

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GABRIEL OLIVEIRA ARAÚJO COSTA

**USO DE BIOSORVENTES PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE CAFÉ PARA
ADSORÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS
EM ÁGUAS RESIDUAIS, SEGUIDO DE DETERMINAÇÃO POR LC-MS/MS**

ALFENAS/MG

2026

GABRIEL OLIVEIRA ARAÚJO COSTA

**USO DE BIOSORVENTES PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE CAFÉ PARA
ADSORÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS
EM ÁGUAS RESIDUAIS, SEGUIDAS DE DETERMINAÇÃO POR LC-MS/MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química, pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariane Gonçalves Santos
Coorientador: Me. Saulo Alves de Souza

ALFENAS/MG

2026

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Costa, Gabriel Oliveira Araújo.

Uso de biossorventes provenientes de resíduos de café para adsorção e pré-concentração de pesticidas organofosforados em águas residuais, seguido de determinação por LC-MS/MS / Gabriel Oliveira Araújo Costa. - Alfenas, MG, 2026.

62 f. : il. -

Orientador(a): Mariane Gonçalves Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2026.

Bibliografia.

1. Pesticidas organofosforados. 2. Resíduos de café. 3. Biossorventes. 4. LC-MS/MS. 5. Química verde. I. Santos, Mariane Gonçalves, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

GABRIEL OLIVEIRA ARAÚJO COSTA

**USO DE BIOSORVENTES PROVENIENTES DE RESÍDUOS DE CAFÉ PARA
ADSORÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS
EM ÁGUAS RESIDUAIS, SEGUIDO DE DETERMINAÇÃO POR LC-MS/MS**

A Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovado em: 22 de junho de 2026.

Prof.^a Dr.^a Mariane Gonçalves Santos
Presidente da Banca Examinadora
Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo
Universidade Federal de Alfenas

Mestrando Caio Barreto Fernandes
Universidade Federal de Alfenas

AGRADECIMENTOS

À minha família, por todo o amor, apoio e incentivo durante essa caminhada. Obrigado por estarem ao meu lado em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis, sempre acreditando em mim e me dando forças para continuar. Esta conquista também é de vocês.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Mariane Gonçalves Santos, expresse minha profunda gratidão pela orientação, dedicação, paciência e pelos ensinamentos compartilhados durante o desenvolvimento deste trabalho. Sua contribuição foi fundamental para minha formação acadêmica e profissional.

Ao meu coorientador, Me. Saulo Alves de Souza, meu sincero agradecimento pelo suporte, pelas contribuições e pelo conhecimento transmitido durante este período.

Ao pessoal do laboratório, pela convivência, pelas trocas de conhecimento e por todo o aprendizado proporcionado no dia a dia. O ambiente construído por todos contribuiu muito para meu desenvolvimento durante a graduação.

Aos meus amigos, meu sincero agradecimento por toda a amizade, companheirismo, apoio e pelos inúmeros momentos compartilhados ao longo dessa jornada. Cada conversa, incentivo e momento de descontração contribuiu para tornar essa caminhada mais leve, agradável e significativa.

Em especial, agradeço à Julia, Heloísa, Luiza, Mirela, Larissa e Murilo, que estiveram presentes em diferentes momentos dessa trajetória, oferecendo apoio, compreensão e amizade. Levo comigo não apenas as conquistas acadêmicas alcançadas, mas também as lembranças, experiências e laços construídos ao longo desses anos.

À Universidade Federal de Alfenas, agradeço pela estrutura, pelo ensino de qualidade, pelas oportunidades proporcionadas ao longo da graduação e pela concessão da bolsa de iniciação científica, que foi fundamental para meu crescimento acadêmico e para o desenvolvimento deste trabalho. Também estendo meu agradecimento aos servidores e docentes da instituição, que contribuíram de forma importante para minha formação pessoal e profissional.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta trajetória e contribuíram para a realização deste trabalho. Cada apoio, conselho e incentivo foram importantes para que este momento se tornasse possível.

RESUMO

O uso intensivo de pesticidas organofosforados na agricultura tem contribuído para o aumento da contaminação ambiental, principalmente em águas superficiais e subterrâneas. Compostos como malathion, clorpirifós e dissulfoton apresentam elevada toxicidade e potencial risco à saúde humana e aos ecossistemas aquáticos, tornando necessário o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, seletivos e sustentáveis para seu monitoramento. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e otimizar uma metodologia analítica utilizando borra de café acidificada como bioissorvente para adsorção, extração e pré-concentração desses pesticidas em amostras aquáticas, seguida de determinação por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas *tandem* (LC-MS/MS). As condições de extração foram otimizadas por meio de planejamento fatorial fracionário, avaliando parâmetros relacionados ao sistema de extração em fase sólida (SPE). A condição otimizada empregou pH 3,0 para condicionamento e amostra, 25 mg de bioissorvente, volume de amostra de 10 mL e eluição com 0,5 mL de metanol. As análises foram realizadas em sistema LC-MS/MS triplo quadrupolo operando em modo SRM. O método apresentou adequada linearidade, com faixa linear de 5,0 a 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para malathion e de 25,0 a 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para dissulfoton e clorpirifós. Os limites de quantificação obtidos foram de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para malathion e 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os demais analitos. A precisão intradia e interdia apresentou coeficientes de variação dentro dos limites recomendados pelo documento SANTE/11312/2021, demonstrando boa repetibilidade e reprodutibilidade do método. Além disso, o procedimento apresentou baixo efeito de memória e adequada exatidão nas concentrações avaliadas. A aplicação da metodologia em amostras ambientais reais coletadas na região de Alfenas/MG permitiu identificar a presença dos pesticidas investigados em sete das amostras analisadas, sendo possível realizar a quantificação em três delas. A avaliação da sustentabilidade pelo software AGREEprep demonstrou que o método apresenta características alinhadas aos princípios da Química Verde, principalmente devido ao uso de um bioissorvente proveniente de resíduo agroindustrial e ao reduzido consumo de solventes orgânicos.

Palavras chaves: Pesticidas organofosforados; resíduos de café; bioissorvente; LC-MS/MS; química verde.

ABSTRACT

The intensive use of organophosphorus pesticides in agriculture has contributed to the increase in environmental contamination, mainly in surface and groundwater. Compounds such as malathion, chlorpyrifos, and disulfoton present high toxicity and potential risks to human health and aquatic ecosystems, making the development of sensitive, selective, and sustainable analytical methods necessary for their monitoring. In this context, the present study aimed to develop, optimize, and validate an analytical methodology using acidified spent coffee grounds as a biosorbent for the adsorption, extraction, and pre-concentration of these pesticides in aqueous samples, followed by determination using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Extraction conditions were optimized through a fractional factorial design, evaluating parameters related to the solid-phase extraction (SPE) system. The optimized condition employed pH 3.0 for both conditioning and sample preparation, 25 mg of biosorbent, a 10 mL sample volume, and elution with 0.5 mL of methanol. Analyses were performed using a triple quadrupole LC-MS/MS system operating in SRM mode. The method showed adequate linearity, with a linear range from 5.0 to 250.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for malathion and from 25.0 to 250.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for disulfoton and chlorpyrifos. The limits of quantification obtained were 5.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for malathion and 25.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for the other analytes. Intra-day and inter-day precision showed coefficients of variation within the limits recommended by the SANTE/11312/2021 document, demonstrating good repeatability and reproducibility of the method. In addition, the procedure showed low memory effect and adequate accuracy at the evaluated concentrations. The application of the methodology to real environmental water samples collected in the Alfenas/MG region allowed the identification of the investigated pesticides in seven of the analyzed samples, with quantification possible in three of them. The sustainability assessment using the AGREEprep software demonstrated that the method presents characteristics aligned with the principles of Green Chemistry, mainly due to the use of a biosorbent derived from agro-industrial waste and the reduced consumption of organic solvents.

Keywords: Organophosphorus pesticides; coffee waste; biosorbent; LC-MS/MS; green chemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular do Malathion e Malaoxon, respectivamente.....	18
Figura 2 – Estrutura molecular do Clorpirifós.....	19
Figura 3 – Estrutura molecular do Dissulfoton.	20
Figura 4 – Etapas da extração em fase sólida.	21
Figura 5 – Diagrama de Pareto.	38
Figura 6 – Cromatograma dos eluatos provenientes de uma amostra fortificada com os 3 pesticidas na concentração de 1 mg L ⁻¹	39
Figura 7 – Efeito de memória.	41
Figura 8 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada com malathion na concentração de 5 µg L ⁻¹ e dissulfoton e clorpirifós na concentração de 25 µg L ⁻¹ , utilizando as condições otimizadas.	44
Figura 9 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada os três pesticidas na concentração de 100 µg L ⁻¹ , utilizando as condições otimizadas.	45
Figura 10 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada os três pesticidas na concentração de 250 µg L ⁻¹ , utilizando as condições otimizadas.	45
Figura 11 – Efeito de matriz para o malathion.	49
Figura 12 – Efeito de matriz para o dissulfoton.	50
Figura 13 – Efeito de matriz para o clorpirifós.	50
Figura 14 – Gráfico AGREEprep.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores do planejamento fatorial fracionário.	30
Tabela 2 – Parâmetros MS/MS.....	36
Tabela 3 – Tabela com os valores do planejamento fatorial fracionário.....	37
Tabela 4 – Resultados do teste de limpeza.	40
Tabela 5 – Dados obtidos na etapa de determinação das figuras de mérito em água.....	42
Tabela 6 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o malathion.....	46
Tabela 7 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o dissulfoton.....	46
Tabela 8 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o clorpirifós.....	47
Tabela 9 – Concentrações dos pesticidas detectados em amostras ambientais.	51

LISTA DE SIGLAS

AChE	Acetilcolinesterase
AGREEprep	Analytical GREENess metric for sample preparation
APVMA	Australian pesticides and veterinary medicines authority
ATSDR	Agency for toxic substances and disease registry
COFs	Covalent organic frameworks
CV	Coefficiente de variação
d-SPE	Dispersive solid phase extraction
DAD	Detector por arranjo de diodos
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DPX	Disposable pipette extraction
EI	Ionização por impacto de elétrons
EPR	Erro padrão relativo
ESI	Ionização por electrospray
FAO	Food and agriculture organization
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GC-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas tandem
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HRMS	Espectrometria de massas de alta resolução
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MIPs	Molecularly imprinted polymers
MOFs	Metal-organic frameworks
MRM	Multiple reaction monitoring
MS	Espectrometria de massas
MS/MS	Espectrometria de massas tandem
MSPE	Magnetic solid phase extraction
m/z	Razão massa/carga
OPs	Organofosforados
PFAS	Substâncias perfluoroalquiladas e polifluoroalquiladas
Q1	Primeiro quadrupolo

Q2	Segundo quadrupolo
Q3	Terceiro quadrupolo
QTOF	Quadrupolo tempo de voo
QuEChERS	Quick, easy, cheap, ffective, rugged and safe
R ²	Coefficiente de determinação
SANTE	Health and food safety directorate-general
SPME	Microextração em fase sólida
SPE	Extração em fase sólida
SRM	Selected reaction monitoring
UV-DAD	Ultravioleta com detector por arranjo de diodos
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS	15
2.1.1 Malathion	17
2.1.2 Clorpirifós	18
2.1.3 Dissulfoton	19
2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	21
2.3 RESÍDUOS DE CAFÉ COMO BIOSORVENTES.....	22
2.4 ESPECTROMETRIA DE MASSAS	24
3 OBJETIVOS	27
3.1 OBJETIVO GERAL.....	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	28
4.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE.....	28
4.2.1 Otimização das condições MS/MS	28
4.3 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	29
4.3.1 Síntese do biossorvente	29
4.3.2 Condições iniciais de extração/concentração	29
4.3.3 Otimização das condições de extração utilizando planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹	30
4.3.4 Avaliação da etapa de limpeza na extração	32
4.3.5 Avaliação do efeito de memória	32
4.4 FIGURAS DE MÉRITO	32
4.4.1 Linearidade	32
4.4.2 Precisão e Exatidão	33
4.4.3 Limites de quantificação e detecção	33
4.5 EFEITO DE MATRIZ.....	34
4.6 ANÁLISE EM AMOSTRAS REAIS.....	34
4.7 AVALIAÇÃO DA SUSTENTABILIDADE PELO AGREEprep	35
5 RESULTADOS	35
5.1 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS MS/MS	35

5.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO.....	36
5.3 AVALIAÇÃO DA ETAPA DE LAVAGEM	39
5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE MEMÓRIA	40
5.5 FIGURAS DE MÉRITO	41
5.6 EFEITO DE MATRIZ.....	48
5.7 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS	51
5.8 AVALIAÇÃO DA SUSTENTABILIDADE ANALÍTICA	53
6 CONCLUSÃO.....	54
7 REFERÊNCIAS	55
APÊNDICE A – DECLARAÇÃO DE USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL	62

1 INTRODUÇÃO

A expansão da atividade agrícola nas últimas décadas tem contribuído para o aumento expressivo da utilização de pesticidas em diferentes culturas ao redor do mundo. Embora esses compostos desempenhem papel importante no controle de pragas e no aumento da produtividade agrícola, seu uso intensivo está associado à contaminação ambiental e a potenciais impactos toxicológicos para organismos não alvo e para a saúde humana (Pathak *et al.*, 2022; Shekhar *et al.*, 2024).

