupled with electron capture detector*") (PINHO *et al.*, 2010; GOULART *et al.*, 2008; VIEIRA; NEVES; QUEIROZ, 2007) e por HPLC-DAD (do inglês, "*high performance liquid chromatography with diode arrangement detector*") (FREITAS *et al.*, 2021; FREITAS *et al.*, 2020; SICUPIRA *et al.*, 2019).

Na literatura não há estudos de otimização de métodos para extração e análise de florpiauxifen-benzil em amostras ambientais. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América tem recomendado a extração em fase sólida para amostras de água, e análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com ionização positiva por electrospray para o composto florpiauxifen-benzil (LC-ESI-MS/MS) (US EPA, 2016).

3.3.1 Extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura

A extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) apresenta-se como método de extração de contaminantes químicos em diversas matrizes tais como água (VIEIRA; NEVES; QUEIROZ, 2007; GOULART *et al.*, 2010; SICUPIRA *et al.*, 2019; FREITAS *et al.*, 2020), mel (PINHO *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2021), leite (ANDRADE; DA SILVA; CALDAS, 2013; REGO *et al.*, 2015), azeite de dendê (SOBHANZADEH; NEMAT, 2013), urina humana (MAGALHÃES *et al.*, 2012) e tomate (RODRIGUES *et al.*, 2017). Ao se utilizar amostras sólidas, a técnica passa a ser denominada extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (MESQUITA *et al.*, 2018).

A ELL-PBT é baseada na miscibilidade entre os solventes empregados e na partição que ocorre durante o tempo de congelamento (-20 °C), entre a fase aquosa e a fase orgânica do sistema (PINHO *et al.*, 2010). Em geral, nesta condição, os interferentes permanecem na fase congelada do sistema e os analitos se encontram na fase orgânica que permanece líquida, e pode ser coletada (RÜBENSAM *et al.*, 2013).

Esse procedimento apresenta-se como um método promissor, sendo simples, eficiente, reduzindo a quantidade de solventes utilizados e etapas de manipulação, além de não exigir etapas extras de purificação dependendo da matriz empregada (LOPES *et al.*, 2011).

Os parâmetros que são geralmente modificados nos estudos sobre a ELL-PBT são a composição da fase extratora, o tempo de congelamento do sistema e adição de sais (SILVÉRIO *et al.*, 2012)

Quanto a composição da fase extratora, a acetonitrila vem sendo o solvente orgânico com maior empregabilidade na técnica (SILVÉRIO *et al.*, 2012). Proporções de outros solventes orgânicos também são estudados como variáveis de otimização do método, pois promovem a alteração da polaridade da mistura podendo favorecer o percentual de recuperação dos analitos (PINHO *et al.*, 2010).

O tempo de congelamento do método é um dos fatos passíveis de otimização durante os experimentos. Trabalho anteriores relataram o uso de 6 horas de congelamento da amostra (PINHO *et al.*, 2010), fazendo a técnica se tornar muito demorada. Tempos de congelamento inferiores são relatados por Silvério *et al.* (2012), com 30 min de congelamento usando acetonitrila contendo sal e tempo de 60 min de congelamento usando como fase extratora a acetonitrila sem a adição de sal.

A adição de sais ao sistema de extração pode promover alterações na eficiência da extração por meio do efeito *salting out* (RUDAKOV *et al.*, 2016). O efeito *salting out* ocorre tendo em vista que a adição de um sal ao sistema promove o aumento ou diminuição na solvatação do analito na fase aquosa do sistema (DUARTE; MALAQUIAS, 2020), devendo o sistema de extração permanecer com um sistema único entre as fases aquosa e orgânica (SILVÉRIO *et al.*, 2012).

3.4 Referências

ANASTASSIADES, M. *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC international**, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.

ANDRADE, P. D.; DA SILVA, J. L. G.; CALDAS, E. D.. Simultaneous analysis of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and ochratoxin A in breast milk by high-performance liquid chromatography/fluorescence after liquid–liquid extraction with low temperature purification (LLE–LTP). **Journal of Chromatography A**, v. 1304, p. 61-68, 2013.

ASSUNÇÃO, T. O. G. *et al.* Novos agrotóxicos e o padrão de potabilidade da água: dinâmica ambiental e riscos à saúde. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, v. 17, n. 2020, 2020.

BAJWA, A. A. *et al.* Biology and management of two important Conyza weeds: a global review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 24, p. 24694-24710, 2016.

BAQUE, M. A. *et al.* Production of biomass and useful compounds from adventitious roots of high-value added medicinal plants using bioreactor. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 1, p. 1255-1267, 2012.

BEFFA, R.; MENNE, H.; KÖCHER, H.. Herbicide resistance action committee (HRAC): herbicide classification, resistance evolution, survey, and resistance mitigation activities. **Modern crop protection compounds**, v. 1, p. 5-32, 2019.

BRASIL. Ato Nº 42, de 19 de junho de 2019. Brasília: **DOU Diário Oficial da União**. Publicado no D.O.U de 24 de junho de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Índice Monográfico F71: Flornipiraxifen-benzil**. Resolução RE nº 2.035 de 18/06/2020 (DOU de 22/06/2020).

BUSI, R. *et al.* Weed resistance to synthetic auxin herbicides. **Pest management science**, v. 74, n. 10, p. 2265-2276, 2018.

CAMPANALE, Claudia *et al.* The monitoring of pesticides in water matrices and the analytical criticalities: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 144, p. 116423, 2021.

CARVALHO, L. B. **Herbicidas**. Editado pelo autor, Lages, SC, 2013.

CHOU, C. H. Role of allelopathy in sustainable agriculture: Use of allelochemicals as naturally occurring bio-agrochemicals. **Allelopathy Journal**, v. 25, n. 1, p. 3-16, 2010.

DÉLYE, C.; JASIENIUK, M.; LE CORRE, V.. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. **Trends in Genetics**, v. 29, n. 11, p. 649-658, 2013.

DUARTE, L. O.; MALAQUIAS, K. S.. Extração líquido-líquido assistida por salting out da cafeína em amostras urina por cromatografia a gás. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 46549-46559, 2020.

DUY, L. *et al.* Efficacy of Rinskor™ (florpyrauxifen-benzyl ester) on Herbicide Resistant Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Rice Fields of Mekong Delta, Vietnam. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 75–81, 2018.

EFSA. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance florpyrauxifen (variant assessed florpyrauxifen-benzyl). **European Food Safety Authority Journal**, 16(8), 5378, 2018. Disponível em: doi: 10.2903/j.efsa.2018.5378. Acesso em: 02 jun. 2022.

EPP, J. B. *et al.* The discovery of Arylex™ active and Rinskor™ active: two novel auxin herbicides. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 24, n. 3, p. 362-371, 2016.

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Pesticides use. 2019. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/EP>. Acesso em: 11 mar. 2022.

FONTES, J. R. A. Manejo Integrado de Plantas Daninhas. **Documentos 113**. Planaltina. 2003.

FREITAS, L. V. P. *et al.* Optimization and Validation of LLE-LTP and QuEChERS Methodologies for Determining 2, 4-D in Water Samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1898-1907, 2020.

FREITAS, L. V. P. *et al.* Determination of DDT in honey samples by liquid–liquid extraction with low-temperature purification (LLE-LTP) combined to HPLC-DAD. **Analytical Methods**, v. 13, n. 16, p. 1955-1964, 2021.

GIRALDELI, A. L. *et al.* Manejo de plantas daninhas eudicotiledôneas na entressafra. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 7, n. 1, p. 205-212, 2018.

GOULART, S. M. *et al.* Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1320-1323, 2008.

GOULART, S. M. *et al.* Optimization and validation of liquid–liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, n. 1-2, p. 41-47, 2010.

GOGGIN, D. E.; CAWTHRAY, G. R.; POWLES, S. B. 2, 4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport. **Journal of experimental botany**, v. 67, n. 11, p. 3223-3235, 2016.

GROSSMANN, K.. Mode of action of auxin herbicides: a new ending to a long, drawn out story. **Trends in plant science**, v. 5, n. 12, p. 506-508, 2000.

GROSSMANN, K.. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 66, n. 2, p. 113-120, 2010.

HINZ, H. L. *et al.*. Successes we may not have had: a retrospective analysis of selected weed biological control agents in the United States. **Invasive Plant Science and Management**, v. 7, n. 1, p. 565-579, 2014.

IARC – International Agency for Research on Cancer. Agentes classificados pelas Monografias da IARC, Volumes 1–131. Disponível em: <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>. Acesso em 25 mai. 2022.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (2021). Relatórios de comercialização de agrotóxicos. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594. Acesso em 11 mar. 2022.

JIANG, Y. *et al.* Application of metal-organic framework MIL-101 (Cr) to microextraction in packed syringe for determination of triazine herbicides in corn samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1574, p. 36-41, 2018.

JOBIM, P.F.C. *et al.* Existe uma associação entre mortalidade por câncer e uso de agrotóxicos? Uma contribuição ao debate. **Ciênc. Saúde Colet.** 2010; 15(1):277-288.

LASARTE-ARAGONÉS, G. *et al.* Use of switchable hydrophilicity solvents for the homogeneous liquid–liquid microextraction of triazine herbicides from environmental water samples. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 6, p. 990-995, 2015.

LEI, Yun *et al.* Polydimethylsiloxane/MIL-100 (Fe) coated stir bar sorptive extraction-high performance liquid chromatography for the determination of triazines in environmental water samples. **Talanta**, v. 175, p. 158-167, 2017.

LEIN, W. *et al.* Target-based discovery of novel herbicides. **Current opinion in plant biology**, v. 7, n. 2, p. 219-225, 2004.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C.. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

LOPES, R. P. *et al.* Development and validation of a methodology to qualitatively screening veterinary drugs in porcine muscle via an innovative extraction/clean-up procedure and LC-MS/MS analysis. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 28, n. 12, p. 1667-1676, 2011.

MAGALHÃES, E. J. *et al.* Fast determination of benzodiazepines in human urine via liquid-liquid extraction with low temperature partitioning and LC-HRMS. **American Journal of Analytical Chemistry**, 3, 118-124, 2012.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2020). Portal de Dados Abertos Sobre Agrotóxicos. Disponível em: . Acesso em: 11 mar. 2022.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G.. Herbicidas: mecanismos de ação e uso. **Embrapa Cerrados-Documentos (INFOTECA-E)**, 2008.

MESQUITA, T. C. R. *et al.* Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low temperature. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 53, n. 3, p. 199-206, 2018.

MILLER, M. R.; NORSWORTHY, J. K. Influence of soil moisture on absorption, translocation, and metabolism of floryprauxifen-benzyl. **Weed Science**, v. 66, n. 4, p. 418-423, 2018.

MILLER, M. R.; NORSWORTHY, J. K. Assessment of floryprauxifen-benzyl potential to carryover to subsequent crops. **Weed Technology**, v. 32, n. 4, p. 404-409, 2018.

NETHERLAND, M. D.; RICHARDSON, R. J. Evaluating sensitivity of five aquatic plants to a novel arylpicolinate herbicide utilizing an organization for economic cooperation and development protocol. **Weed Science**, v. 64, n. 1, p. 181-190, 2016.

OLIVEIRA, J. R. R. S.; CONSTANTIN, J.; INQUE, M. H. Resistência de plantas daninhas. In: **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba, Eds. 2011, p. 362.

PANNACCI, E. *et al.*. Allelopathic potential of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) to control the Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) in winter wheat. **Allelopathy Journal**, v. 36, n. 2, p. 257-272, 2015.

PETERSON, M. A. *et al.* 2, 4-D past, present, and future: a review. **Weed Technology**, v. 30, n. 2, p. 303-345, 2016.

PIGNATI, W. A. *et al.*. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a vigilância em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, 22 (10), p. 3281-3293, 2017.

PINHO, G. P. *et al.*. Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. **Food control**, v. 21, n. 10, p. 1307-1311, 2010.

PIRSAHEB, M.; FATTAHI, N.. Development of a liquid-phase microextraction based on the freezing of a deep eutectic solvent followed by HPLC-UV for sensitive determination of common pesticides in environmental water samples. **RSC advances**, v. 8, n. 21, p. 11412-11418, 2018.

QUARESHY, M. *et al.* A cheminformatics review of auxins as herbicides. **Journal of experimental botany**, v. 69, n. 2, p. 265-275, 2018.

RAUZAN, B. M.; LORSBACH, B. A. Designing Sustainable Crop Protection Actives. In: **Crop Protection Products for Sustainable Agriculture**. American Chemical Society, 2021. p. 1-9.

REGO, E. C. P. *et al.* The validation of a new high throughput method for determination of chloramphenicol in milk using liquid–liquid extraction with low temperature partitioning (LLE-LTP) and isotope-dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry (ID-LC-MS/MS). **Analytical Methods**, v. 7, n. 11, p. 4699-4707, 2015.

RICHARDSON, R. J.; HAUG, E. J.; NETHERLAND, M. D. Response of seven aquatic plants to a new aryloxyacetic herbicide. **Journal of Aquatic Plant Management**, v. 54, p. 26-31, 2016.

RODRIGUES, A. AZ *et al.* Pesticide residue removal in classic domestic processing of tomato and its effects on product quality. **Journal of environmental science and health, part b**, v. 52, n. 12, p. 850-857, 2017.

RÜBENSAM, G. *et al.* Determination of avermectin and milbemycin residues in bovine muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection using solvent extraction and low temperature cleanup. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 55-60, 2013.

RUDAKOV, O. B. *et al.* Low-temperature liquid–liquid extraction of phenols from aqueous solutions with hydrophilic mixtures of extractants. **Russian Journal of physical chemistry A**, v. 90, n. 8, p. 1665-1668, 2016.

SICUPIRA, L. C. *et al.* Simultaneous determination of 2, 3, 7, 8-TCDD and 2, 3, 7, 8-TCDF in water samples by LLE-LTP and HPLC-DAD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 1284-1292, 2019.

SILVÉRIO, F. O. *et al.* Análise de agrotóxicos em água usando extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2052–2056, 2012.

SIQUEIRA, D.F. *et al.* Análise da exposição de trabalhadores rurais a agrotóxicos. **Rev. Bras. Prom. Saúde**. 2013; 26(2):182-191.

SOARES, W.I.; PORTO, M.F.S. Uso de agrotóxicos e impactos econômicos sobre a saúde. **Rev. Saúde Pública**. 2012; 46(2):209-217.

SOBHANZADEH, E.; NEMATI, K.. Liquid-liquid extraction/low-temperature purification (LLE/LTP) followed by dispersive solid-phase extraction (d-SPE) cleanup for multiresidue analysis in palm oil by LC-QTOF-MS. **Journal of Chemistry**, v. 2013, 2013.

SOUZA, A. *et al.* Avaliação do impacto da exposição a agrotóxicos sobre a saúde de população rural: Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. **Brasil. Ciênc. Saúde Colet**. 2011; 16(8):3519-3528.

SOUSA, S. F. G. *et al.* Efeito da utilização de extratos vegetais sobre a germinação de três espécies de plantas espontâneas. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 18, n. 1, p. 29-33, 2011.

STEPHENSON, G. R. *et al.* Glossary of terms relating to pesticides (IUPAC Recommendations 2006). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 2075-2154, 2006.

TUDI, Muyaiaier *et al.* Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. **International journal of environmental research and public health**, v. 18, n. 3, p. 1112, 2021.

US EPA. United States Environmental Protection Agency; Method Validation Study for the Determination of Residues of XDE-848 Benzyl Ester and Three Metabolites (X11438848, X12300837 and X11966341) in Soil and Sediment by Liquid Chromatography with Tandem Mass;

2017. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-09/documents/ecm_-_florpyrauxifen-benzyl_degradates_in_soil_-_mrid_49677775.pdf. Acesso em 02 jun. 2022.

US EPA. United States Environmental Protection Agency (USEPA); Final Registration Decision on the New Active Ingredient Florpyrauxifen-benzyl; 2017. Disponível em: <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2016-0560-0065>. Acesso em 02 mar. 2022.

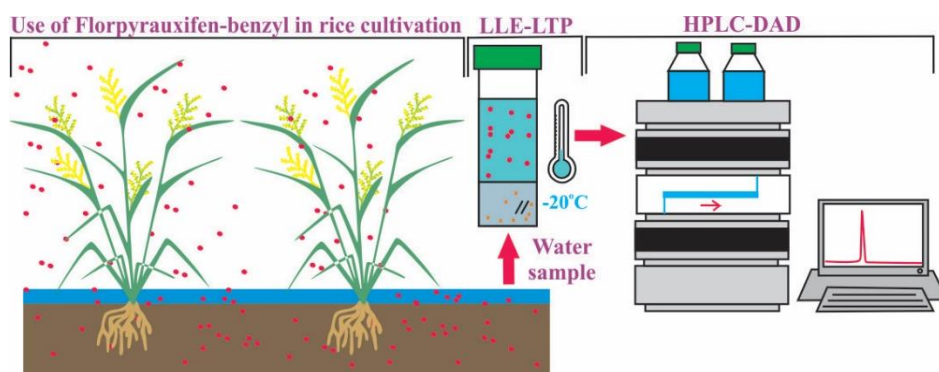
VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.. Optimization and validation of liquid-liquid extraction with the low temperature partition technique (LLE-LTP) for pyrethroids in water and GC analysis. **Química Nova**, v. 30, p. 535-540, 2007.

VIEIRA, M. G. *et al.*. Evaluation of Pesticide Contamination in the Water Sources of Southwest Parana Cities. **Revista Virtual de Química**, 9 (5), p. 1800-1812, 2017.

4 ARTIGO

4.1 Otimização e validação da ELL-PBT para determinação do teor de Florpirauxifen-benzil em amostras de água por HPLC-DAD

Este artigo foi elaborado conforme as normas do periódico “Journal of Environmental Science and Health, Part B”.



O resumo gráfico representa a metodologia ELL-PBT combinada com HPLC-DAD utilizada no presente estudo.

**Otimização e validação da ELL-PBT para determinação do teor de Florpirauxifen-benzil
em amostras de água por HPLC-DAD**

Luís H. S. Vieira^a, Lázaro C. Sicupira^b, Ane P. Cacique^a and Flaviano O. Silvério^{1,a}

*^a Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, 39404-547, Montes
Claros, Minas Gerais, Brasil*

*^b Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia, Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri, 39447-790, Janaúba, Minas Gerais, Brasil*

*Autor para correspondência

E-mail: flavianosilverio@ufmg.br (F. O. Silvério)

Resumo

O florigrauxifen-benzil é um herbicida sistêmico, que atua sobre plantas daninhas de ocorrência comum em áreas de cultivo de arroz em sistemas alagados ou de sequeiro. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) autorizou a comercialização desse agrotóxico, mas não estabeleceu diretrizes com método de extração e quantificação de resíduos desse composto como forma de monitoramento ambiental. Portanto, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar a extração líquido-líquido com purificação a baixa temperatura (ELL-PBT) para determinar o teor de florigrauxifen-benzil em amostras de água por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e avaliar a estabilidade desse composto em água. A recuperação variou de 95,84 a 105,4% com desvio padrão relativo menor que 1,5. A ELL-PBT foi seletiva, precisa, exata, linear na faixa de 4,00 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, e o limite de quantificação foi de 4,00 $\mu\text{g L}^{-1}$. O estudo de estabilidade do composto em água revelou sua degradação em 25 dias e DT_{50} em aproximadamente 5 dias. Foi possível otimizar e validar a ELL-PBT acoplada ao HPLC-DAD apresentou-se como um método simples, fácil e eficiente de extraí-lo e analisá-lo em amostras de água.

Palavras-chave: preparo de amostra, florigrauxifen-benzil, auxinas sintéticas, ELL-PBT, arilpicolinato.

Introdução

O herbicida florpirauxifen-benzil foi desenvolvido pela empresa Dow AgroSciences para ser utilizado principalmente em lavouras de arroz irrigado. [1-4] Este novo herbicida é o mais recente da classe das auxinas sintéticas (SAHs), sendo da subclasse química, arilpicolinato. [5-7] Essa molécula tem se mostrado eficaz no combate a gramíneas e ciperáceas, resistentes ou não, com indicação de aplicação pós-emergência para cultivos de café, citros, repolho, tabaco e arroz irrigado. [8-10]

Estudos toxicológicos realizados em ratos concluíram que a ingestão deste composto pode levar a efeitos como mineralização dos túbulos renais, alteração do pH da urina, redução do ganho de peso e tumores nas glândulas mamárias de ratos, conforme observado em estudos crônicos. [9, 11]

De acordo com o índice monográfico da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o florpirauxifen-benzil foi classificado como nível toxicológico III, sendo considerado moderadamente tóxico. [12]

Devido à recente inserção do florpirauxifen-benzil no mercado mundial de agrotóxicos, ainda são poucos os estudos relacionados às metodologias de extração e detecção deste composto. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) indica a extração em fase sólida (EFS) como método a ser utilizado em amostras de água e solo, sendo a análise realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem de ionização por eletrospray (LC-ESI-MS/MS). [13] A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) recomenda a extração pelo método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) e a análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa em tandem (HPLC-MS/MS) para análise de alimentos e amostras de ração animal. [11] Nesse cenário, as agências reguladoras brasileiras e internacionais ainda não possuem um limite máximo de resíduos (LMR) para este herbicida na água.