Entre os pesticidas mais utilizados atualmente, destacam-se os organofosforados, amplamente empregados devido à elevada eficiência inseticida e ao baixo custo de aplicação (FAO, 2021; WHO, 2020). Esses compostos atuam principalmente pela inibição da enzima acetilcolinesterase, provocando efeitos neurotóxicos que podem variar desde sintomas leves até intoxicações severas (Chen *et al.*, 2024; Jokanović, 2018). Além disso, estudos recentes apontam que a exposição prolongada a baixas concentrações desses pesticidas pode causar alterações neurocomportamentais e distúrbios endócrinos (Shekhar *et al.*, 2024).

Mesmo apresentando menor persistência ambiental quando comparados aos pesticidas organoclorados, os organofosforados ainda representam importante fonte de contaminação ambiental. Processos como lixiviação, infiltração e escoamento superficial favorecem o transporte desses compostos para águas superficiais e subterrâneas, tornando o monitoramento ambiental essencial em regiões agrícolas (Pathak *et al.*, 2022; Ore *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem (LC-MS/MS) destaca-se como uma das principais ferramentas para determinação de resíduos de pesticidas em níveis traço, devido à elevada sensibilidade e seletividade da técnica (Badawy *et al.*, 2022; Gu *et al.*, 2025). Entretanto, amostras ambientais constituem matrizes complexas, contendo matéria orgânica dissolvida, substâncias húmicas, sais inorgânicos, partículas em suspensão e outros contaminantes que podem ser coextraídos juntamente com os analitos de interesse. Esses componentes podem causar interferências analíticas e efeitos de matriz, como supressão ou intensificação do sinal na espectrometria de massas, comprometendo a exatidão e a sensibilidade do método (Keršňáková *et al.*, 2024). Dessa forma, etapas de preparo de amostras são fundamentais para aumentar a detectabilidade dos analitos, reduzir interferências e melhorar a confiabilidade dos resultados.

Entre as técnicas mais utilizadas para esse fim, a extração em fase sólida (SPE) apresenta elevada eficiência na limpeza da matriz e na pré-concentração dos compostos de interesse, além de reduzir o consumo de solventes orgânicos (Rosendo *et al.*, 2023; Keerthana *et al.*, 2024).

Nos últimos anos, diferentes materiais adsorventes vêm sendo investigados para aumentar a eficiência da SPE, incluindo biossorventes obtidos a partir de resíduos agroindustriais (Mpupa *et al.*, 2021; Mahdavijalal *et al.*, 2024).

Dentro dessa proposta, resíduos provenientes da cadeia produtiva do café vêm recebendo destaque devido à elevada disponibilidade, baixo custo e potencial de reaproveitamento. A borra de café apresenta composição rica em compostos lignocelulósicos e grupos funcionais capazes de interagir com diferentes contaminantes, tornando esse material promissor para aplicações envolvendo adsorção e preparo de amostras ambientais (Tang, 2024; Mlynarczkowska *et al.*, 2024).

O presente trabalho representa uma etapa de um estudo mais amplo envolvendo a síntese, caracterização e avaliação de oito diferentes materiais adsorventes obtidos a partir de resíduos de café (de Souza *et al.*, 2026). Após as etapas de caracterização físico-química e testes preliminares de desempenho, a borra de café acidificada foi selecionada como o material mais promissor para continuidade do desenvolvimento analítico. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver e otimizar um método de extração em fase sólida utilizando borra de café acidificada como biossorvente para adsorção e pré-concentração de pesticidas organofosforados em águas ambientais, seguido de determinação por LC-MS/MS.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PESTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Os pesticidas organofosforados (OPs) permanecem entre as classes mais relevantes de inseticidas utilizadas na agricultura moderna, especialmente em países em desenvolvimento. Embora tenham sido originalmente derivados de compostos estudados para fins bélicos no século XX, sua aplicação agrícola se consolidou devido à elevada eficiência no controle de pragas e ao perfil de menor persistência ambiental quando comparados a pesticidas organoclorados (Saad *et al.*, 2025; Gupta, 2008).

Quimicamente, os OPs correspondem a ésteres do ácido fosfórico, tiofosfórico ou ditiolfosfórico, contendo um átomo central de fósforo ligado a diferentes substituintes orgânicos. Essa diversidade estrutural resulta em ampla variação nas propriedades físico-químicas, como polaridade, solubilidade em água, volatilidade e estabilidade térmica (Hernández *et al.*, 2013). Em geral, esses compostos apresentam moderada solubilidade em

água e significativa lipossolubilidade, o que favorece sua absorção por membranas biológicas e potencial de distribuição em tecidos (Jokanović, 2018).

O principal mecanismo de ação dos organofosforados está associado à inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase (AChE), essencial para a transmissão de impulsos nervosos. A inibição dessa enzima leva ao acúmulo de acetilcolina nas sinapses, provocando hiperestimulação colinérgica, com efeitos que incluem desde alterações neuromusculares até falência respiratória em casos severos. Esse mecanismo é responsável tanto pela eficácia inseticida quanto pela elevada toxicidade desses compostos em organismos não alvo, incluindo seres humanos (Eaton *et al.*, 2008; Sidhu *et al.*, 2019).

Em relação às propriedades físicas, os organofosforados apresentam, em sua maioria, baixa pressão de vapor, o que limita sua volatilização. No entanto, compostos de menor massa molecular podem apresentar maior tendência à dispersão atmosférica. A estabilidade ambiental desses pesticidas é altamente dependente de fatores como pH, temperatura, umidade e incidência de radiação solar, sendo a hidrólise e a fotodegradação os principais processos de transformação (Hernández *et al.*, 2013).

No contexto ambiental, os organofosforados são considerados menos persistentes do que pesticidas organoclorados, devido à sua suscetibilidade à degradação química e biológica. Processos como hidrólise, oxidação e biodegradação microbiana contribuem para sua dissipação relativamente rápida (Saad *et al.*, 2025). Entretanto, em cenários de uso intensivo e aplicação contínua, esses compostos podem ser detectados em solos, águas superficiais e subterrâneas, representando risco para ecossistemas aquáticos e organismos não alvo (Ore *et al.*, 2023).

A mobilidade ambiental desses pesticidas está diretamente relacionada às suas propriedades físico-químicas e às características do solo. Em solos com baixo teor de matéria orgânica, a adsorção é reduzida, favorecendo processos de lixiviação e aumentando o risco de contaminação de águas subterrâneas. Por outro lado, em solos ricos em matéria orgânica, a retenção tende a ser maior, reduzindo sua mobilidade. Apesar de apresentar menor potencial de bioacumulação em comparação com compostos persistentes, a exposição crônica em ambientes aquáticos pode causar efeitos subletais significativos em organismos ali presentes (Ore *et al.*, 2023).

Do ponto de vista toxicológico, a exposição humana aos organofosforados pode ocorrer por vias oral, inalatória e dérmica, sendo trabalhadores rurais e aplicadores os grupos mais vulneráveis. Os efeitos agudos incluem sintomas colinérgicos clássicos, como náuseas, sudorese, broncoconstrição, tremores e convulsões (Jokanović, 2018). Além disso, evidências

recentes apontam para efeitos crônicos associados à exposição prolongada, incluindo distúrbios neurocomportamentais e possíveis impactos no desenvolvimento neurológico (Sidhu *et al.*, 2019).

2.1.1 Malathion

O Malathion é um inseticida organofosforado amplamente empregado no controle de pragas agrícolas e em programas de saúde pública destinados ao combate de vetores, como mosquitos transmissores de doenças. Seu uso se tornou frequente devido à elevada eficiência inseticida e ao custo relativamente acessível quando comparado a outros pesticidas da mesma classe. Apesar disso, o aumento da detecção desse composto em águas superficiais e subterrâneas tem gerado preocupação ambiental, principalmente em regiões de intensa atividade agrícola (Ore *et al.*, 2023; Gholamzadeh *et al.*, 2025).

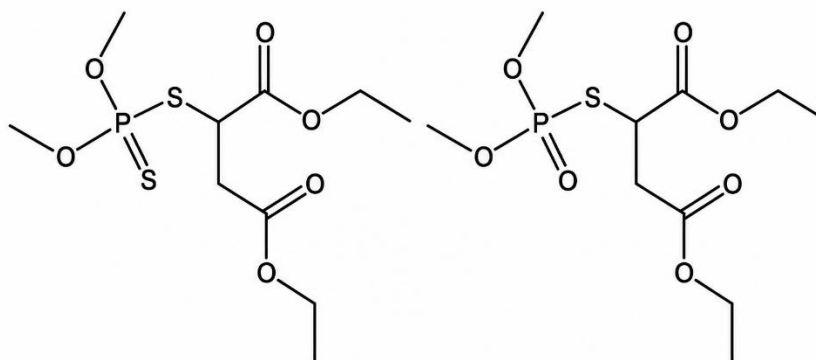
Diferentemente de alguns organofosforados mais persistentes, o malathion apresenta degradação relativamente rápida em determinadas condições ambientais. Processos como fotólise, hidrólise e biodegradação contribuem para sua transformação no meio ambiente. Entretanto, um aspecto importante desse pesticida é a formação do malaoxon, metabólito originado por oxidação que apresenta toxicidade significativamente maior que a molécula original, principalmente devido à maior capacidade de inibição da AChE (APVMA, 2024; Abdelfattah *et al.*, 2022).

A maior toxicidade do malaoxon está relacionada à substituição do grupo tiofosforila (P=S) presente no malathion por um grupo fosforila (P=O), formando um metabólito com maior afinidade pela enzima acetilcolinesterase. Como consequência, o malaoxon apresenta capacidade significativamente superior de inibição enzimática e é considerado o principal responsável pelos efeitos tóxicos associados à exposição ao malathion. Estudos demonstram que o malaoxon apresenta toxicidade substancialmente superior ao composto original, podendo ser entre 22 e 33 vezes mais tóxico dependendo da via de exposição, além de apresentar maior potencial de inibição da acetilcolinesterase devido à sua estrutura oxonada (Krstić *et al.*, 2008; Tchounwou *et al.*, 2015). Dessa forma, mesmo quando o malathion sofre degradação no ambiente, a formação do malaoxon pode representar um aumento temporário do risco toxicológico para organismos não alvo e para a saúde humana (APVMA, 2024; Tchounwou *et al.*, 2015).

A molécula do Malathion possui fórmula molecular $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ e massa molar aproximada de 330,36 g mol⁻¹. Sua estrutura contém grupos fosforoditioato e ésteres

carboxílicos, que influenciam diretamente propriedades como estabilidade química, solubilidade e interação com materiais adsorventes (Pubchem, 2026). Além disso, o composto apresenta caráter moderadamente hidrofóbico, favorecendo interações com matéria orgânica presente em solos e sedimentos (Rani *et al.*, 2022).

Figura 1 – Estrutura molecular do Malathion e Malaoxon, respectivamente.



Fonte: Adaptado de Pubchem (2026).

Embora o Malathion seja frequentemente descrito como menos tóxico que outros organofosforados, diversos estudos recentes demonstram que sua exposição contínua pode causar impactos relevantes em organismos não alvo. Em ambientes aquáticos, por exemplo, o pesticida está associado à indução de estresse oxidativo, danos celulares e alterações fisiológicas em peixes e outros organismos aquáticos, mesmo em baixas concentrações ambientais (Khatib *et al.*, 2023; Abdelfattah *et al.*, 2022).

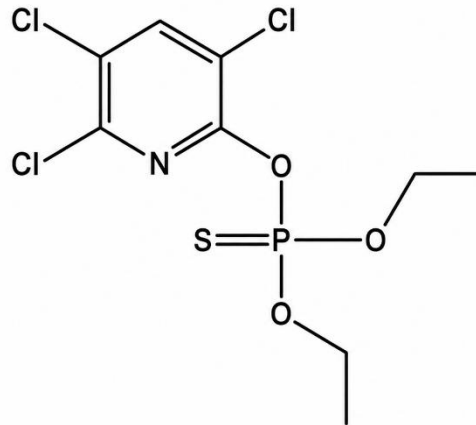
2.1.2 Clorpirifós

O Clorpirifós é um inseticida organofosforado de amplo espectro utilizado durante décadas no controle de diferentes pragas agrícolas. Seu emprego ocorreu em culturas como soja, milho, frutas e hortaliças, além de aplicações urbanas e veterinárias. Entretanto, nas últimas décadas, esse pesticida passou a ser amplamente discutido devido aos impactos ambientais e aos possíveis efeitos neurotóxicos associados à exposição humana, especialmente em exposições prolongadas e em crianças (European Commission, 2023; EPA, 2024).