Não há relatos do uso de extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) para florpirauxifen-benzil na literatura, e o uso de HPLC-DAD em sua quantificação não foi relatado. A ELL-PBT tem se mostrado uma técnica bastante promissora devido ao seu baixo número de etapas e custo reduzido em comparação com as técnicas já utilizadas nas análises descritas na literatura. [14]

Por ser um herbicida relativamente novo no mercado mundial, há uma busca por melhores estudos e metodologias para identificá-lo e quantificá-lo em diversas amostras ambientais.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar a ELL-PBT acoplada a HPLC-DAD a fim de quantificar e avaliar a estabilidade do florpirauxifen-benzil em amostras de água.

Material e métodos

Reagentes e soluções

O padrão de florpírauxifen-benzil, certificado com pureza de 98,1% (m/m), foi adquirido da LGC Dr. Ehrenstorfer (Alemanha). Os solventes grau HPLC acetonitrila, acetato de etila e metanol foram adquiridos da Supelco (Coreia do Sul), Dinâmica (Brasil) e FMaia (Brasil), respectivamente. O ácido fosfórico e o cloreto de sódio (NaCl) foram adquiridos da Vetec (Brasil). As soluções estoque e de trabalho de florpírauxifen-benzil foram preparadas em acetonitrila nas concentrações de 20,0 mg L⁻¹ e 5,0 mg L⁻¹, respectivamente, e armazenadas a -20 °C em frascos âmbar.

Equipamentos

A preparação da amostra foi realizada com balança analítica da Shimadzu (Brasil), vortex da Scilogex (EUA), bomba de vácuo da Primatec (Brasil) e micropipetas Labmate Pro 20 – 200 ± 0,1 µL, 100 – 1000 ± 1 µL e 1000 – 5000 ± 5 µL obtidos da HTL (Polônia).

Análises Cromatográficas

As análises das soluções padrão e dos extratos obtidos foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção de arranjo de diodos (HPLC-DAD, modelo 1290, Agilent Technologies, Alemanha) equipado com bomba quaternária, amostrador automático, desgaseificador e coluna de compartimentos com termostato. O volume de injeção da amostra foi ajustado em 20 µL e o modo de eluição do solvente foi isocrático. Os parâmetros cromatográficos a serem otimizados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros cromatográficos avaliados na otimização de condições para a determinação de florniraxifen-benzil

Parâmetros	Níveis	Proporção
Comprimentos de onda (nm)	210	-
	243	
	250	
	260	
Colunas Cromatográficas	Poroshell (4.6 mm x 50 mm, 2.7 μ m, Agilent Technologies) Kinetex (C18) (100Å, 150 mm x 4.60 mm, 5 μ m, Phenomenex)	-
Fase Móvel (v/v)	Acetonitrila e água (ACN:H ₂ O)	100:0
		80:20
	Metanol e água (MeOH:H ₂ O)	100:0
		90:10
Fluxo (mL min ⁻¹)	0.4	-
	0.5	
	1.0	
Temperatura da coluna (°C)	30	-
	35	

ELL-PBT

O método de extração líquido-líquido com purificação a baixa temperatura foi otimizado através de um planejamento fatorial completo (2³) para avaliar as melhores porcentagens de recuperação de florniraxifen-benzil em amostras de água.

Este planejamento fatorial requer a realização de 8 testes, onde 3 parâmetros foram avaliados em 2 níveis. Os parâmetros avaliados foram: (F1) fase de extratora, avaliando 8 mL de acetonitrila e a combinação de 6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila; (F2) força iônica, sendo os níveis avaliados 0,0 g e 0,1 g de cloreto de sódio; (F3) foram avaliados o tempo de congelamento, 60 e 120 min de congelamento do sistema. Para os níveis mais baixos, foram utilizados os sinais (-) e para os níveis mais altos, foram utilizados os sinais (+) (Tabela 2). As taxas de recuperação foram comparadas usando o teste de Duncan ao nível de significância de 5%.

Tabela 2. Parâmetros avaliados na ELL-PBT de florpírauxifen-benzil em amostras de água e descrição do esquema fatorial (2^3)

Teste	Fatores Codificados			Fatores Originais		
	F1	F2	F3	Fase Extratora	Força Iônica (NaCl)	Tempo de Congelamento
1	-	-	-	8.0 mL ACN ^a	0.0 g	60 min
2	-	-	+	8.0 mL ACN	0.0 g	120 min
3	-	+	-	8.0 mL ACN	0.1 g	60 min
4	-	+	+	8.0 mL ACN	0.1 g	120 min
5	+	-	-	6.5:1.5 mL ACN:AE ^b	0.0 g	60 min
6	+	-	+	6.5:1.5 mL ACN:AE	0.0 g	120 min
7	+	+	-	6.5:1.5 mL ACN:AE	0.1 g	60 min
8	+	+	+	6.5:1.5 mL ACN:AE	0.1 g	120 min

^aACN- Acetonitrila. ^bAE- Acetato de Etila.

A preparação da amostra começou com a adição de 4,0 mL de água ultrapura em frascos de vidro de 22,0 mL. Para os testes com avaliação da força iônica, a pesagem do NaCl ocorreu antes da adição da água aos frascos de vidro. Após esta etapa, as amostras de água foram fortificadas com 72,65 μ L da solução de trabalho contendo 5,00 mg L⁻¹ de florpírauxifen-benzil e mantidas em repouso por 1 h. Posteriormente, 8,0 mL da fase extratora a ser avaliada foram adicionados e agitados em vortex por 1 min. O sistema resultante foi então mantido no freezer a -20 °C por 60 ou 120 min dependendo do teste a ser avaliado, para que as fases orgânica e aquosa pudessem se separar e a fase aquosa congelar. Em seguida, 5,00 mL da fase orgânica, sobrenadante, foram transferidos para um frasco de vidro e completamente evaporados em fluxo contínuo de ar e então ressuspensos em 400 μ L de acetonitrila. O extrato obtido foi então filtrado através de uma membrana hidrofílica de PTFE de 0,22 μ m, acondicionado em *vial* e analisado por HPLC-DAD.

Validação da metodologia

Após a etapa de otimização da ELL-PBT/HPLC-DAD, a mesma foi validada em termos de figuras de mérito: seletividade, limite de quantificação, limite de detecção, linearidade, precisão, exatidão e efeito de matriz, conforme diretrizes da SANTE.^[15]

Seletividade

O parâmetro de seletividade foi avaliado comparando-se os cromatogramas do extrato livre de analito (branco) e do extrato de matriz fortificado com florpiauxifen-benzil. O método é considerado seletivo quando não há ocorrência de sinais cromatográficos atribuídos a interferentes no mesmo tempo de retenção do analito.

Limites de quantificação e detecção

O limite de quantificação (LQ) foi determinado fortificando as amostras de água com a menor concentração de florpiauxifen-benzil em que é possível quantificar com exatidão e precisão. O LQ foi considerado a menor concentração que resultou em um sinal com área cromatográfica 10 vezes maior que a área cromatográfica da linha de base (ruído) do cromatograma da matriz do extrato livre de florpiauxifen-benzil, no mesmo tempo de retenção.

O limite de detecção (LD) foi determinado fortificando as amostras com a quantidade mínima em que foi possível detectar o sinal do analito com confiança. O LD foi determinado quando a concentração do analito obteve uma relação sinal-ruído de 3:1.

Linearidade

A linearidade foi avaliada pela curva analítica de extratos de matriz fortificada em seis níveis de concentração, onde o primeiro ponto da curva analítica foi o LQ do método. A curva de fortificação dos extratos da matriz foi de 4,00; 30,0; 60,0; 90,0; 120 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, com triplicatas independentes para cada nível.

Para estimar os parâmetros de regressão linear, utilizou-se o método dos mínimos quadrados ordinários, e seus resíduos foram avaliados pelos testes de Normalidade (Teste de Ryan-Joiner), Homocedasticidade (Teste de Brown-Forsythe) e Independência (Teste de Durbin-Watson). O teste Jackknife foi realizado para avaliar a presença de *outliers*, sendo 22,2% o número máximo de valores retirados dos dados originais. Para testar o desvio da linearidade e significância da regressão, foi utilizada a análise de variância (ANOVA).

Precisão e exatidão

Precisão e exatidão foram avaliadas através de experimentos de fortificação/recuperação. A matriz foi fortificada em três níveis de concentração: 4,00, 60,0 e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$. A precisão foi analisada em sete repetições no segundo nível, avaliando o desvio padrão relativo (RSD) obtido, com $\text{RSD} \leq 20\%$ considerado como nível de aceitabilidade.¹⁵ A precisão foi avaliada em três repetições para primeiro e terceiro níveis, e valores de recuperação entre 70 e 120% foram considerados aceitáveis.¹⁵

Efeito de matriz

O efeito de matriz foi realizado comparando-se as curvas analíticas de florpiauxifen-benzil em solvente (acetonitrila) e em extratos de matriz (água), em seis níveis de concentração

4,00; 30,0; 60,0; 90,0; 120 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, e as análises foram realizadas em triplicatas independentes para cada nível.

O efeito matriz foi calculado através da razão entre os coeficientes angulares da curva analítica no extrato da matriz e a curva em solvente, multiplicada por 100, conforme a Equação 1.

$$\text{Efeito de matriz (EM)} = 100 - \left(\frac{\alpha_{\text{matriz}}}{\alpha_{\text{solvente}}} \times 100 \right) \quad (1)$$

Onde, α_{matriz} é a inclinação da curva analítica no extrato da; α_{solvente} é a inclinação da curva analítica no solvente.