Uma das principais características do Clorpirifós é sua elevada estabilidade ambiental quando comparado a outros pesticidas. A presença de três átomos de cloro em sua estrutura química contribui para maior persistência em solos, sedimentos e matéria orgânica. Além disso, o composto apresenta baixa solubilidade em água e elevada afinidade por fases orgânicas,

fatores que favorecem sua adsorção e dificultam processos naturais de remoção em ambientes contaminados (Wolejko *et al.*, 2022; Sami *et al.*, 2025).

Figura 2 – Estrutura molecular do Clorpirifós.



Fonte: Adaptado de Pubchem (2026).

A contaminação ambiental por Clorpirifós ocorre principalmente por processos de lixiviação, escoamento superficial e transporte atmosférico após aplicação agrícola. Resíduos desse pesticida já foram detectados em águas superficiais, sedimentos, alimentos e até em amostras biológicas humanas, demonstrando a ampla dispersão ambiental do composto (Kumar *et al.*, 2023).

2.1.3 Dissulfoton

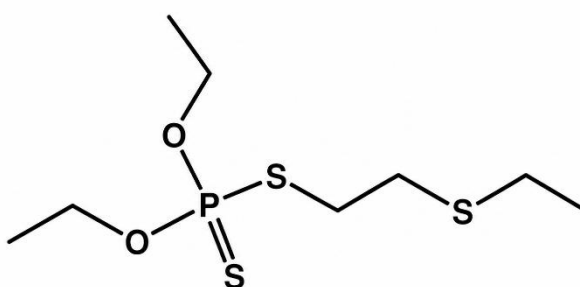
O Dissulfoton é um pesticida pertencente à classe dos organofosforados que foi amplamente utilizado no controle de insetos em diferentes culturas agrícolas, principalmente devido à sua ação sistêmica. Após a aplicação, o composto pode ser absorvido pela planta e distribuído pelos tecidos vegetais, permitindo proteção mais prolongada contra determinadas pragas. Seu uso ocorreu por muitos anos em culturas como milho, algodão, café e amendoim, embora atualmente exista maior preocupação relacionada aos impactos ambientais e toxicológicos associados a esse pesticida (EPA, 2024; Kaur *et al.*, 2022).

Uma característica importante do Dissulfoton é sua elevada toxicidade quando comparado a outros pesticidas organofosforados. Isso ocorre principalmente pela sua capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase, interferindo diretamente na transmissão dos

impulsos nervosos (ATSDR, 2021). Em casos de exposição aguda, podem ocorrer sintomas como náuseas, tremores musculares, dificuldade respiratória e alterações neurológicas. Além dos efeitos em humanos, estudos também relatam impactos negativos em organismos aquáticos e espécies não alvo expostas a resíduos do pesticida presentes no ambiente (Montouri *et al.*, 2022; Fent, 2014; Mosallaei *et al.*, 2024).

Do ponto de vista químico, o Dissulfoton possui fórmula molecular $C_8H_{19}O_2PS_3$ e apresenta três átomos de enxofre em sua estrutura. Essa composição influencia diretamente propriedades como estabilidade, reatividade e comportamento ambiental do composto. Em geral, o pesticida apresenta baixa solubilidade em água e maior afinidade por matéria orgânica, favorecendo sua adsorção em solos e sedimentos contaminados (ATSDR, 2021).

Figura 3 – Estrutura molecular do Dissulfoton.



Fonte: Adaptado de Pubchem (2026).

Outro fator relevante é a formação de produtos de transformação no ambiente. Durante processos oxidativos, o Dissulfoton pode originar metabólitos como dissulfoton sulfóxido e dissulfoton sulfona, compostos que também apresentam toxicidade significativa (Fent, 2014). Dessa forma, mesmo após processos parciais de degradação, ainda existe potencial risco ambiental associado à presença desses resíduos em matrizes ambientais, principalmente em regiões de intensa atividade agrícola (Montouri *et al.*, 2022).

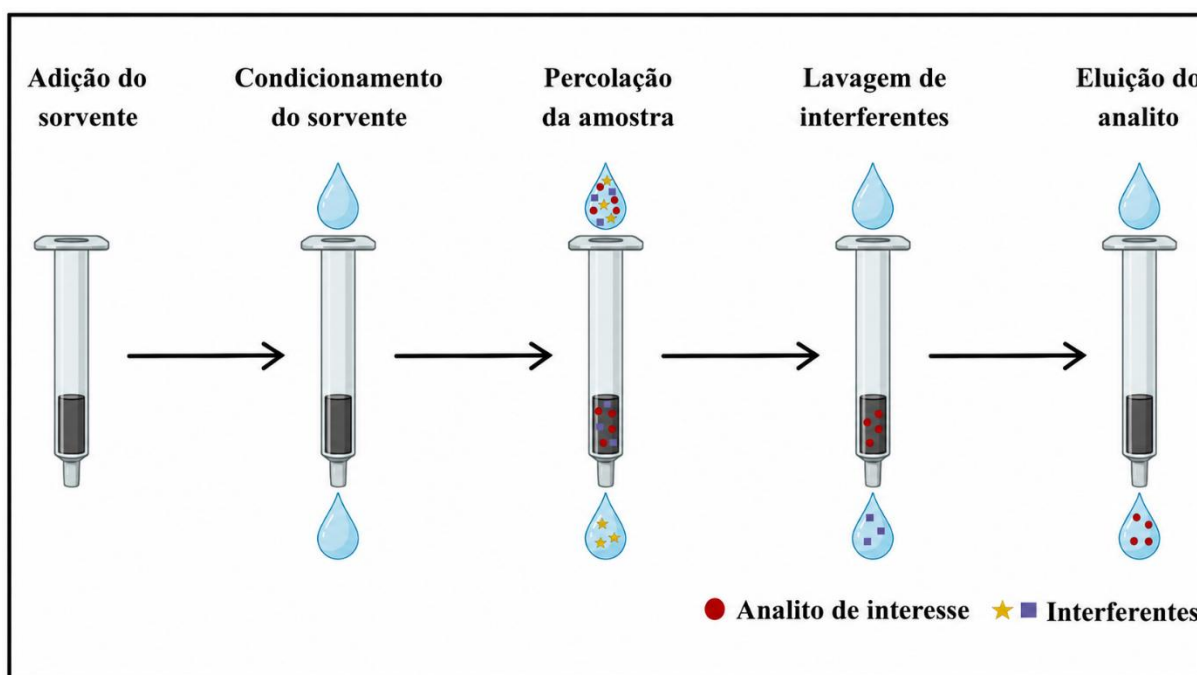
Em ambientes aquáticos, a presença desse pesticida tem sido associada à contaminação causada por lixiviação e escoamento superficial após aplicação agrícola. Embora o Dissulfoton apresente menor persistência que pesticidas organoclorados clássicos, sua toxicidade elevada faz com que mesmo pequenas concentrações possam representar risco para organismos aquáticos e para a qualidade ambiental das águas contaminadas (Mosallaei *et al.*, 2024).

2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) tornou-se uma das técnicas mais relevantes no preparo de amostras em química analítica. Sua principal função é isolar, purificar ou concentrar compostos de interesse em matrizes complexas, como águas, alimentos, fluidos biológicos e solos, por meio de um material sólido capaz de reter seletivamente os analitos. Nas últimas décadas, a SPE deixou de ser apenas uma alternativa à extração líquido-líquido e passou a ocupar papel central em protocolos analíticos de rotina, sobretudo quando associada a técnicas de alta sensibilidade, como a cromatografia líquida e a gasosa acopladas a espectrometria de massas (LC-MS e GC-MS) (Badawy *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2024).

O funcionamento da SPE baseia-se em interações físico-químicas entre o analito e o sorvente, que podem envolver desde forças hidrofóbicas e interações π - π até complexações metálicas. A eficiência do processo, no entanto, depende de fatores como pH, força iônica, tipo de solvente e tempo de contato. Alguns estudos mostram ainda que a técnica pode introduzir vieses na retenção de certas frações, como observado em análises ambientais de matéria orgânica dissolvida, evidenciando a importância de avaliar suas limitações metodológicas (Du *et al.*, 2024; Moody, 2020).

Figura 4 – Etapas da extração em fase sólida.



Fonte: Do autor (2026).

Entre os avanços mais significativos da SPE estão os novos materiais sorventes. Os polímeros moleculares impressos (MIPs), por exemplo, têm sido empregados para a determinação seletiva de fármacos e hormônios, oferecendo maior especificidade em comparação às fases clássicas de sílica C18 (Mpupa, 2021). Os nanomateriais magnéticos (MSPE), por sua vez, destacam-se pela rapidez, baixo consumo de solvente e pela possibilidade de separação com ímãs, o que simplifica etapas e reduz custos (Mahdavijalal *et al.*, 2024). Também ganham espaço os *metal-organic frameworks* (MOFs) e *covalent organic frameworks* (COFs), que apresentam elevada área superficial e porosidade ajustável, embora ainda enfrentem limitações quanto à estabilidade em matrizes aquosas (Hashemi *et al.*, 2017). Nesse cenário, biosorventes de resíduos de café, como casca e borra, também têm se mostrado alternativas promissoras para a pré-concentração de pesticidas, combinando baixo custo, abundância e bons resultados analíticos (Rocha *et al.*, 2024; Lita *et al.*, 2023; Milanković *et al.*, 2024). Paralelamente, materiais híbridos e sílicas funcionalizadas seguem como escolhas frequentes em análises de rotina, agora em versões mais seletivas e ambientalmente sustentáveis (Badawy *et al.*, 2022).

Além dos diferentes sorventes, a SPE também evoluiu em seus formatos. O uso tradicional em cartuchos continua comum, mas abordagens dispersivas, como o d-SPE e o QuEChERS, consolidaram-se como padrão em análises de pesticidas em alimentos, devido à praticidade e rapidez (Peter *et al.*, 2024). A microextração em fase sólida (SPME), por sua vez, ganhou destaque como alternativa miniaturizada, sem uso de solventes, e cada vez mais integrada a sistemas cromatográficos, acelerando processos e reduzindo a geração de resíduos (Keerthana *et al.*, 2024).

As aplicações da SPE refletem essa diversidade de formatos. Na área clínica, protocolos automatizados são utilizados para a extração de biomarcadores e fármacos em fluidos biológicos (Gu *et al.*, 2025). No monitoramento ambiental, a técnica continua indispensável na detecção de contaminantes emergentes, como pesticidas e PFAS, em águas e solos (Du *et al.*, 2024). Já no setor alimentício, o QuEChERS modificado firmou-se como método de rotina para análise de resíduos de pesticidas em diferentes matrizes (Peter *et al.*, 2024).

2.3 RESÍDUOS DE CAFÉ COMO BIORVENTES

Os resíduos gerados pela cadeia produtiva do café, como a casca, a polpa, o pergaminho e a borra de café, têm despertado grande interesse como materiais adsorventes devido à sua elevada disponibilidade, baixo custo e composição lignocelulósica. Esses resíduos são

formados principalmente por celulose, hemicelulose, lignina, compostos fenólicos e frações carbonáceas, além de apresentarem grupos funcionais como hidroxilas, carboxilas, carbonilas e fenóis, que podem atuar como sítios ativos para a retenção de contaminantes em meio aquoso (Quyên *et al.*, 2021; Flores *et al.*, 2024; Pilto *et al.*, 2025). Esses grupos favorecem mecanismos como interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, complexação, preenchimento de poros e interações π - π , dependendo da natureza do contaminante e do tratamento aplicado ao resíduo (El-Shafie *et al.*, 2024; Pilto *et al.*, 2025).

Entre esses materiais, a casca de café se destaca por ser um resíduo agrícola gerado em grande quantidade durante o beneficiamento dos grãos. Estudos recentes demonstram que a casca pode ser utilizada tanto in natura quanto após tratamentos químicos ou térmicos para a remoção de corantes, metais e outros poluentes. Quyên *et al.* (2021) produziram um bioissorvente derivado da casca de café para remoção de Pb^{2+} e Cd^{2+} em águas residuais, destacando a importância da modificação alcalina para aumentar a área superficial e os grupos funcionais disponíveis. De modo semelhante, Pilto *et al.* (2025) compararam casca de café bruta e tratada com ácido para remoção do corante vermelho Congo, observando que o tratamento ácido aumentou a porosidade e melhorou o desempenho adsorptivo do material.

A casca de café também vem sendo explorada na forma de biocarvão e hidrocarvão. Mukarunyana *et al.* (2026) avaliaram hidrocarvões e biocarvões obtidos de polpa e casca de café para remoção de polifenóis e pesticidas em águas residuais do processamento cafeeiro, aproximando esse tipo de material de aplicações ambientais reais. Além disso, estudos com biocarvão de casca de café indicam boa eficiência na remoção de agroquímicos e metais, reforçando seu potencial como alternativa sustentável para tratamento de efluentes contaminados (Puari *et al.*, 2026).

A borra de café, por sua vez, é um resíduo gerado após o preparo da bebida e possui composição rica em carbono, lipídios, polissacarídeos e compostos aromáticos. Essa estrutura favorece sua aplicação como adsorvente para contaminantes orgânicos e inorgânicos. Flores *et al.* (2024) desenvolveram um bioissorvente formado por borra de café e alginato de cálcio para remoção de azul de metileno, obtendo elevada capacidade máxima de adsorção e boa estabilidade em ampla faixa de pH. Já El-Shafie *et al.* (2024) utilizaram biocarvão de borra de café impregnado com óxido de níquel para remoção dos antibióticos daunorrubicina e tigeciclina, demonstrando que modificações na superfície podem aumentar a área específica e melhorar a retenção de contaminantes farmacêuticos.

Além de corantes, metais e fármacos, os resíduos de café também têm sido aplicados na remoção de pesticidas. Milanković *et al.* (2023) estudaram a borra de café como adsorvente

para malathion e clorpirifós, dois pesticidas organofosforados de relevância ambiental, enquanto Milanković *et al.* (2024) avaliaram borra de café ativada com KOH para remoção de xenobióticos organofosforados em água. Esses trabalhos mostram que a borra pode ser empregada não apenas no tratamento de águas contaminadas, mas também como material de interesse para etapas de extração, pré-concentração e preparo de amostras em métodos analíticos (Milanković *et al.*, 2023; Milanković *et al.*, 2024).

O uso de resíduos de café como adsorventes está diretamente relacionado aos princípios da Química Verde, principalmente por promover o reaproveitamento de resíduos, reduzir a dependência de adsorventes sintéticos de maior custo e estimular processos mais sustentáveis. Essa abordagem também se aproxima da economia circular, pois transforma subprodutos agroindustriais e domésticos em materiais de maior valor agregado para remediação ambiental e desenvolvimento de métodos analíticos mais limpos (Pongsiriyakulet *et al.*, 2024; Dari *et al.*, 2025).

Apesar do bom desempenho dos resíduos *in natura*, tratamentos químicos são frequentemente empregados para melhorar suas propriedades adsorptivas. A acidificação, por exemplo, pode remover impurezas minerais, aumentar a exposição de grupos oxigenados e modificar a carga superficial do material. No caso da casca de café, Pilto *et al.* (2025) observaram que o tratamento com HCl aumentou a porosidade e favoreceu a adsorção do vermelho Congo. Para a borra de café, Akindolie e Choi (2022) ativaram a superfície com ácido fosfórico para melhorar a remoção de azul de metileno, enquanto Araya-Sibaja *et al.* (2025) compararam diferentes formas de limpeza e modificação da borra, incluindo tratamento com HNO₃, observando aumento de grupos funcionais e melhora na adsorção.

2.4 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A espectrometria de massas é uma das técnicas instrumentais mais importantes da química analítica moderna, sendo amplamente utilizada na identificação, confirmação estrutural e quantificação de compostos químicos em diferentes matrizes. Sua aplicação tem crescido significativamente nas últimas décadas devido à elevada sensibilidade analítica, rapidez de análise e capacidade de detectar compostos em níveis traço, características fundamentais para áreas como monitoramento ambiental, análises farmacêuticas, toxicologia, metabolômica e determinação de resíduos de pesticidas (Ramadan *et al.*, 2024). Em análises ambientais, especialmente, a técnica tornou-se essencial para a determinação de contaminantes presentes em concentrações muito baixas e em matrizes complexas, nas quais técnicas

convencionais frequentemente apresentam limitações de seletividade (Keršňáková *et al.*, 2024; Tarábek *et al.*, 2024).

O princípio geral da espectrometria de massas baseia-se na conversão das moléculas presentes na amostra em íons em fase gasosa, seguida da separação desses íons conforme sua razão massa/carga (m/z) e posterior detecção. De forma simplificada, um espectrômetro de massas é composto por três partes principais: fonte de ionização, analisador de massas e detector. Inicialmente, os compostos são ionizados, produzindo espécies carregadas eletricamente; posteriormente, os íons formados são separados de acordo com seus valores de m/z ; por fim, o detector converte os sinais iônicos em dados analíticos, gerando o espectro de massas característico do analito (De Hoffmann; Stroobant, 2013).

A eficiência da técnica depende diretamente da forma como os compostos são ionizados. Entre as fontes de ionização mais utilizadas em química analítica destacam-se a ionização por impacto de elétrons (EI), frequentemente aplicada em GC-MS, e a ionização por eletrospray (ESI), amplamente empregada em sistemas de LC-MS. A ESI apresenta elevada eficiência para compostos polares, termicamente instáveis e pouco voláteis, tornando-se particularmente importante na determinação de pesticidas, fármacos e contaminantes emergentes em matrizes ambientais (Kruve *et al.*, 2015).

A associação entre cromatografia líquida e espectrometria de massas representou um avanço significativo para a química analítica ambiental. Enquanto a cromatografia líquida promove a separação dos compostos presentes na amostra, a espectrometria de massas fornece elevada seletividade molecular e confirmação estrutural dos analitos. Dessa forma, a LC-MS tornou-se uma das técnicas mais empregadas em métodos multiclases e multirresíduos, especialmente na determinação de pesticidas em águas superficiais, águas subterrâneas, sedimentos e alimentos (Zhang *et al.*, 2023; Keršňáková *et al.*, 2024).

Entre as diferentes configurações instrumentais disponíveis, a espectrometria de massas em *tandem* (MS/MS) se destaca devido à sua elevada seletividade analítica. Nessa configuração, um íon precursor é inicialmente selecionado, fragmentado em uma célula de colisão e, posteriormente, os íons produto gerados são monitorados. Esse processo reduz significativamente interferências provenientes da matriz e aumenta a confiabilidade da identificação dos compostos analisados (Harris, 2023).

Os sistemas do tipo triplo quadrupolo estão entre os mais utilizados em análises quantitativas por LC-MS/MS. Nesses equipamentos, o primeiro quadrupolo (Q1) seleciona o íon precursor de interesse; o segundo quadrupolo (Q2), conhecido como célula de colisão, promove a fragmentação dos íons por dissociação induzida por colisão; e o terceiro quadrupolo

(Q3) seleciona fragmentos específicos produzidos durante a fragmentação. Essa configuração é amplamente utilizada em métodos quantitativos por monitoramento de reações selecionadas (SRM), nos quais transições específicas precursor/produto são acompanhadas para cada analito (De Hoffmann; Stroobant, 2013).

A utilização do modo SRM ou *Multiple reaction monitoring* (MRM) proporciona elevada seletividade e sensibilidade analítica, sendo particularmente importante em análises ambientais de pesticidas em níveis traço. Em métodos multirresíduos, diferentes compostos podem apresentar massas semelhantes ou coeluir durante a separação cromatográfica. Nesse contexto, o monitoramento de transições específicas precursor-produto reduz interferências da matriz e aumenta significativamente a confiabilidade da identificação e quantificação dos analitos. Em comparação aos detectores UV-DAD, cuja identificação é baseada principalmente no tempo de retenção e no espectro de absorção no ultravioleta, a espectrometria de massas em modo MRM fornece uma etapa adicional de seletividade por meio da seleção de íons precursores e produtos característicos de cada composto. Essa característica minimiza problemas decorrentes da coeluição de interferentes da matriz e permite a determinação de contaminantes em concentrações significativamente menores do que aquelas normalmente alcançadas por detectores espectrofotométricos (Keršňáková *et al.*, 2024). Além disso, a técnica possibilita atingir baixos limites de detecção e quantificação mesmo em matrizes complexas, característica essencial para o monitoramento ambiental de contaminantes orgânicos.

Outro aspecto importante em métodos por LC-MS/MS envolve os efeitos de matriz, fenômeno que pode causar supressão ou intensificação do sinal analítico devido à presença de compostos coextraídos da amostra. Esses compostos podem competir com os analitos durante o processo de ionização na fonte do espectrômetro de massas, reduzindo a eficiência de formação dos íons e causando supressão do sinal, ou, em alguns casos, favorecendo a ionização e promovendo sua intensificação. Como consequência, a resposta instrumental pode ser subestimada ou superestimada, comprometendo a exatidão e a precisão das determinações quantitativas. Segundo Keršňáková *et al.* (2024), os efeitos de matriz continuam sendo um dos principais desafios em métodos multiclases para análise de pesticidas, fármacos e substâncias perfluoroalquiladas em águas subterrâneas. Dessa forma, etapas de preparo de amostra, como a extração em fase sólida (SPE), desempenham papel fundamental na remoção de interferentes, na redução dos efeitos de matriz e no aumento da seletividade analítica.

Nos últimos anos, a espectrometria de massas também passou por avanços relacionados ao desenvolvimento de equipamentos de alta resolução, como Orbitrap e quadrupolo com tempo de voo (QTOF). Esses sistemas permitem análises direcionadas e não direcionadas,

possibilitando a investigação simultânea de centenas de compostos em uma única corrida analítica. Diferentemente dos métodos convencionais, que monitoram analitos previamente definidos, a espectrometria de massas de alta resolução permite a identificação de contaminantes desconhecidos ou ainda não monitorados rotineiramente (Tarábek *et al.*, 2024).

Tarábek *et al.* (2024), por exemplo, utilizaram LC-HRMS/MS associada a bibliotecas espectrais para investigar contaminantes orgânicos em águas superficiais, subterrâneas, sedimentos e lodos. O estudo identificou aproximadamente 870 compostos em 275 amostras ambientais, demonstrando o potencial da técnica para programas modernos de monitoramento ambiental. Da mesma forma, Ramadan *et al.* (2024) desenvolveram um método por SPE-LC-MS/MS para determinação simultânea de contaminantes emergentes em matrizes aquáticas, obtendo recuperações entre 72 e 114% e baixos limites de detecção, evidenciando a elevada aplicabilidade da técnica em análises ambientais.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver, otimizar e determinar as figuras de mérito de uma metodologia analítica baseada na utilização de borra de café acidificada como biossorvente associada à cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas *tandem* para extração, identificação e determinação dos pesticidas organofosforados clorpirifós, dissulfoton e malathion em amostras ambientais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar extração sólido-líquido utilizando borra de café acidificada;
- Otimizar método de identificação dos pesticidas organofosforados clorpirifós, dissulfoton e malathion por cromatografia líquida acoplado a espectrometria de massas *tandem*;
- Averiguar a eficácia da borra de café acidificada como biossorvente na extração de padrões de clorpirifós, dissulfoton e malathion;
- Determinar as figuras de mérito a partir de parâmetros estabelecidos por órgãos reguladores;
- Aplicar a metodologia otimizada na análise de amostras ambientais reais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Foram preparadas soluções padrão de malathion, dissulfoton e clorpirifós (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), cada uma na concentração de 1000 mg L^{-1} , utilizando metanol grau HPLC (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha) como solvente. Após o preparo, os estoques foram mantidos sob condições de refrigeração. O mesmo solvente e ácido fórmico (Biotec, Londrina, Brasil) foram empregados na formulação das fases móveis.

As soluções aquosas empregadas ao longo dos experimentos foram obtidas com água ultrapura proveniente de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA), com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$.

4.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ANÁLISE

4.2.1 Otimização das condições MS/MS

Para a realização das análises, foi utilizado um sistema LC-MS/MS 8030 (Shimadzu®, Kyoto, Japão), com analisador triplo quadrupolo e fonte de ionização por electrospray (ESI). A definição das condições do espectrômetro de massas foi feita a partir da injeção direta de soluções padrão dos analitos, na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, etapa em que também se ajustaram manualmente as transições m/z , a voltagem do cone e a energia de colisão, buscando maior intensidade de resposta. Paralelamente, parâmetros operacionais do equipamento, como as temperaturas da interface e do bloco de aquecimento, além das vazões dos gases de nebulização e secagem, foram regulados conforme o desempenho observado.

A fase móvel adotada consistiu em uma mistura de metanol com 1% de ácido fórmico e água, na proporção 80:20, baseada em métodos já descritos para determinação de pesticidas por LC-MS/MS (Lee e Kim, 2020). As análises foram conduzidas com vazão de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $20 \mu\text{L}$, sem o uso de coluna cromatográfica. Os dados obtidos durante as análises foram registrados e processados no software LabSolutions®.

4.3 OTIMIZAÇÃO DO SISTEMA DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Neste estudo, utilizou-se como fase adsorvente a borra de café previamente acidificada, sendo aproximadamente 5 mg do material condicionados em cartuchos de SPE de polipropileno. O processo de extração foi conduzido com auxílio de um sistema a vácuo, composto por uma bomba (Primatec, Itu, São Paulo, Brasil) acoplada a um manifold (PrepSep 12-Port Vacuum Manifold, São Paulo, Brasil).