Valores entre -20% e +20% foram interpretados como EM baixo, entre -20% e -50% ou entre +20% e +50% como EM médio, e valores abaixo de -50% ou acima de +50% como EM alto. [16,17]

Estabilidade

Para avaliar a estabilidade do florpiauxifen-benzil em água, foi desenvolvido um experimento para simular as condições ambientais de temperatura e luminosidade. Para tanto, em seis frascos, foram adicionados 700 mL de água subterrânea da cidade de Montes Claros, livre do analito. Todas as amostras foram fortificadas com florpiauxifen-benzil para obter uma concentração inicial de 90,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os frascos foram fechados, a fim de evitar a evaporação da amostra, e três frascos foram mantidos em ambiente com luz solar durante o dia, e outros três frascos foram colocados em ambiente sem a presença de luz para avaliar uma possível fotólise do analito estudado.

Em intervalos de 5 dias, alíquotas de todas as amostras foram coletadas e a extração foi realizada usando ELL-PBT e quantificação do analito usando HPLC-DAD. Para cada alíquota retirada, os frascos foram agitados para manter o ambiente aeróbio. O experimento foi conduzido por um período de 35 dias.

Resultados e discussão

Otimização das condições cromatográficas

O primeiro parâmetro avaliado na otimização das condições cromatográficas foi o comprimento de onda. O espectro de absorção na região ultravioleta do florpiauxifen-benzil na concentração de 1,0 mg L^{-1} é mostrado na Figura 1.

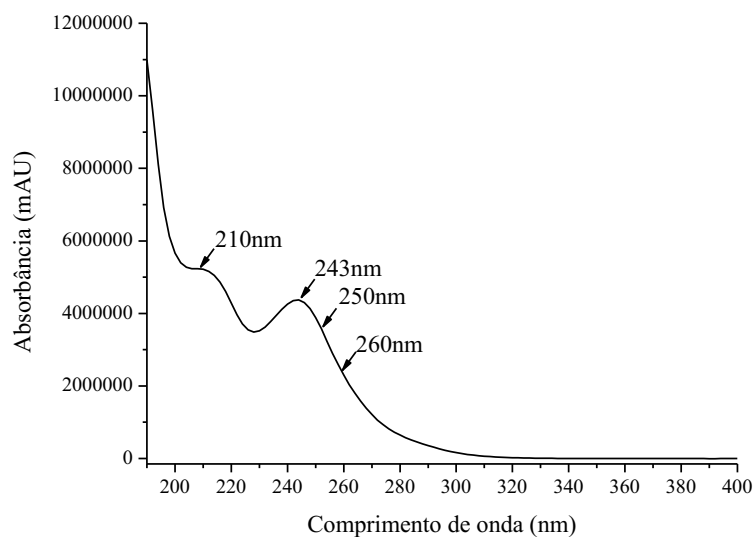


Figura 1. Espectro de absorção na região do ultravioleta da solução padrão de florpírauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Este espectro mostrou bandas de absorção em 210, 243, 250 e 260 nm. Portanto, análises cromatográficas da solução padrão de florpírauxifen-benzil foram realizadas nesses quatro comprimentos de onda. Os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 2.

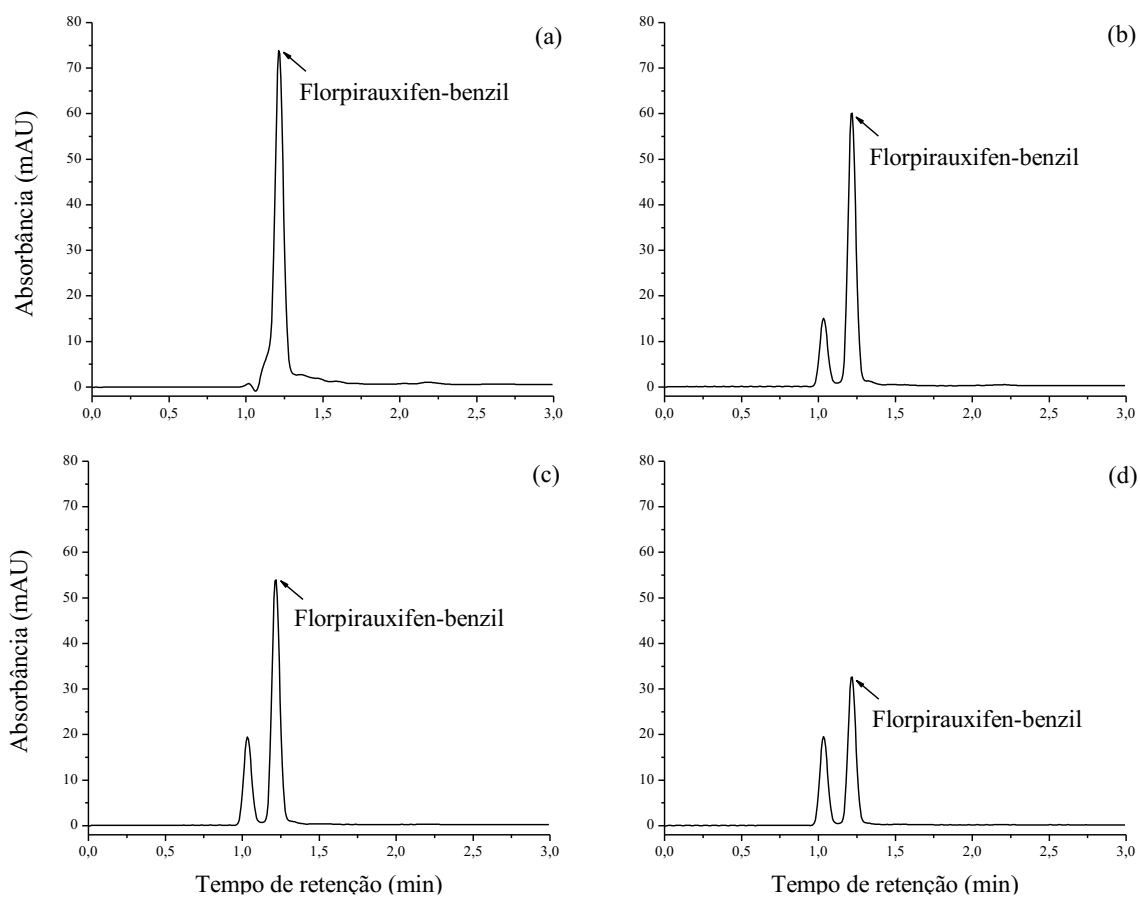


Figura 2. Cromatogramas da solução padrão de florpírauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; fase móvel ACN:H₂O

= 100:0; T = 30 °C; fluxo da fase móvel = 0.5 mL min⁻¹; (a) λ = 210 nm; (b) λ = 243 nm; (c) λ = 250 nm; (d) λ = 260 nm.

Os resultados revelaram que os cromatogramas obtidos no comprimento de onda de 210 nm apresentaram um sinal cromatográfico mais intenso, porém com maior quantidade de sinais atribuídos a interferentes, o que pode prejudicar a seletividade do método. Por outro lado, o cromatograma obtido em 243 nm apresentou menos sinais atribuídos aos interferentes e um sinal estreito e nítido atribuído ao composto alvo. Os comprimentos de onda de 250 e 260 nm apresentaram cromatogramas com menos sinais interferentes, mas com menor área cromatográfica e intensidade do pico do analito. Portanto, 243 nm foi definido como o melhor comprimento de onda a ser usado para quantificar florpiauxifen-benzil em água.

A composição da fase móvel foram os próximos parâmetros avaliados. Os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 3. As fases móveis contendo água nas proporções testadas promoveram um alargamento do sinal do florpiauxifen-benzil. Portanto, os melhores resultados foram obtidos usando 100% de acetonitrila ou 100% de metanol como fase móvel. Entre esses dois solventes, foi possível observar que o pico de florpiauxifen-benzil apresentou maior área cromatográfica utilizando metanol 100% como fase móvel; no entanto, optamos por usar acetonitrila como fase móvel neste trabalho devido à maior toxicidade do metanol e ao fato da pressão de HPLC ser muito alta quando se utiliza metanol como fase móvel.

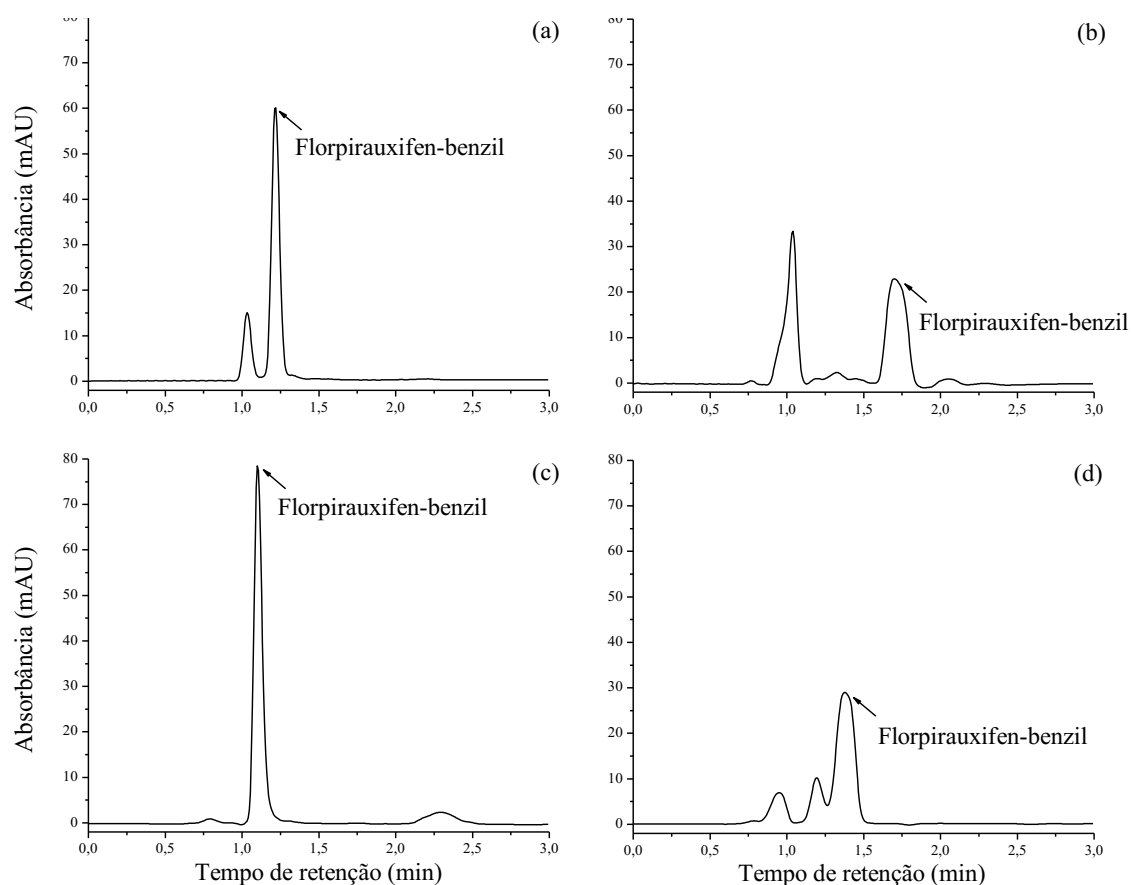


Figura 3. Cromatogramas da solução padrão de florpiauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L⁻¹. Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; λ = 243 nm; T = 30

°C; fluxo da fase móvel = 0.5 mL min⁻¹; (a) ACN:H₂O = 100:0; (b) ACN:H₂O = 80:20; (c) MeOH:H₂O = 100:0; (d) MeOH:H₂O = 90:10.