4.3.1 Síntese do biossorvente

A borra de café acidificada utilizada como fase adsorvente na extração em fase sólida foi preparada conforme metodologia descrita por de Souza *et al.* (2026). Inicialmente, a borra de café residual foi lavada repetidamente com água destilada aquecida a 90 °C até que a água de lavagem se tornasse incolor, visando à remoção de compostos solúveis residuais. Em seguida, o material foi seco em estufa a 80 °C por 48 h. Após a secagem, 30,0 g da borra foram adicionados a 200 mL de solução de ácido cítrico 0,6 mol L⁻¹ e mantidos sob agitação magnética contínua a 60 °C durante 12 h. Posteriormente, a temperatura foi elevada para 100 °C para promover a evaporação do solvente até próximo da secura. O material obtido foi então lavado exaustivamente com água destilada por filtração a vácuo até que o filtrado apresentasse pH neutro, removendo resíduos de ácido cítrico não ligados à superfície. Por fim, a borra de café modificada foi seca em estufa a 80 °C por 24 h, obtendo-se a borra de café acidificada, utilizada como biossorvente nos experimentos de extração em fase sólida.

O tratamento ácido promove a introdução de grupos carboxílicos (-COOH) na superfície do material, aumentando o número de sítios ativos e favorecendo a adsorção dos analitos por mecanismos de interação superficial.

4.3.2 Condições iniciais de extração/concentração

Antes das extrações, alguns parâmetros foram definidos com base nas características da matriz, no comportamento esperado dos analitos e em informações disponíveis na literatura, servindo como ponto de partida para os testes.

Os cartuchos contendo a borra de café acidificada passaram inicialmente por uma etapa simples de condicionamento com 1 mL de água ultrapura, com o objetivo de preparar o material para o contato com a amostra. As amostras de água, coletadas na região de Alfenas, foram

previamente filtradas em membranas de 0,28 μm e utilizadas sem ajuste de pH, empregando-se um volume inicial de 5 mL.

Durante a etapa de percolação, a vazão foi controlada pelas válvulas do próprio manifold, sendo mantida em aproximadamente 1 mL min^{-1} . Após a retenção dos analitos, realizou-se a etapa de eluição com 0,5 mL de metanol. O eluato obtido foi então filtrado em membranas de PTFE de 0,45 μm antes das análises.

4.3.3 Otimização das condições de extração utilizando planejamento fatorial fracionário 2^{5-1}

Para investigar os fatores que mais influenciam o desempenho da extração, empregou-se um planejamento fatorial fracionário envolvendo cinco variáveis experimentais. Essa abordagem permitiu avaliar simultaneamente os principais parâmetros relacionados ao processo de adsorção e eluição dos pesticidas, reduzindo o número de experimentos necessários.

As variáveis estudadas foram: pH de condicionamento do cartucho, pH da amostra, massa de biossorvente, volume de amostra e volume de eluente. Os níveis avaliados para cada parâmetro foram definidos com base em estudos preliminares e em dados reportados na literatura para extração de pesticidas por SPE.

Os ajustes de pH foram realizados utilizando soluções de ácido fórmico a 10% e hidróxido de amônio 0,1 mol L^{-1} . Durante a etapa de condicionamento, os cartuchos foram preparados com água ultrapura, enquanto a eluição dos analitos foi realizada utilizando metanol, escolhido devido à afinidade com os compostos organofosforados investigados.

A matriz experimental foi construída utilizando níveis codificados em valores inferiores (-1), superiores (+1) e ponto central (0), sendo este último realizado em triplicata para avaliação da repetibilidade experimental. Os valores empregados no planejamento estão apresentados na Tabela 1.

Após cada ensaio, os extratos obtidos foram submetidos à análise por LC-MS/MS nas condições previamente otimizadas.

Tabela 1 – Valores do planejamento fatorial fracionário.

(continua)

Experimentos	pH condicionamento	pH amostra	Massa (mg)	Volume de amostra	Volume de eluente
1	3 (-1)	3 (-1)	25 (-1)	1 (-1)	2 (1)

Tabela 1 – Valores do planejamento fatorial fracionário.

Experimentos	(conclusão)				
	pH condicionamento	pH amostra	Massa (mg)	Volume de amostra	Volume de eluente
2	11 (1)	3 (-1)	25 (-1)	1 (-1)	0,5 (-1)
3	3 (-1)	11 (1)	25 (-1)	1 (-1)	0,5 (-1)
4	11 (1)	11 (1)	25 (-1)	1 (-1)	2 (1)
5	3 (-1)	3 (-1)	200 (1)	1 (-1)	0,5 (-1)
6	11 (1)	3 (-1)	200 (1)	1 (-1)	2 (1)
7	3 (-1)	11 (1)	200 (1)	1 (-1)	2 (1)
8	11 (1)	11 (1)	200 (1)	1 (-1)	0,5 (-1)
9	3 (-1)	3 (-1)	25 (-1)	10 (1)	0,5 (-1)
10	11 (1)	3 (-1)	25 (-1)	10 (1)	2 (1)
11	3 (-1)	11 (1)	25 (-1)	10 (1)	2 (1)
12	11 (1)	11 (1)	25 (-1)	10 (1)	0,5 (-1)
13	3 (-1)	3 (-1)	200 (1)	10 (1)	2 (1)
14	11 (1)	3 (-1)	200 (1)	10 (1)	0,5 (-1)
15	3 (-1)	11 (1)	200 (1)	10 (1)	0,5 (-1)
16	11 (1)	11 (1)	200 (1)	10 (1)	2 (1)
17	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)
18	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)
19	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Para comparar simultaneamente o desempenho das diferentes condições experimentais para os três pesticidas estudados, foi utilizada a resposta múltipla (RM), calculada de acordo com a Equação 1.

$$\text{Equação (1)} : RM = \frac{x}{\text{maior área}} + \frac{y}{\text{maior área}} + \frac{z}{\text{maior área}}$$

Em que x, y e z correspondem às áreas cromatográficas obtidas para malathion, dissulfoton e clorpirifós, enquanto os denominadores correspondem aos maiores valores de área obtidos para cada um desses compostos. A normalização das respostas individuais permite comparar simultaneamente o desempenho das condições avaliadas para os três pesticidas, minimizando a influência das diferenças de resposta instrumental entre os compostos. Dessa forma, maiores valores de resposta RM indicam melhor desempenho global do sistema de extração.

4.3.4 Avaliação da etapa de limpeza na extração

Buscando melhorar a qualidade das análises e minimizar possíveis interferências da matriz, foi incluída uma etapa adicional de limpeza no procedimento. Essa etapa foi realizada após a passagem da amostra pelos cartuchos contendo a borra de café acidificada e antes da eluição dos analitos.

Para isso, 1 mL de água ultrapura foi percolado pelo cartucho, promovendo a remoção de compostos interferentes fracamente retidos. Em seguida, realizou-se a eluição com 0,5 mL de metanol. Os extratos obtidos foram então analisados por LC-MS/MS.

4.3.5 Avaliação do efeito de memória

Para verificar a ocorrência de efeito de memória no material, foi testada uma etapa de lavagem dos cartuchos ao longo de extrações sucessivas. Nesse procedimento, foram realizadas dez extrações consecutivas utilizando os cartuchos contendo a borra de café acidificada.

Entre cada extração, aplicou-se uma etapa de limpeza com 1 mL de metanol contendo 0,1% de ácido fórmico, percolado pelo cartucho antes do próximo ciclo. Após cada extração, os extratos obtidos foram analisados por LC-MS/MS, permitindo avaliar possíveis sinais residuais entre as etapas.

4.4 FIGURAS DE MÉRITO

4.4.1 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada de acordo com os critérios recomendados pelo documento SANTE/11312/2021, amplamente utilizado na validação de métodos para determinação de resíduos de pesticidas.

Para essa etapa, foram preparadas curvas analíticas em matriz utilizando amostras de água provenientes da região de Alfenas/MG. As análises foram realizadas em seis repetições para cada nível de concentração, buscando verificar a relação entre a resposta instrumental e a concentração dos analitos.

No caso do malathion, a faixa estudada compreendeu concentrações entre 5,0 e 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para o dissulfoton e o clorpirifós, as curvas foram construídas utilizando concentrações entre 25,0 e 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os dados obtidos foram submetidos à regressão linear para obtenção das equações das curvas analíticas e dos coeficientes de correlação (r). O método foi considerado linear quando os valores de “r” apresentaram resultados iguais ou superiores a 0,99, indicando adequada proporcionalidade entre concentração e resposta analítica.

4.4.2 Precisão e Exatidão

A precisão e a exatidão do método foram determinadas por meio de análises em condições de repetibilidade e reprodutibilidade, utilizando amostras de água fortificadas com os pesticidas estudados em diferentes níveis de concentração.

As análises foram realizadas em seis repetições (n = 6). Para o malathion, empregaram-se concentrações de 5,0; 100,0 e 250,0 µg L⁻¹. Já para o dissulfoton e o clorpirifós, foram utilizadas concentrações de 25,0; 100,0 e 250,0 µg L⁻¹.

A repetibilidade foi avaliada por análises realizadas no mesmo dia, enquanto a reprodutibilidade foi investigada em dias distintos, permitindo verificar a estabilidade do método ao longo do tempo.

Os resultados de precisão foram expressos em coeficiente de variação (CV), enquanto a exatidão foi calculada utilizando o erro padrão relativo (EPR), conforme apresentado nas Equações 2 e 3

O método foi considerado adequado quando os valores de CV e EPR permaneceram dentro dos limites recomendados pelo documento SANTE/11312/2021, sendo aceitos valores de até 20% para o limite de quantificação e inferiores a 15% para as demais concentrações avaliadas.

$$\text{Equação (2): } CV = \left(\frac{\text{Desvio Padrão}}{\text{Concentração média experimental}} \right) \times 100\%$$

$$\text{Equação (3): } EPR = \left(\frac{\text{Concentração média experimental} - \text{Concentração Teórica}}{\text{Concentração Teórica}} \right) \times 100\%$$

4.4.3 Limites de quantificação e detecção

O limite de quantificação (LQ) foi definido como a menor concentração capaz de ser determinada de forma confiável pelo método, apresentando níveis aceitáveis de precisão e

exatidão. Esse parâmetro foi estabelecido experimentalmente a partir do menor nível de concentração que atendeu aos critérios adotados.

Já o limite de detecção (LD) correspondeu à menor concentração em que foi possível detectar a presença do analito, mesmo sem garantir quantificação precisa. A estimativa desse parâmetro foi realizada considerando a relação sinal/ruído obtida nas análises cromatográficas.

Os valores obtidos para LD e LQ foram utilizados para avaliar a sensibilidade do método desenvolvido para determinação dos pesticidas organofosforados em amostras de água ambiental.

4.5 EFEITO DE MATRIZ

O efeito de matriz foi avaliado a partir da comparação entre curvas analíticas preparadas em solvente e curvas obtidas utilizando extratos da própria matriz. Essa avaliação foi realizada para os pesticidas malathion, clorpirifós e dissulfoton, com o objetivo de verificar possíveis interferências da matriz na resposta analítica do método.

Inicialmente, foi feita uma comparação visual entre as curvas analíticas por meio dos coeficientes angulares obtidos nas regressões lineares, observando possíveis alterações na inclinação das retas na presença da matriz.

Posteriormente, o efeito de matriz foi determinado de forma quantitativa utilizando os coeficientes angulares das curvas obtidas em solvente puro e em extrato de matriz, conforme apresentado na Equação 4. Para isso, comparou-se o coeficiente angular da curva preparada em solvente (S_{solvente}) com aquele obtido para a curva em matriz (S_{extrato}), permitindo expressar o efeito de matriz em porcentagem.

$$\text{Equação (4): } EM\% = \frac{S_{\text{extrato}} - S_{\text{solvente}}}{S_{\text{solvente}}} \times 100$$

4.6 ANÁLISE EM AMOSTRAS REAIS

Após as etapas de otimização e determinação das figuras de mérito, o método foi aplicado à análise de quatorze amostras de água ambiental coletadas na região de Alfenas/MG e cidades vizinhas.

As amostras passaram por filtração logo após a coleta e foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, sendo mantidas sob refrigeração até o momento das análises. Antes da

aplicação do método, realizou-se o ajuste de pH para 3,0 utilizando solução de ácido fórmico na concentração 0,1 mol L⁻¹.

4.7 AVALIAÇÃO DA SUSTENTABILIDADE PELO AGREEprep

A avaliação da sustentabilidade do método analítico desenvolvido foi realizada utilizando a ferramenta AGREEprep, proposta para analisar o grau de aderência de procedimentos de preparo de amostras aos princípios da Química Analítica Verde e Sustentável. Essa métrica baseia-se nos dez princípios do preparo de amostras verde, permitindo uma análise visual e quantitativa da sustentabilidade do método empregado (Wojnowski *et al.*, 2022).