O fluxo da fase móvel foi avaliado em três níveis, como pode ser visto na Tabela 1 e os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 4. Os resultados revelaram que o cromatograma obtido com fluxo de 0,4 mL min⁻¹ apresentou maior intensidade de sinal e maior área cromatográfica, por isso este fluxo foi escolhido para este trabalho.

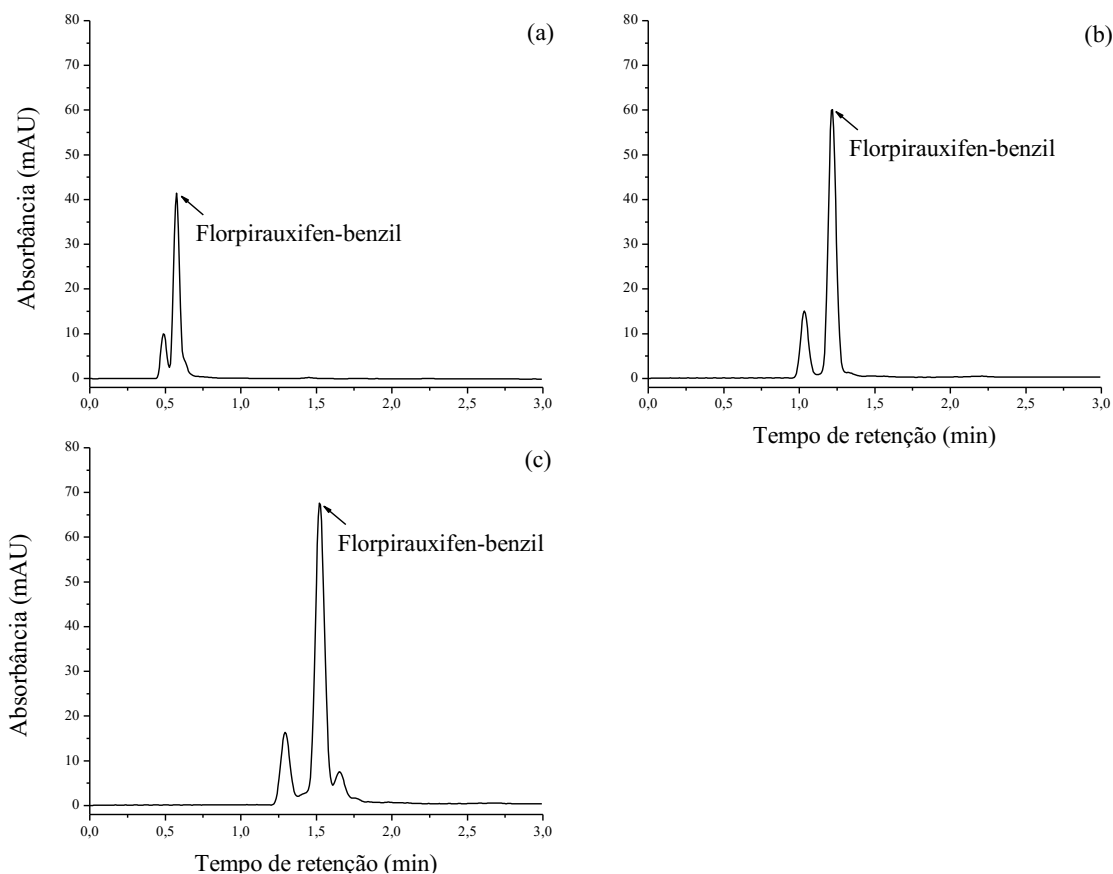


Figura 4. Cromatogramas da solução padrão de florpirauxifen-benzil em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L⁻¹. Condições cromatográficas: Poroshell column; $\lambda = 243$ nm; fase móvel ACN:H₂O = 100:0; T = 30 °C; fluxo da fase móvel = 1.0 mL min⁻¹ (a); 0.5 mL min⁻¹ (b) e 0.4 mL min⁻¹ (c).

A temperatura da coluna foi avaliada em dois níveis, como pode ser visto na Tabela 1. Os cromatogramas obtidos foram semelhantes (Figura 5), portanto, a temperatura da coluna não interferiu no resultado. A temperatura escolhida para a realização deste estudo foi de 30 °C.

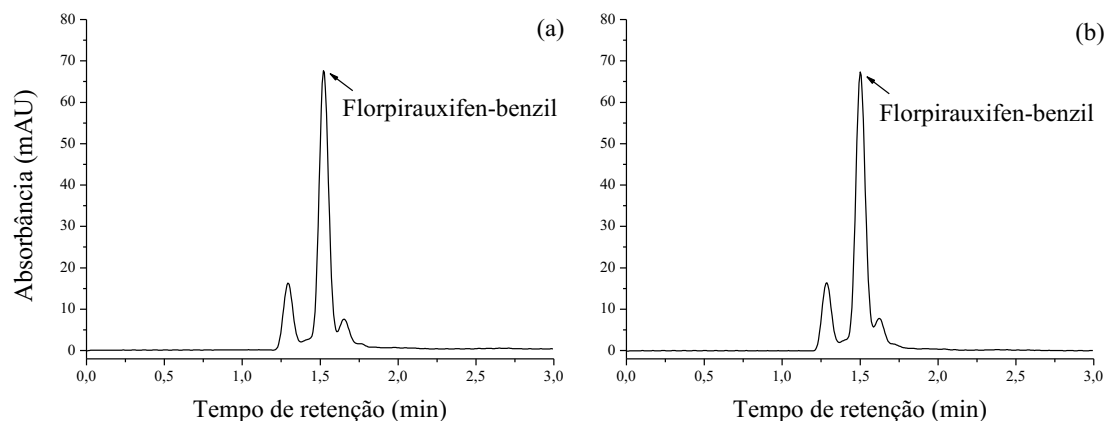


Figura 5. Cromatogramas da solução padrão de flupiraxifen-benzil em acetonitrila na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Condições cromatográficas: Coluna Poroshell; $\lambda = 243 \text{ nm}$; fase móvel ACN:H₂O = 100:0; fluxo da fase móvel = 0.4 mL min^{-1} ; (a) $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; (b) $T = 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Dois colunas cromatográficas foram avaliadas (Tabela 1). Os cromatogramas obtidos são mostrados na Figura 6. O cromatograma obtido com a coluna Poroshell apresentou maior intensidade de sinal e maior área cromatográfica, sendo, portanto, o escolhido para a realização deste estudo.

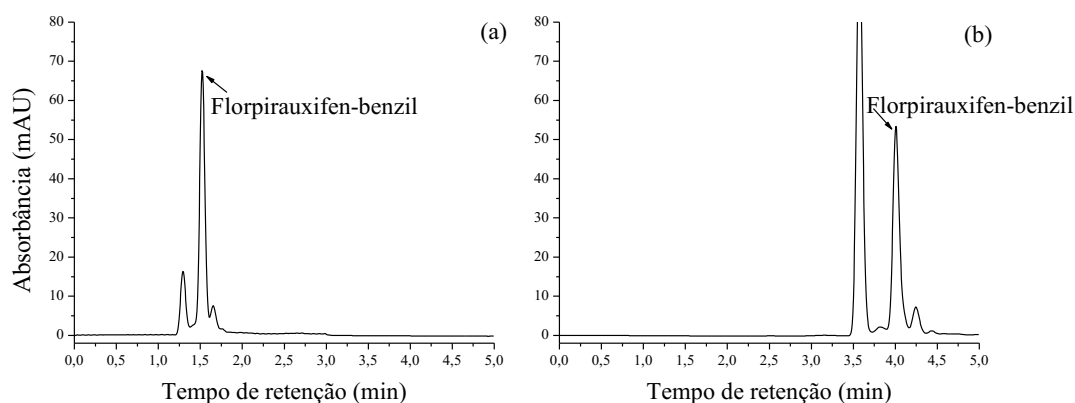


Figura 6. Cromatogramas da solução padrão de flupiraxifen-benzil em acetonitrila na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Condições cromatográficas: $\lambda = 243 \text{ nm}$; fase móvel ACN:H₂O = 100:0; fluxo da fase móvel = 0.5 mL min^{-1} ; $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; Coluna Poroshell (a); Coluna Kinetex (b).

Após encontrar as melhores condições cromatográficas, foi possível obter tempo de retenção (TR) de 1,5 min e um sinal cromatográfico estreito e nítido (Figura 7).