O software AGREEprep gera um diagrama circular dividido em dez seções, em que cada uma representa um princípio relacionado ao preparo de amostras, como redução do consumo de solventes, minimização da geração de resíduos, diminuição do gasto energético, segurança do analista, simplificação das etapas analíticas e uso de materiais renováveis. A ferramenta fornece uma pontuação final variando de 0 a 1, sendo que valores mais próximos de 1 indicam maior sustentabilidade do método avaliado (Wojnowski *et al.*, 2022).

Para a aplicação do AGREEprep neste trabalho, foram considerados os parâmetros experimentais utilizados durante o procedimento de extração em fase sólida, incluindo volume de amostra, quantidade de adsorvente empregada, consumo de solventes orgânicos, número de etapas analíticas, geração de resíduos e características do biossorvente utilizado. Também foram levados em consideração aspectos relacionados à segurança operacional e ao impacto ambiental dos reagentes empregados.

5 RESULTADOS

5.1 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS MS/MS

A etapa de otimização dos parâmetros MS/MS foi realizada buscando obter maior sensibilidade e seletividade para a detecção dos pesticidas estudados. Para isso, soluções padrão dos analitos preparadas em metanol na concentração de 1 µg L⁻¹ foram introduzidas diretamente no sistema, permitindo avaliar individualmente o comportamento de ionização e fragmentação de cada composto.

Inicialmente, foram investigados os modos de ionização disponíveis no equipamento, sendo observado melhor desempenho analítico no modo positivo para malathion, dissulfoton e

clorpirifós. A partir dessa definição, foram ajustados parâmetros instrumentais como voltagem do cone (CV) e energia de colisão (CE), com o objetivo de maximizar a intensidade dos íons monitorados e melhorar a estabilidade do sinal analítico.

As análises foram conduzidas utilizando o modo SRM (Selected Reaction Monitoring), selecionando-se as transições que apresentaram maior intensidade e melhor repetibilidade para cada pesticida. Os parâmetros otimizados estão apresentados na Tabela 2.

A identificação dos compostos foi baseada na detecção simultânea de dois íons fragmentos característicos de cada analito. Além disso, foram comparadas as razões entre as abundâncias relativas desses fragmentos com aquelas obtidas para os padrões analíticos, garantindo maior confiabilidade na confirmação dos pesticidas avaliados.

Tabela 2 – Parâmetros MS/MS.

Analito	Íon precursor (m/z)	Fragmentação (m/z)	CE (eV)	CV (V)	Modo de ionização
Malathion	331,0	127	-14,0	-14,0	+
		98,95	-25,0	-23,0	
		284,9	-9,0	-21,0	
Dissulfoton	275,0	89,0	-10,0	-21,0	+
		73,95	-22,0	-13,0	
		60,95	-35,0	-14,0	
Clorpirifós	349,90	96,9	-32,0	-20,0	+
		197,85	-22,0	-14,0	
		124,95	-21,0	-13,0	

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

5.2 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO

A eficiência do método de extração foi avaliada utilizando um planejamento fatorial fracionário envolvendo cinco variáveis experimentais: pH de condicionamento, pH da amostra, massa de adsorvente, volume de amostra e volume de eluente. A utilização desse tipo de planejamento permitiu investigar simultaneamente a influência desses fatores sobre a resposta analítica do método, reduzindo o número de experimentos necessários.

O planejamento empregado foi do tipo 2^{5-1} , totalizando 16 experimentos fatoriais e três repetições no ponto central, utilizadas para avaliar a repetibilidade experimental. Como resposta analítica, utilizou-se a resposta múltipla, calculada a partir da Equação 1.

Tabela 3 – Tabela com os valores do planejamento fatorial fracionário.

Experimentos	pH condicionamento	pH amostra	Massa (mg)	Volume de amostra	Volume de eluente	RM
1	3 (-1)	3 (-1)	25 (-1)	1 (-1)	2 (1)	0,1439
2	11 (1)	3 (-1)	25 (-1)	1 (-1)	0,5 (-1)	0,41085
3	3 (-1)	11 (1)	25 (-1)	1 (-1)	0,5 (-1)	0,46751
4	11 (1)	11 (1)	25 (-1)	1 (-1)	2 (1)	0,11058
5	3 (-1)	3 (-1)	200 (1)	1 (-1)	0,5 (-1)	0,65285
6	11 (1)	3 (-1)	200 (1)	1 (-1)	2 (1)	0,17963
7	3 (-1)	11 (1)	200 (1)	1 (-1)	2 (1)	0,12546
8	11 (1)	11 (1)	200 (1)	1 (-1)	0,5 (-1)	0,39105
9	3 (-1)	3 (-1)	25 (-1)	10 (1)	0,5 (-1)	2,75001
10	11 (1)	3 (-1)	25 (-1)	10 (1)	2 (1)	0,82091
11	3 (-1)	11 (1)	25 (-1)	10 (1)	2 (1)	0,34546
12	11 (1)	11 (1)	25 (-1)	10 (1)	0,5 (-1)	2,08784
13	3 (-1)	3 (-1)	200 (1)	10 (1)	2 (1)	1,46405
14	11 (1)	3 (-1)	200 (1)	10 (1)	0,5 (-1)	2,62576
15	3 (-1)	11 (1)	200 (1)	10 (1)	0,5 (-1)	1,86288
16	11 (1)	11 (1)	200 (1)	10 (1)	2 (1)	0,79042
17	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)	0,99072
18	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)	1,12871
19	7 (0)	7 (0)	100 (0)	5 (0)	1 (0)	1,10235

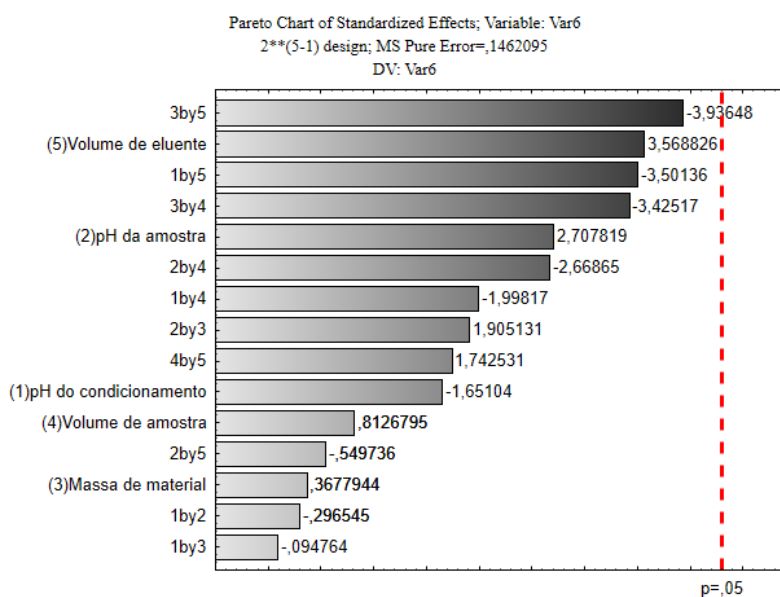
Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Os resultados obtidos demonstraram influência significativa de nenhuma das variáveis sobre o desempenho da extração. De maneira geral, maiores valores de resposta múltipla foram observados nos experimentos realizados com maiores volumes de amostra e menores volumes de eluente, indicando aumento do fator de pré-concentração e maior eficiência na recuperação dos pesticidas.

A partir dos dados experimentais, foi realizada a análise estatística dos efeitos principais e das interações entre as variáveis estudadas utilizando o diagrama de Pareto ao nível de 95% de confiança. Nesse gráfico, a magnitude dos efeitos é representada pelas barras horizontais, enquanto a linha vertical indica o limite de significância estatística para $p = 0,05$. Assim, os fatores que ultrapassam essa linha são considerados estatisticamente significativos para o processo de extração (MINITAB, 2024).

A análise estatística e a construção do diagrama foram realizadas com o auxílio do software Statistic®, resultando no gráfico apresentado na Figura 5.

Figura 5 – Diagrama de Pareto.



Legenda: (1by2): interação entre 1 e 2; (1by3): interação entre 1 e 3; (1by4): interação entre 1 e 4; (1by5): interação entre 1 e 5; (2by3): interação entre 2 e 3; (2by4): interação entre 2 e 4; (3by4): interação entre 3 e 4; (3by5): interação entre 3 e 5; (4by5): interação entre 4 e 5.

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

A partir da análise do diagrama de Pareto, observou-se que nenhuma das variáveis avaliadas, bem como suas interações, apresentou efeito estatisticamente significativo ao nível de confiança de 95%. Em função disso, optou-se pela utilização dos menores níveis avaliados para a maior parte dos fatores estudados, mantendo-se apenas o volume de amostra em seu maior nível experimental.

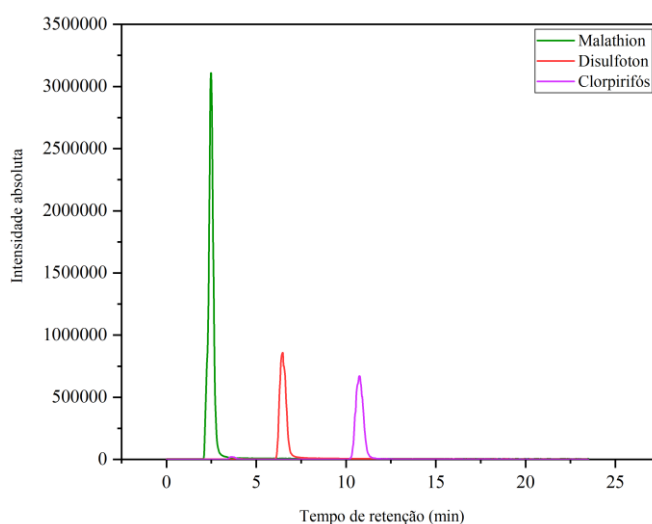
Assim, as condições selecionadas para o procedimento de extração foram: pH de condicionamento igual a 3,0, pH da amostra igual a 3,0, massa de adsorvente de 25,0 mg, volume de amostra de 10 mL e volume de eluente de 0,5 mL.

A escolha do pH 3,0 para o condicionamento e para a amostra está relacionada à utilização do ácido fórmico como agente acidificante. Esse reagente é amplamente empregado em análises por LC-MS/MS devido à sua capacidade de favorecer a ionização dos analitos em fontes ESI, contribuindo para melhora da sensibilidade analítica (Assalin *et al.*, 2023).

Além disso, a utilização de maior volume de amostra foi considerada vantajosa devido à elevada disponibilidade da matriz aquosa, permitindo aumento do fator de pré-concentração e favorecendo a detectabilidade dos pesticidas analisados.

A Figura 6 apresenta o cromatograma obtido após a extração de uma amostra fortificada com os pesticidas malathion, dissulfoton e clorpirifós na concentração de 1 mg L^{-1} , utilizando as condições previamente otimizadas para o método. Os analitos apresentaram tempos de retenção distintos, permitindo uma adequada separação cromatográfica, sendo observados em aproximadamente 2,5 minutos para o malathion, 6,0 minutos para o dissulfoton e 10,8 minutos para o clorpirifós.

Figura 6 – Cromatograma dos eluatos provenientes de uma amostra fortificada com os 3 pesticidas na concentração de 1 mg L^{-1} .



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

5.3 AVALIAÇÃO DA ETAPA DE LAVAGEM

Com o objetivo de avaliar a influência da etapa de lavagem sobre o procedimento de extração, foram analisadas cinco amostras fortificadas com malathion, dissulfoton e clorpirifós na concentração de 1 mg L^{-1} , além de um branco analítico obtido após a realização das extrações.

A etapa de lavagem foi realizada utilizando 1 mL de água ultrapura antes da eluição dos analitos com metanol. Posteriormente, os extratos obtidos foram analisados por LC-MS/MS nas condições previamente otimizadas.

Os resultados obtidos demonstraram que a etapa de lavagem não foi eficiente para a remoção dos principais interferentes provenientes da borra de café. Mesmo após a lavagem dos cartuchos, observou-se a presença de cafeína nos extratos analisados, indicando que esse

procedimento não promoveu a limpeza adequada do sistema. Além disso, a resposta analítica da cafeína apresentou elevado CV, evidenciando baixa reprodutibilidade da etapa de lavagem para a remoção desse interferente. Essa elevada variabilidade pode estar relacionada à própria natureza do biossorvente utilizado, uma vez que a concentração de cafeína presente na borra de café não é rigorosamente controlada e pode variar entre diferentes porções do material empregadas na preparação dos cartuchos. Dessa forma, pequenas diferenças na composição do biossorvente podem resultar em quantidades distintas de cafeína sendo eluídas durante as análises.

Adicionalmente, verificou-se redução das áreas cromatográficas dos pesticidas após a aplicação da etapa de lavagem, sugerindo que parte dos analitos pode ter sido removida juntamente com os compostos interferentes durante o procedimento. Esse comportamento é indesejável em métodos de preparo de amostras, uma vez que pode comprometer a sensibilidade e a eficiência da extração.