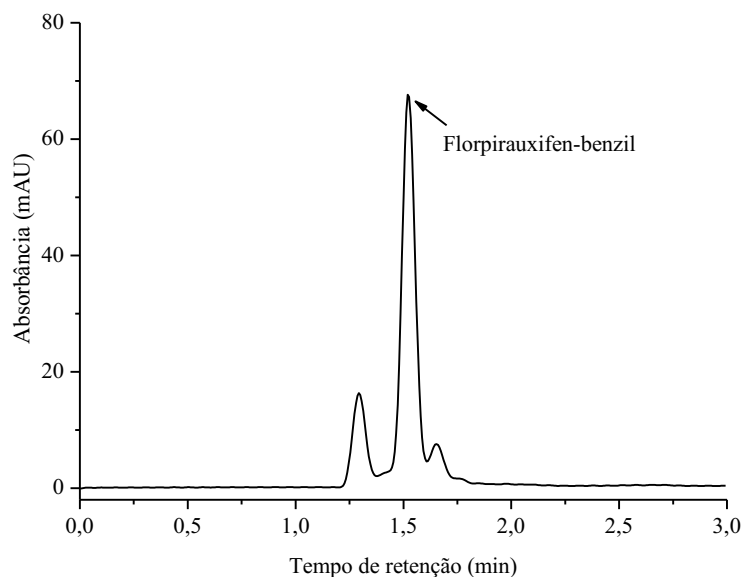


Figura 7. Cromatograma da solução padrão de flupiraxifen-benzil em acetonitrila na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Coluna Poroshell, fase móvel ACN:H₂O = 100:0, T = 30 °C, $\lambda = 243 \text{ nm}$, fluxo de fase móvel = $0,4 \text{ mL min}^{-1}$.

ELL-PBT

ELL-PBT é um método baseado na partição pela adição de uma fase orgânica à amostra aquosa e subsequente congelamento do sistema. Os parâmetros que podem influenciar o desempenho do ELL-PBT são a composição da fase extratora, força iônica e tempo de congelamento. Esses fatores foram avaliados usando um planejamento fatorial completo (2^3). A porcentagem de recuperação do analito em cada teste é mostrada na Figura 8.

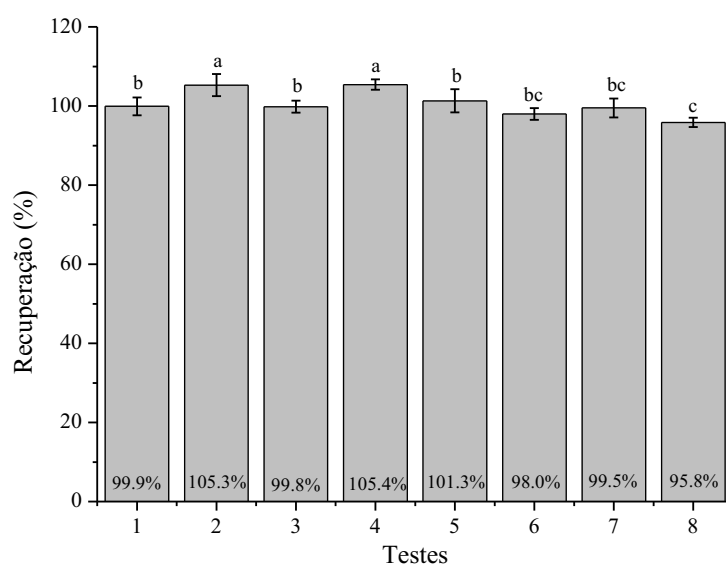


Figura 8. Porcentagens de recuperação de flupiraxifen-benzil na otimização da metodologia ELL-PBT. Barras seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste Duncan ao nível de 5% significância. 1 - 8,0 mL de ACN^a, 0,0 g de NaCl e 60 min; 2 - 8,0 mL de ACN, 0,0 g de NaCl e 120 min; 3 - 8,0 mL de ACN, 0,1 g de NaCl e 60 min; 4 - 8,0 mL de ACN,

0,1 g de NaCl e 120 min; 5 - 6,5 mL ACN + 1,5 mL AE^b, 0,0 g NaCl e 60 min; 6 - 6,5 mL de ACN + 1,5 mL de AE, 0,0 g de NaCl e 120 min; 7 - 6,5 mL de ACN + 1,5 mL de AE, 0,1 g de NaCl e 60 min; 8 - 6,5 mL ACN + 1,5 mL AE, 0,1 g NaCl e 120 min. ^aACN - Acetonitrila. ^bAE - Acetato de Etila.

Os percentuais de recuperação obtidos foram superiores a 95%, indicando a baixa solubilidade do analito em água e alta miscibilidade na fase orgânica utilizada na ELL-PBT.

A Figura 9 mostra o gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^3 completo. Este gráfico apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) dos principais efeitos e seus efeitos de interação para flopirauxifen-benzil nos testes realizados em detalhes. O comprimento da barra neste gráfico representa a proporcionalidade do efeito absoluto e a linha tracejada verticalmente representa um nível de significância de 95%. Os sinais negativos e positivos representam um aumento ou diminuição do sinal dessa variável sozinha ou de sua interação.

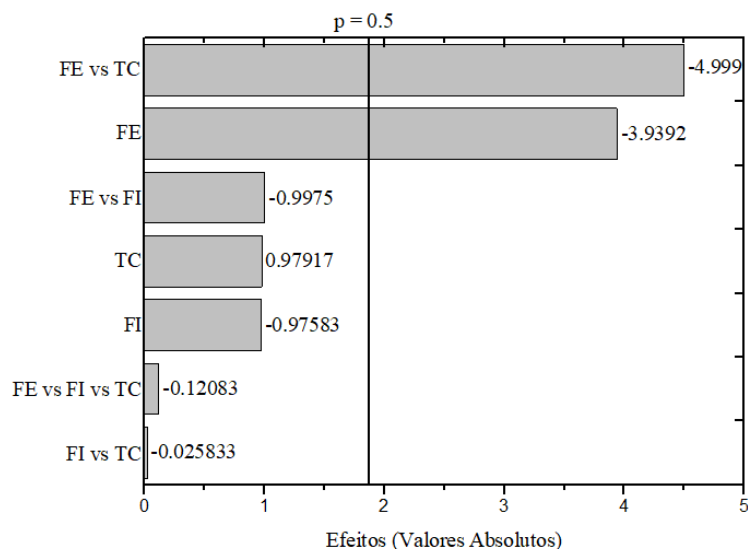


Figura 9. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial completo 2^3 (a linha vertical define o intervalo de confiança de 95%). FE - Fase Extratora; FI - Força Iônica; TC - Tempo de Congelamento; vs - contra.

Os resultados revelaram que a composição da fase extratora e a interação entre a fase extratora e o tempo de congelamento foram significativas ao nível de 95%. Foi observado um valor negativo atribuído à composição da fase extratora, indicando que a adição de acetato de etila na composição desta fase causou uma diminuição na porcentagem de recuperação do analito. Portanto, a fase de extração composta por 8,0 mL de acetonitrila foi escolhida como a mais adequada na extração.

A interação entre os fatores de fase extratora e tempo de congelamento pode ser melhor elucidada pelos gráficos de superfície de resposta experimental (Figura 10). Essa metodologia é usual para avaliar a interação entre duas variáveis independentes, mantendo a terceira componente constante em seu ponto central.

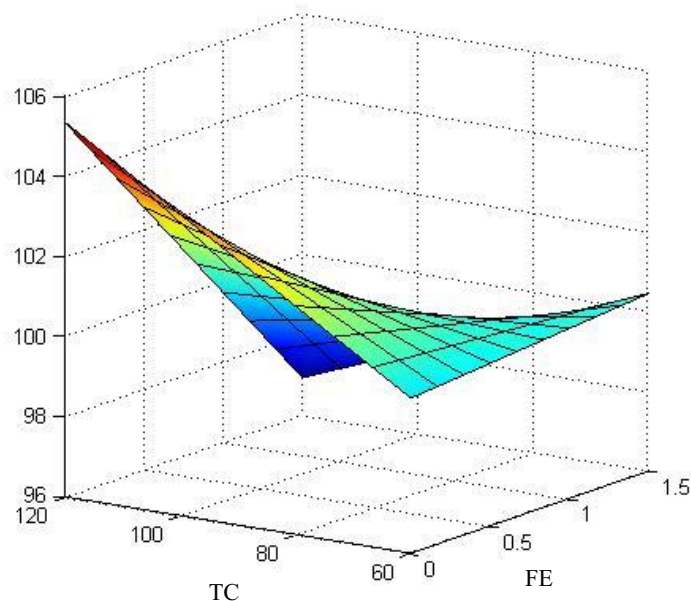


Figura 10. Superfície de resposta obtida para a interação da fase extratora (FE) e tempo de congelamento (TC).

Os resultados revelaram que a melhor resposta foi obtida utilizando 8,0 mL de acetonitrila como fase de extração e 120 min de tempo de congelamento. Também foi possível observar um número menor de sinais atribuídos aos interferentes no mesmo tempo de retenção do analito nessas condições (Figura 11).

Aplicamos uma etapa de concentração de extrato adicional neste estudo. Após a extração de 5,0 mL da fase orgânica, esta foi completamente evaporada por fluxo contínuo de ar, e a ressuspensão ocorreu em 400 μL de acetonitrila, resultando em um fator de concentração de 12,5 vezes. Essa etapa foi necessária e vantajosa, pois possibilitou atingir um LQ de 4,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estudos semelhantes, mas para dioxinas, furanos, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e diclorodifeniltricloroetano (DDT), alcançaram fatores de concentração entre 10 e 12,5 vezes usando a etapa de concentração do extrato para ELL-PBT.^[18-20] Os testes de validação da metodologia proposta foram então realizados após a etapa de otimização da técnica de extração.

Validação da metodologia

Seletividade

A metodologia foi considerada seletiva para o florpiauxifen-benzil, pois não houve presença de sinais interferentes no tempo de retenção do analito (Figura 11).

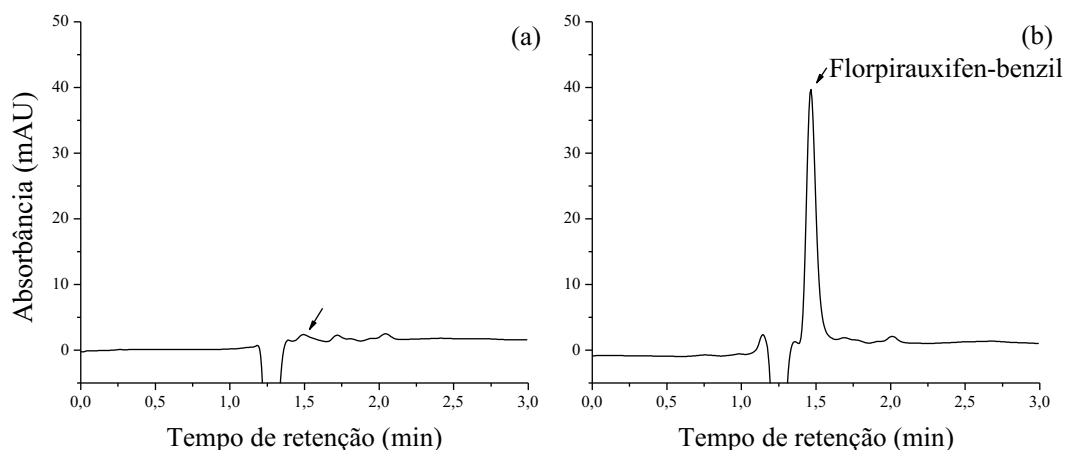


Figura 11. Cromatogramas do extrato de matriz isento de analito (a) e do extrato de matriz fortificado com floraspiraxifen-benzil na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b).