Dessa forma, considerando a permanência da cafeína nos extratos, a elevada variabilidade observada para esse composto e a diminuição da resposta analítica dos pesticidas estudados, concluiu-se que a etapa de lavagem avaliada não trouxe benefícios ao método proposto, motivo pelo qual ela não foi incorporada às etapas subsequentes de desenvolvimento e validação.

Tabela 4 – Resultados do teste de limpeza.

Analito	TR	Área	CV
Cafeína	2,3834	117563,2	104,473
Malathion	3,524	546522053,4	14,02
Dissulfoton	6,0484	70466435,8	10,14
Clorpirifós	9,8208	148202093	8,611

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE MEMÓRIA

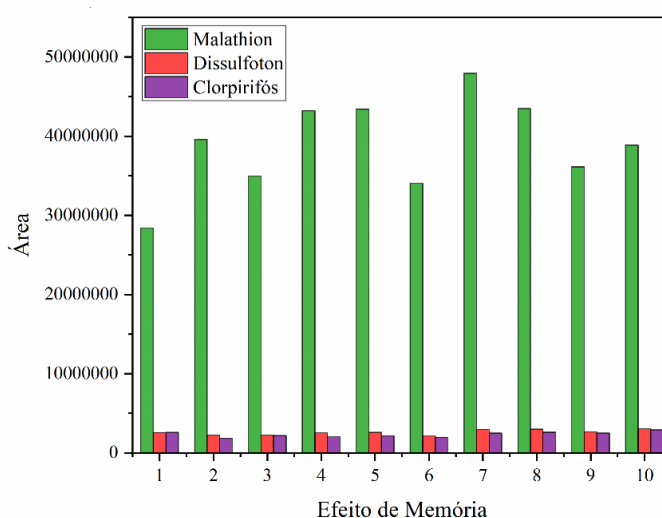
A avaliação do efeito de memória foi realizada com o objetivo de verificar a eficiência da limpeza dos cartuchos entre as extrações consecutivas, bem como investigar a possibilidade de reutilização do material adsorvente sem ocorrência de contaminação residual entre as análises.

Para isso, entre cada extração foi percolado 1 mL de metanol contendo 0,1% de ácido fórmico, visando promover a remoção dos analitos retidos no cartucho. Utilizando o mesmo dispositivo de extração, foram realizadas dez extrações consecutivas para os pesticidas estudados.

Os resultados obtidos demonstraram boa repetibilidade do procedimento, com valores de CV inferiores a 15% para todos os compostos avaliados. Foram observados valores de CV de 14,79% para o malathion, 12,48% para o dissulfoton e 14,02% para o clorpirifós.

Além disso, o branco analítico analisado após as extrações não apresentou sinais cromatográficos nos tempos de retenção dos pesticidas estudados, indicando ausência de contaminação residual significativa e demonstrando eficiência da etapa de limpeza entre as análises consecutivas.

Figura 7 – Efeito de memória.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Os resultados obtidos indicam que o procedimento de limpeza empregado foi adequado para minimizar o efeito de memória, permitindo a reutilização do cartucho sem comprometer a resposta analítica do método.

5.5 FIGURAS DE MÉRITO

A determinação das figuras de mérito do método foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pelo documento SANTE/11312/2021, amplamente utilizado para métodos de determinação de resíduos de pesticidas. Foram avaliados os parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), utilizando amostras de água fortificadas com os pesticidas estudados.

As curvas analíticas foram construídas em matriz, empregando-se diferentes níveis de concentração para os compostos avaliados. Para o malathion, a faixa linear estudada foi de 5,0 a 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto para dissulfoton e clorpirifós foram utilizadas concentrações entre 25,0 e 250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os coeficientes de correlação obtidos apresentaram valores superiores a 0,99 para todos os analitos, demonstrando adequada relação linear entre concentração e resposta instrumental dentro das faixas avaliadas.

A precisão foi avaliada em condições de repetibilidade e reprodutibilidade, sendo expressa por meio do CV, enquanto a exatidão foi determinada pelo teste de adição e recuperação e pelo erro padrão relativo. Os resultados obtidos para as precisões intradias e interdias apresentaram valores de CV inferiores a 15% para todas as concentrações avaliadas, atendendo aos limites recomendados pelo documento citado anteriormente. Da mesma forma, a exatidão apresentou resultados satisfatórios, com recuperações entre 85% e 115%, demonstrando a confiabilidade e adequação do método desenvolvido.

Os limites de quantificação obtidos foram de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o malathion e 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para dissulfoton e clorpirifós. Já os limites de detecção foram de 1,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o malathion e 8,33 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os demais pesticidas avaliados.

Os resultados completos das figuras de mérito estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Dados obtidos na etapa de determinação das figuras de mérito em água.

Parâmetros	Malathion	Dissulfoton	(continua)
			Clorpirifós
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,0 - 250,0	25,0 - 250,0	25,0 - 250,0
Curva de calibração	$y=96285x+460020$	$y=9535,9x+ 178096$	$y=36425x+322194$
Coefficiente de determinação (R^2)	0,995	0,996	0,995
Coefficiente de correlação	0,997	0,998	0,997
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,67	8,33	8,33

Tabela 5 – Dados obtidos na etapa de determinação das figuras de mérito em água.

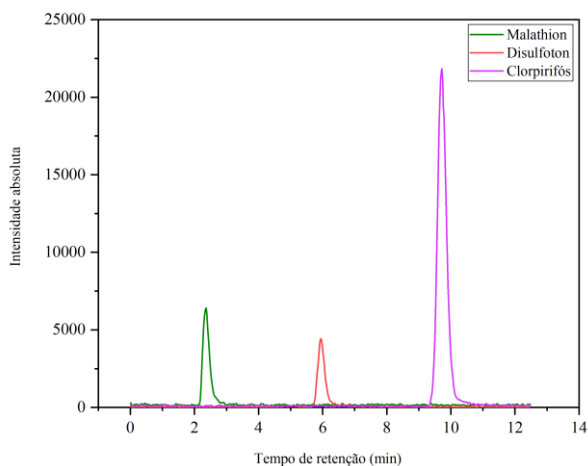
Parâmetros	(conclusão)		
	Malathion	Dissulfoton	Clorpirifós
LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,0	25,0	25,0
Precisão intradias CV% (n=6)	12,6 ^a	3,6 ^b	8,3 ^b
	13,7 ^c	1,4 ^c	4,5 ^c
Precisão interdiás CV% (n=6, 3 dias)	15,0 ^d	6,9 ^d	4,1 ^d
	12,0 ^a	6,6 ^b	8,7 ^b
	10,0 ^c	8,4 ^c	11,1 ^c
Exatidão (R%) (n=6)	10,0 ^d	8,9 ^d	7,7 ^d
	97,1 ^a	85,9 ^b	97,9 ^b
	107,1 ^c	109,3 ^c	97,1 ^c
Exatidão (R%) (n=6, 3 dias)	97,3 ^d	99,6 ^d	99,9 ^d
	94,0 ^a	86,9 ^b	92,6 ^b
	93,1 ^c	93,1 ^c	102,0 ^c
	95,3 ^d	102,0 ^d	100,5 ^d

Nota: ^a5 $\mu\text{g L}^{-1}$, ^b25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, ^c100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, ^d250,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

A Figura 8 apresenta o cromatograma obtido para amostra fortificada contendo malathion na concentração de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e dissulfoton e clorpirifós em 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, correspondendo ao menor nível de concentração para cada composto.

Figura 8 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada com malathion na concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ e dissulfoton e clorpirifós na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando as condições otimizadas.

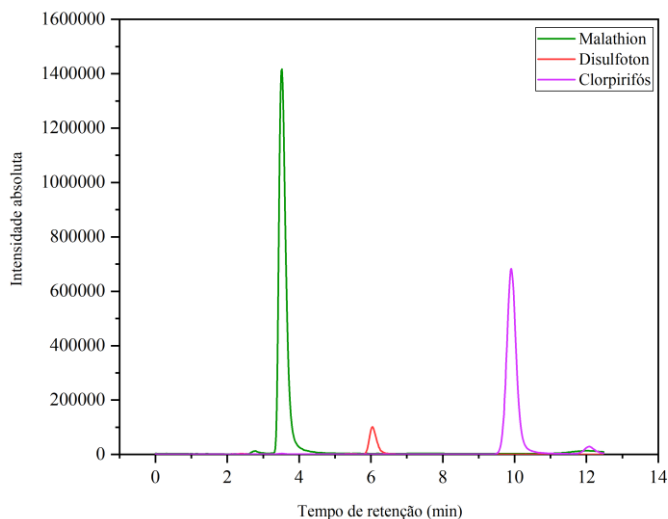


Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Nas condições avaliadas, foi possível observar adequada separação cromatográfica e detecção dos três pesticidas, mesmo em baixas concentrações, demonstrando boa sensibilidade do método desenvolvido.

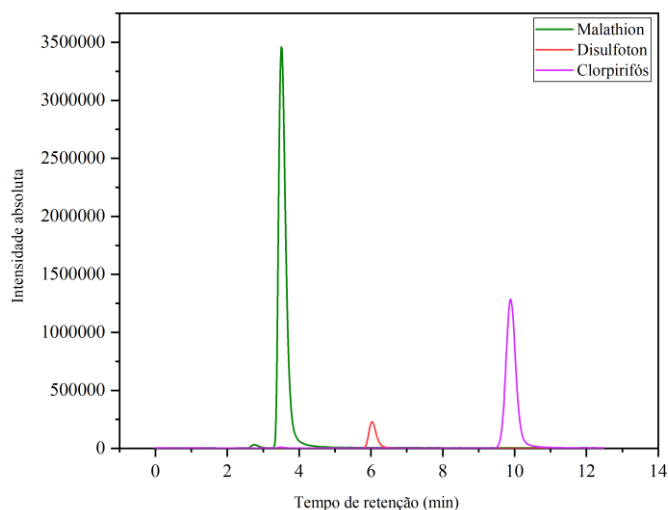
A Figura 9 apresenta os cromatogramas obtidos para amostras fortificadas na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto a Figura 10 corresponde às análises realizadas em $250 \mu\text{g L}^{-1}$.

Figura 9 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada os três pesticidas na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando as condições otimizadas.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Figura 10 – Cromatograma dos eluatos obtidos a partir de amostra fortificada os três pesticidas na concentração de $250 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando as condições otimizadas.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Os cromatogramas obtidos nas diferentes concentrações demonstraram estabilidade do método e boa resposta instrumental ao longo da faixa linear estudada, sem sobreposição significativa entre os sinais cromatográficos dos analitos avaliados.

As Tabelas 6, 7 e 8 apresentam um comparativo entre o método desenvolvido neste estudo e metodologias descritas na literatura, destacando as técnicas analíticas empregadas, os procedimentos de preparo de amostras, os limites de quantificação (LQ) e as faixas lineares obtidas.

Tabela 6 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o malathion.

Técnica Analítica	Técnica de Preparo de Amostra	LQ	Faixa Linear	Referência
UHPLC-MS/MS	DSPME	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 – 800 $\mu\text{g L}^{-1}$	Habila <i>et al.</i> , 2020
GC-MS/MS	SPE	21,66 $\mu\text{g L}^{-1}$	4,33 – 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$	Wozniak <i>et al.</i> , 2024
GC-MS	SPE	0,247 $\mu\text{g L}^{-1}$	1 – 50 $\mu\text{g L}^{-1}$	Özer <i>et al.</i> , 2020
LC-MS/MS	SPE	5 $\mu\text{g L}^{-1}$	5 – 250 $\mu\text{g L}^{-1}$	Esse trabalho

Fonte: Adaptado de de Souza *et al.* (2026).

Tabela 7 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o dissulfoton.

Técnica Analítica	Técnica de Preparo de Amostra	LQ	Faixa Linear	Referência
GC-MS/MS	LLE	0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,005 – 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$	Komlan <i>et al.</i> , 2024
GC-MS	SPE	0,395 $\mu\text{g L}^{-1}$	1 – 30 $\mu\text{g L}^{-1}$	Özer <i>et al.</i> , 2020
GC-MS	SPE	0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,05 – 300 $\mu\text{g L}^{-1}$	Moinfar <i>et al.</i> , 2022
LC-MS/MS	SPE	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 – 250 $\mu\text{g L}^{-1}$	Esse trabalho

Fonte: Adaptado de de Souza *et al.* (2026).

Tabela 8 – Comparação entre outros estudos e o atual método para o clorpirifós.

Técnica Analítica	Técnica de Preparo de Amostra	LQ	Faixa Linear	Referência
GC-MS/MS	LLE	0,005 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,005 – 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$	Komlan <i>et al.</i> , 2024
GC-MS	GDME	0,054 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,01 - 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	Jafari <i>et al.</i> , 2025
GC-NPD	SPME	3,33 $\mu\text{g L}^{-1}$	50 – 500 $\mu\text{g L}^{-1}$	Fiscal-Ladino <i>et al.</i> , 2026
LC-MS/MS	SPE	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 – 250 $\mu\text{g L}^{-1}$	Esse trabalho

Fonte: Adaptado de de Souza *et al.* (2026).