Limite de quantificação e detecção

O LD e o LQ foram determinados a partir da relação sinal/ruído considerada três e dez vezes, respectivamente. Os resultados alcançados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da validação da metodologia ELL-PBT em amostras de águas

Faixa de Linearidade ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	Recuperação média \pm DPR (%)			LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)
		$4.00 \mu\text{g L}^{-1a}$	$60.0 \mu\text{g L}^{-1b}$	$120 \mu\text{g L}^{-1a}$		
4.00 – 150	0.9989	105.6 ± 5	103.3 ± 2	105.4 ± 0.2	4.00	2.00

^a Média de três repetições; ^b Média de sete repetições; R^2 : coeficiente de determinação; DPR: desvio padrão relativo; LQ: limite de quantificação; LD: limite de detecção.

A legislação brasileira não apresenta valores de LMR para floraspiraxifen-benzil em amostras de água tendo em vista a recente aprovação deste herbicida para uso na agricultura brasileira. Para fins de comparação, o herbicida 2,4-D, que também possui mecanismo mimetizador de auxina, possui LMR de $4,00$ e $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$, conforme Resolução CONAMA nº. 357 de 2005 e Portaria de Consolidação nº. 5 de 2017 do Ministério da Saúde, respectivamente.^[21] Com isso, notamos que o LQ para o floraspiraxifen-benzil está próximo ao estabelecido para outro herbicida que possui mecanismo de ação semelhante e maior toxicidade. Este resultado demonstra o potencial do método proposto para o monitoramento de floraspiraxifen-benzil na matriz estudada.

Precisão e Exatidão

Os dados de precisão e exatidão são apresentados na Tabela 3, sendo que esses dois parâmetros foram avaliados simultaneamente. Os dados são apresentados como porcentagens médias de recuperação do analito e desvio padrão relativo.

A precisão foi avaliada pelo desvio padrão relativo através da repetibilidade, com valores abaixo de 20% garantindo a precisão da metodologia.

A exatidão da metodologia foi avaliada em termos da taxa de recuperação, sendo considerada exata a recuperação entre 70 a 120%, confirmando a acurácia da metodologia proposta.

Linearidade

A linearidade foi validada através da curva analítica das amostras de água fortificadas em seis níveis equidistantes, com três repetições independentes em cada nível, sendo o primeiro nível o LQ (Figura 12 (a)).

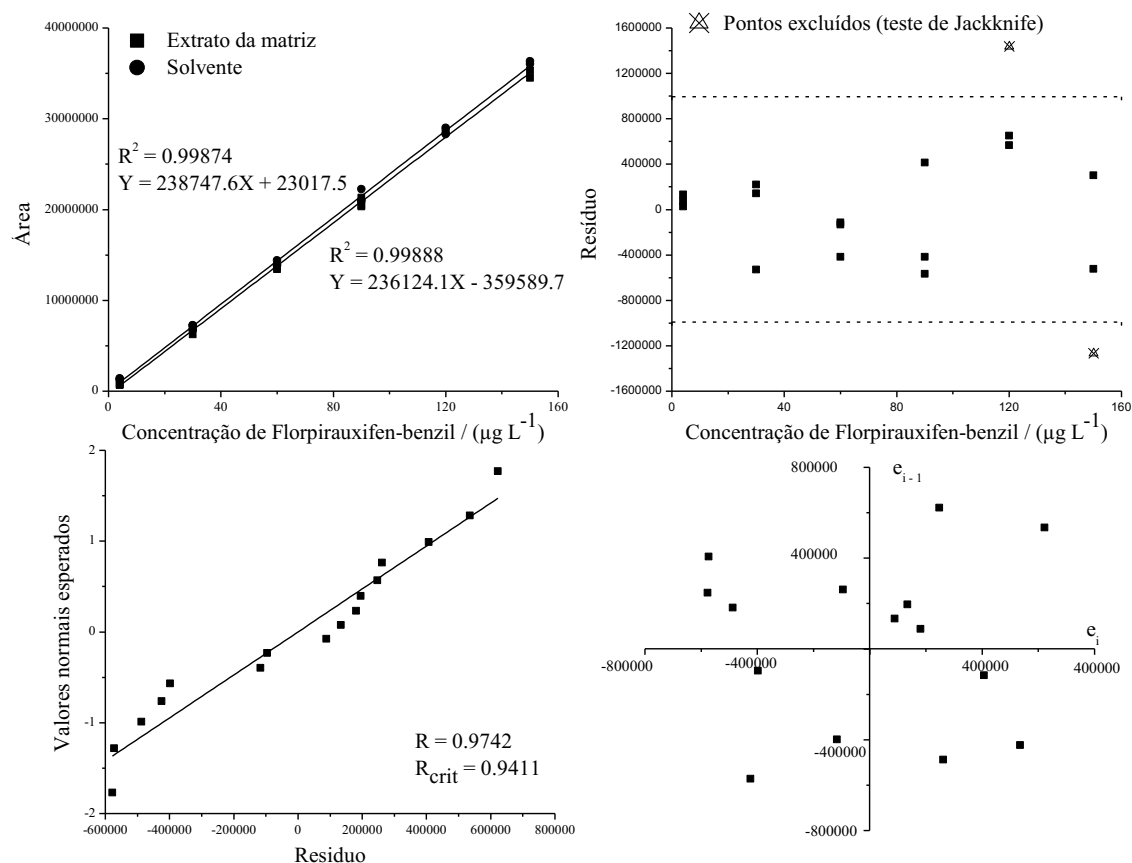


Figura 12. Gráficos obtidos no estudo da linearidade da ELL-PBT. Curvas analíticas das soluções de flupiraxifen-benzil em solvente e extratos da matriz (a). Regressão linear dos resíduos após a exclusão dos valores extremos (Teste de Jackknife) (b). Probabilidade normal dos resíduos de regressão para o flupiraxifen-benzil (c). Autocorrelação dos resíduos de

regressão para o florniraxifen-benzil (d). e: resíduo; R^2 : coeficiente de determinação; R: coeficiente de correlação para o Teste de Ryan-Joiner; d: Estatística de Durbin-Watson.

Os parâmetros de regressão linear foram estimados pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MQO), obtendo-se assim os valores da inclinação, interseção e coeficiente de determinação (R^2), conforme pode ser observado na (Figura 12 (a)). Os valores discrepantes foram confirmados e tratados pelo teste de Jackknife, sendo excluídos dois pontos (Figura 12 (b)).

A distribuição normal dos resíduos da regressão foi confirmada pelo teste de Ryan-Joiner, com coeficiente de correlação do teste de Ryan-Joiner (0,9742) maior que o coeficiente de correlação crítico (0,9411) (Figura 12 (c)).

A homocedasticidade dos resíduos da regressão foi confirmada pelo teste de Brown-Forsythe, com o valor de t_L (-1,828) inferior ao valor $t_{crítico}$ (2,145). O teste de Durbin-Watson demonstrou a independência dos resíduos de regressão que foram dispostos aleatoriamente nos quatro quadrantes (Figura 12 (d)).

De acordo com ANOVA, a regressão foi significativa e não houve desvio de linearidade na faixa entre 4,00 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$, indicando que a metodologia ELL-PBT acoplada a HPLC-DAD foi linear para a determinação de florniraxifen-benzil em amostra de água. Todas as avaliações de linearidade seguiram procedimentos propostos por Souza & Junqueira^[22] e Bazilio *et al.*^[23]

Efeito de matriz

O efeito de matriz foi analisado comparando as curvas analíticas de florniraxifen-benzil preparadas em acetonitrila e em extratos de matriz (Figura 12(a)). Assim, as inclinações para as duas curvas analíticas propostas foram obtidas a partir dos dados observados.

O efeito de matriz calculado foi de 98,74%; este valor foi muito próximo de 100%, indicando um baixo efeito de matriz, pois está na faixa de -20% a +20%. Este resultado está de acordo com trabalhos anteriores, pois a água é uma matriz com poucos interferentes e conseqüentemente apresenta menor variação na resposta cromatográfica quando comparada a outras matrizes como solo e lodo de esgoto. Vários estudos determinaram a presença de contaminantes em amostras de água e também relataram a ausência ou um baixo efeito de matriz para a água.^[24-25]

Estabilidade

Este experimento teve sua concentração inicial de analito em 90,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, dentro da faixa de linearidade estudada. Os resultados para os testes de estabilidade em água são mostrados na Figura 13.

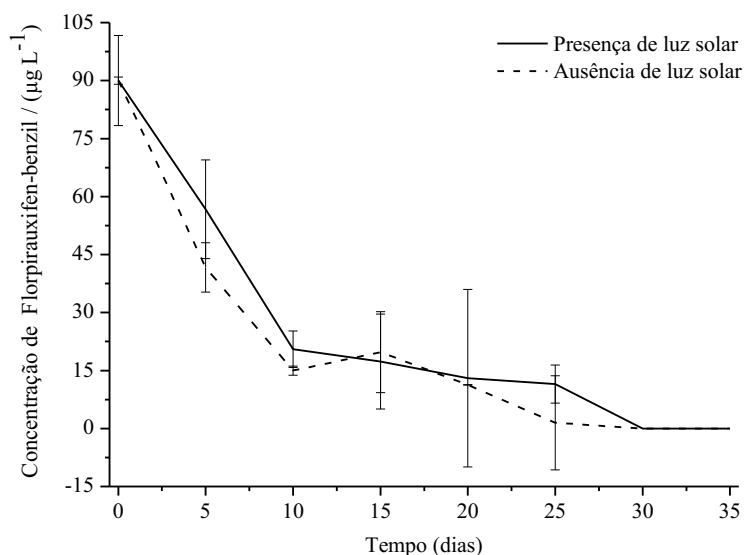


Figura 13. Concentração média de florigrauxifen-benzil em amostras de águas subterrâneas na presença e na ausência de luz solar por 35 dias.

Os valores de concentração de florigrauxifen-benzil foram semelhantes em amostras de águas subterrâneas na ausência e presença de luz solar. A meia-vida do florigrauxifen-benzil foi de aproximadamente 5 dias (como pode ser visto na Figura 13), pois a concentração de florigrauxifen-benzil foi reduzida de 90 para $\sim 45 \mu\text{g L}^{-1}$ em ambas amostras de água neste período. Este resultado foi semelhante ao relatado pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), que encontrou o tempo de degradação do florigrauxifen-benzil em ambientes aquáticos aeróbios de 3,3 dias.^[9] A metodologia proposta neste estudo não foi capaz de quantificar o florigrauxifen-benzil nas amostras estudadas após 25 dias de contaminação das amostras subterrâneas. Este período pode ser um dos fatores atribuídos à não quantificação de quaisquer resíduos deste herbicida nas amostras reais. No entanto, notamos que à medida que a concentração de florigrauxifen-benzil diminuiu, houve o aparecimento e aumento de sinais nos cromatogramas, indicando uma possível degradação do analito em subprodutos.

Como o florigrauxifen-benzil é indicado para uso em lavouras de arroz irrigado, deve-se notar que embora sua degradação seja moderadamente rápida em água, os valores de DT_{50} em solos são maiores, indicando uma possível degradação lenta nesta matriz.^[9] Essa degradação pode ser afetada por diversos fatores ambientais como pH da água, presença de microrganismos, matéria orgânica, entre outros.

Conclusão

A ELL-PBT otimizada e validada seguida de análise por HPLC foi simples, prático, eficiente, com número reduzido de etapas, consumo de solvente e amostra. A metodologia foi seletiva, precisa, exata, linear e sem efeito de matriz na determinação de florigrauxifen-benzil em amostras de água. Os limites de quantificação obtidos foram inferiores aos limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação nacional e internacional.

Portanto, a ELL-PBT pode ser considerado uma alternativa eficiente para o monitoramento de florpirauxifen-benzil nesta matriz. Não foram realizadas análises em amostras reais porque ainda não há relatos de uso deste herbicida no Brasil, mas já está em pleno uso em outros países.

Conflito de interesses

Os autores declaram não ter conflito de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (308480/2019-8) pelo apoio financeiro das bolsas de pesquisa. Os autores também são gratos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) (APQ-02736-21), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) pela a infraestrutura fornecida.

Declaração de disponibilidade de dados

Os autores confirmam que os dados que sustentam as descobertas deste estudo estão disponíveis no artigo [e/ou] em seus materiais suplementares.

Referências

- [1] Richardson, R.J.; Haug, E.J.; Netherland, M.D.; Response of seven aquatic plants to a new arylopicolinate herbicide. *J. Aquat. Plant Manage.* **2016**, *54*, 26–31.
- [2] United States Environmental Protection Agency (USEPA); Final Registration Decision on the New Active Ingredient Florpyrauxifen-benzyl; 2017. Available at <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2016-0560-0065> (accessed Mar 02, 2022).
- [3] Miller, M.R.; Norsworthy, J.K. Assessment of Florpyrauxifen-benzyl Potential to Carryover to Subsequent Crops. *Weed Technol.* **2018**, *32*(4), 404–409.
- [4] Buczek, S.B.; Archambault, J.M.; Gregory Cope, W.; Heilman, M.A. Evaluation of Juvenile Freshwater Mussel Sensitivity to Multiple Forms of Florpyrauxifen-Benzyl. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2020**, *105*(4), 588–594.
- [5] Busi, R.; Goggin, D.E.; Heap, I.M.; Horak, M.J.; Jugulam, M.; Masters, R.A.; Napier, R.M.; Riar, D.S.; Satchivi, N.M.; Torra, J.; Westra, P.; Wright, T.R. Weed resistance to synthetic auxin herbicides: Weed resistance to synthetic auxin herbicides. *Pest. Manag. Sci.* **2018**, *74*(10), 2265–2276.
- [6] Schwartz-Lazaro, L.M.; Miller, M.R.; Norsworthy, J.K.; Scott, R.C. Comparison of Simulated Drift Rates of Common ALS-Inhibiting Rice Herbicides to Florpyrauxifen-Benzyl on Soybean. *Int. J. Agronomy.* **2017**, *2017*, 1–5.

- [7] Australian Pesticides and Veterinary Medicines (APVMA); On the evaluation of the new active florpyrauxifen-benzyl (Rinskor™) in the Product GF-3301 Herbicide; 2018. Available at <https://apvma.gov.au/node/29096> (accessed Feb 20, 2022).
- [8] Bundt, A.D.C.; Morel, M.; Neves, R. Introdução do rinskortm como ferramenta para manejo químico de capim arroz resistente à als. *Braz. J. Dev.* **2019**, *5*(11), 24502–24509.
- [9] Assunção, T.; Gomes, F.; Brandt, E.; Pereira, R. Novos agrotóxicos e o padrão de potabilidade da água: dinâmica ambiental e riscos à saúde. *Rev. Gest. Água Am. Lat.* **2020**, *17*(1), 16–0.
- [10] Wright, H.E.; Norsworthy, J.K.; Roberts, T.L.; Scott, R.C.; Hardke, J.T.; Gbur, E.E. Use of florpyrauxifen-benzyl in non-flooded rice production systems. *Crop, Forage & Turfgrass Mgmt.* **2021**, *7*(1).
- [11] Arena, M.; Auteri, D.; Barmaz, S.; Brancato, A.; Brocca, D.; et al. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance florpyrauxifen (variant assessed florpyrauxifen-benzyl); European Food Safety Authority journal. **2018**, *16*(8), 5378. doi: 10.2903/j.efsa.2018.5378
- [12] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); F71 - Florpirauxifen-benzil; 2020. Available at <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/f/4376jjson-file-1/view> (accessed Mar 1, 2022).
- [13] United States Environmental Protection Agency (USEPA); Method Validation Study for the Determination of Residues of XDE-848 Benzyl Ester and Three Metabolites (X11438848, X12300837 and X11966341) in Soil and Sediment by Liquid Chromatography with Tandem Mass; 2017. Available at https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-09/documents/ecm_-_florpyrauxifen-benzyl_degradates_in_soil_-_mrid_49677775.pdf
- [14] Araújo, E.A.; Lara, M.C.R.; Reis, M.R. dos; Viriato, R.L.S.; Rocha, R.A.R.; Gonçalves, R.G.L.; Heleno, F.F.; Queiroz, M.E.L.R. de; Tronto, J.; Pinto, F.G. Determination of Haloxyfop-Methyl, Linuron, and Procymidone Pesticides in Carrot Using SLE-LTP Extraction and GC-MS. *Food Anal. Methods.* **2016**, *9*(5), 1344–1352.
- [15] SANTE; Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues and Analysis in Food and Feed. Available at https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf (Accessed 14 Feb 2022).
- [16] Economou, A.; Botitsi, H.; Antoniou, S.; Tsipi, D. Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. of Chromatogr. A.* **2009**, *1216*(31), 5856–5867..
- [17] Tomasini, D.; Sampaio, M.R.F.; Caldas, S.S.; Buffon, J.G.; Duarte, F.A.; Primel, E.G. Simultaneous determination of pesticides and 5-hydroxymethylfurfural in honey by the modified

QuEChERS method and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*. **2012**, 99, 380–386.

[18] Sicupira, L.; Tiago, J.; Pinho, G. de; Silvério, F. Simultaneous Determination of 2,3,7,8-TCDD and 2,3,7,8-TCDF in Water Samples by LLE-LTP and HPLC-DAD. *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, 30(6), 1284-1292.

[19] Freitas, L.; Sicupira, L.; Pinho, G.; Silvério, F. Optimization and Validation of LLE-LTP and QuEChERS Methodologies for Determining 2,4-D in Water Samples. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, 31(9), 1898-1907.

[20] Freitas, L.V.P. de; Alves, L.M.G.; Sicupira, L.C.; Pinho, G.P. de; Silvério, F.O. Determination of DDT in honey samples by liquid–liquid extraction with low-temperature purification (LLE-LTP) combined to HPLC-DAD. *Anal. Methods*. **2021**, 13(16), 1955–1964.

[21] Resolução CONAMA No. 357/2005; Dispõe sobre a Classificação dos Corpos de Água e Diretrizes Ambientais para o seu Enquadramento, bem como Estabelece as Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes, e dá outras Providências; DOU N°. 053, de 18/03/2005. Available at http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf (Accessed 11 Feb 2022).

[22] Souza, S.V.C. de; Junqueira, R.G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. *Anal. Chim. Acta*. **2005**, 552(1–2), 25–35.

[23] Bazilio, F.S.; Bomfim, M.V.J.; Almeida, R.J.; Abrantes, S.M.P. Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo Linear. *Rev. Anal.* **2012**, 59, 60.

[24] Kadmi, Y.; Favier, L.; Yehya, T.; Soutrel, I.; Simion, A.I.; Vial, C.; Wolbert, D. Controlling contamination for determination of ultra-trace levels of priority pollutants chlorophenols in environmental water matrices. *Arabian Journal of Chemistry* **2019**, 12(8), 2905–2913.

[25] Tiago, J.P.F.; Sicupira, L.C.; Barros, R.E.; Pinho, G.P. de; Silvério, F.O. Simultaneous and direct determination of glyphosate and AMPA in water samples from the hydroponic cultivation of eucalyptus seedlings using HPLC-ICP-MS/MS. *J. Environ. Sci. Health, Part B*. **2020**, 55(6), 558–565.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foi otimizada e validada a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) e análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodo (HPLC-DAD) para o herbicida flopiraxifen-benzil. Até o momento, não há relatos de trabalhos que utilizam este mesmo método de extração e técnica de análise para o composto estudado.

Em comparação com o método de extração em fase sólida recomendado pela Agência de Proteção Ambiental Americana, o método ELL-PBT combinado ao HPLC-DAD otimizado e validado neste trabalho, apresenta-se como promissor tendo em vista menor número etapas, facilidade de reprodução, diminuição no gasto de solventes e com materiais específicos, como os cartuchos de adsorção.

A legislação brasileira não dispõe de um método de monitoramento em amostras ambientais para o flopiraxifen-benzil. Com isso o presente trabalho propõe uma alternativa eficiente e segura na realização do monitoramento do herbicida flopiraxifen-benzil em amostras de água.