Embora alguns estudos apresentem limites de quantificação mais baixos, a metodologia proposta se destaca principalmente pela combinação entre simplicidade do preparo de amostra, ampla aplicabilidade multirresíduo, uso de LC-MS/MS e faixa linear adequada para monitoramento ambiental.

Para o malathion, o método desenvolvido neste estudo apresentou faixa linear de 5–250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e limite de quantificação de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, utilizando SPE associada à LC-MS/MS. Em comparação ao método de Habila *et al.* (2020), que empregou DSPME-UHPLC-MS/MS, observa-se que o presente trabalho apresentou menor limite de quantificação, além de uma faixa linear mais adequada para análises ambientais em níveis traço. Além disso, o método proposto dispensa o uso de materiais adsorventes sofisticados, como MOFs, reduzindo custos e simplificando a aplicação laboratorial. Em relação ao estudo de Wozniak *et al.* (2024), apesar da ampla faixa linear obtida pelos autores, o método atual apresentou maior sensibilidade analítica, com menor LQ, além das vantagens associadas ao LC-MS/MS em termos de seletividade e redução de interferências de matriz. Já quando comparado ao trabalho de Özer *et al.* (2020), embora o método por GC-MS tenha apresentado menor LQ, a metodologia deste estudo apresenta maior compatibilidade com compostos menos voláteis e termicamente sensíveis, além da possibilidade de determinação simultânea de múltiplos pesticidas sem necessidade de derivatização.

Para o dissulfoton, os trabalhos descritos na literatura apresentaram limites de quantificação significativamente inferiores aos obtidos neste estudo, especialmente o método de Komlan *et al.* (2024), baseado em LLE-GC-MS/MS. Entretanto, é importante considerar que

métodos utilizando LLE normalmente demandam elevado consumo de solventes orgânicos, maior tempo de preparo e menor alinhamento com os princípios da química verde. Em contrapartida, o método desenvolvido neste trabalho utiliza SPE com baixo volume de solvente e acoplamento à LC-MS/MS, favorecendo maior seletividade analítica e menor interferência de matriz. Além disso, o método proposto apresentou uma faixa linear ampla (25–250 $\mu\text{g L}^{-1}$), adequada para aplicações em monitoramento ambiental e avaliação de contaminação em níveis moderados. Comparado aos estudos de Özer *et al.* (2020) e Moinfar *et al.* (2022), o presente método também apresenta vantagens relacionadas à robustez instrumental do LC-MS/MS e à possibilidade de análise simultânea de diferentes organofosforados em uma única corrida cromatográfica.

Resultados semelhantes foram observados para o clorpirifós. Embora métodos como os de Komlan *et al.* (2024) e Jafari *et al.* (2025) apresentem menores limites de quantificação, ambos utilizam técnicas de preparo de amostra mais complexas ou menos versáteis, como LLE e GDME. O método desenvolvido neste trabalho, por outro lado, utiliza SPE associada à LC-MS/MS, oferecendo maior simplicidade operacional, boa seletividade e potencial para aplicações multirresíduo. Em comparação ao método por GC-NPD-SPME de Fiscal-Ladino *et al.* (2026), o presente estudo apresentou menor faixa linear inicial, porém com maior adequação para análises quantitativas em amostras ambientais contendo concentrações moderadas de pesticidas. Além disso, a utilização de LC-MS/MS proporciona elevada especificidade por monitoramento de transições SRM, reduzindo significativamente problemas relacionados à coeluição e interferências da matriz.

5.6 EFEITO DE MATRIZ

A avaliação do efeito matriz no método desenvolvido foi realizada seguindo as recomendações estabelecidas pelo documento SANTE/11312/2021. Inicialmente, foi conduzida uma análise qualitativa a partir da comparação entre as curvas analíticas preparadas em metanol e aquelas obtidas no extrato da matriz. Segundo as diretrizes do documento, a ocorrência de efeito matriz pode ser identificada quando as curvas não apresentam sobreposição ou quando há diferenças perceptíveis entre suas inclinações.

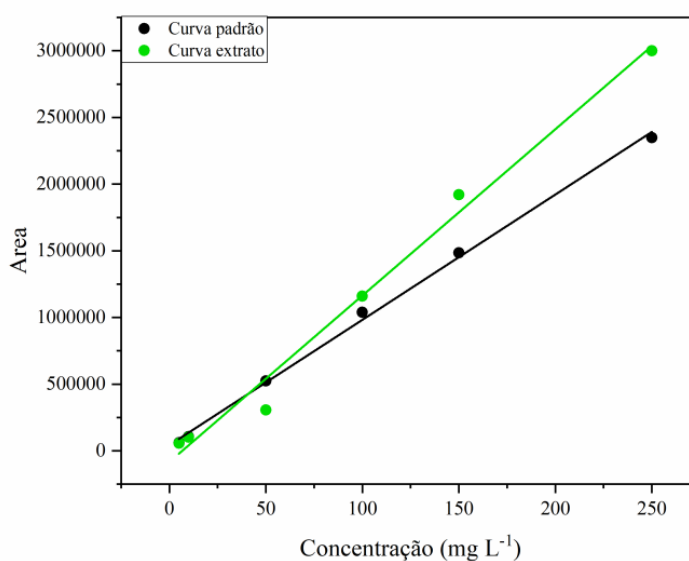
As Figuras 11, 12 e 13 demonstram que as curvas analíticas obtidas para malathion, dissulfoton e clorpirifós apresentaram inclinações diferentes quando comparadas às curvas preparadas apenas em solvente, evidenciando a influência da matriz nas respostas analíticas dos

compostos estudados. Esse comportamento indica a ocorrência de efeito matriz durante a determinação dos pesticidas em amostras de águas ambientais.

Além da análise visual das curvas, também foi realizada a avaliação quantitativa do efeito matriz por meio do cálculo do percentual de efeito matriz (%EM), utilizando os coeficientes angulares das curvas obtidas em solvente e no extrato da matriz, conforme apresentado na Equação 4. Os valores encontrados foram de 32% para o malathion, 19% para o dissulfoton e 32% para o clorpirifós. De acordo com os critérios descritos por Zhang *et al.* (2023), valores inferiores a 20% indicam efeito matriz desprezível, enquanto resultados entre 20% e 50% caracterizam efeito matriz moderado. Dessa forma, observou-se efeito matriz moderado para malathion e clorpirifós, enquanto o dissulfoton apresentou influência considerada pouco significativa.

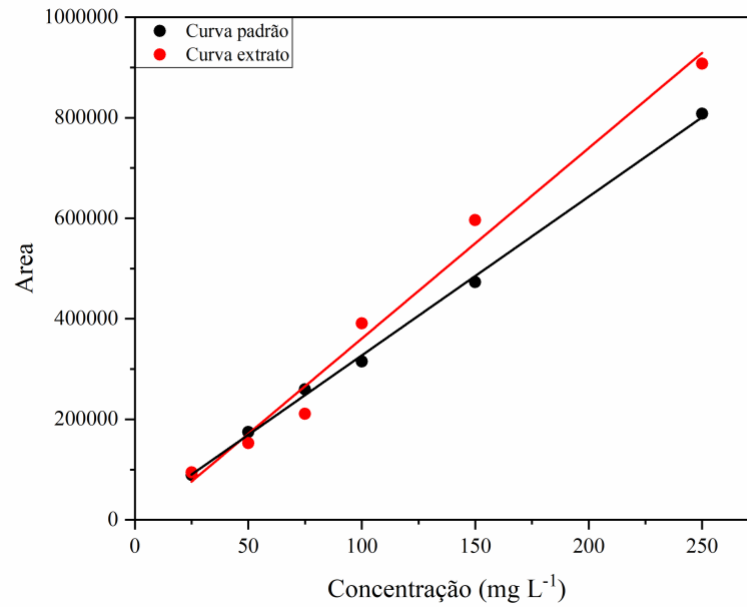
Considerando os resultados obtidos, a quantificação dos pesticidas que apresentaram efeito matriz moderado deverá ser realizada utilizando curvas analíticas preparadas no extrato da própria matriz, permitindo compensar as interferências observadas e melhorar a confiabilidade dos resultados. A literatura recente destaca que a ocorrência de efeito matriz é bastante comum em análises por LC-MS/MS envolvendo matrizes ambientais complexas, principalmente devido à presença de compostos coextraídos que podem interferir no processo de ionização dos analitos (Keršňáková *et al.*, 2024).

Figura 11 – Efeito de matriz para o malathion.



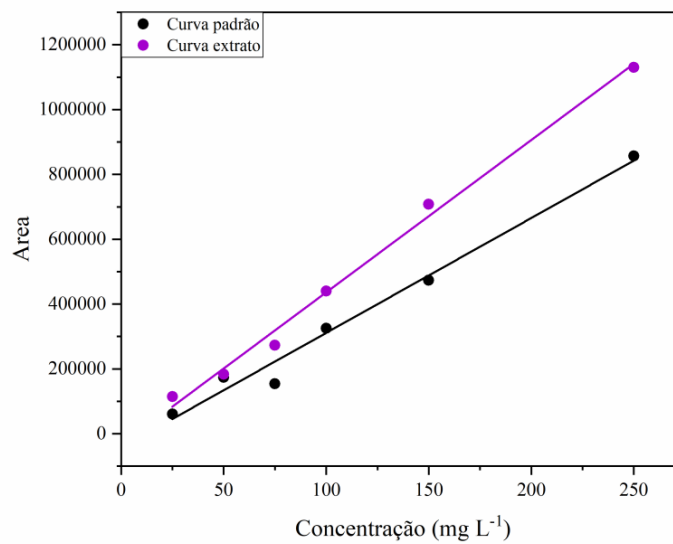
Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Figura 12 – Efeito de matriz para o dissulfoton.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

Figura 13 – Efeito de matriz para o clorpirifós.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

5.7 ANÁLISE DE AMOSTRAS REAIS

O método desenvolvido foi aplicado na análise de quatorze amostras de águas ambientais coletadas na região de Alfenas, incluindo amostras provenientes de poços artesianos, minas e da Represa de Furnas. A aplicação do método em amostras reais permitiu avaliar sua eficiência frente à complexidade das matrizes ambientais, bem como sua capacidade de detectar resíduos de pesticidas em diferentes níveis de concentração.

Os resultados obtidos para as amostras analisadas estão apresentados na Tabela 9. Observou-se a presença de pesticidas em parte das amostras avaliadas, indicando diferentes níveis de contaminação nas fontes de água investigadas. Em algumas amostras, os compostos foram apenas detectados, apresentando concentrações inferiores ao limite de quantificação do método, enquanto em outras foi possível realizar a quantificação do dissulfoton com precisão satisfatória.

Tabela 9 – Concentrações dos pesticidas detectados em amostras ambientais.

(continua)		
Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CV (%)
1	^a Não detectado	a _
	^b Não detectado	b _
	^c Não detectado	c _
2	^a Não detectado	a _
	^b Não detectado	b _
	^c Não detectado	c _
3	^a Não detectado	a _
	^b Não detectado	b _
	^c Não detectado	c _
4	^a Não detectado	a _
	^b Não detectado	b _
	^c <LQ	c _
5	^a <LQ	a _
	^b Não detectado	b _
	^c <LQ	c _
6	^a <LQ	a _
	^b Não detectado	b _
	^c Não detectado	c _

(conclusão)		
Amostras	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CV (%)
7	^a Não detectado	a -
	^b Não detectado	b -
	^c <LQ	c -
8	^a Não detectado	a -
	^b Não detectado	b -
	^c Não detectado	c -
9	^a Não detectado	a -
	^b Não detectado	b -
	^c Não detectado	c -
10	^a Não detectado	a -
	^b 33,03	^b 7,71
	^c Não detectado	c -
11	^a Não detectado	a -
	^b Não detectado	b -
	^c Não detectado	c -
12	^a Não detectado	a -
	^b 76,75	^b 9,37
	^c Não detectado	c -
13	^a Não detectado	a -
	^b 69,66	^b 0,62
	^c Não detectado	c -
14	^a Não detectado	a -
	^b Não detectado	b -
	^c Não detectado	c -

Nota: ^aMalathion; ^bDissulfoton; ^cClorpirifós.

Fonte: de Souza *et al.* (2026).

As amostras 4, 5, 6 e 7 apresentaram sinais analíticos correspondentes aos pesticidas estudados, porém em concentrações abaixo do limite de quantificação, demonstrando a presença de traços desses compostos. Já nas amostras 10, 12 e 13, foi possível quantificar o dissulfoton, sendo obtidas concentrações de 33,03 $\mu\text{g L}^{-1}$, 76,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 69,66 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os coeficientes de variação observados para essas análises foram abaixo de 10%, demonstrando boa precisão e confiabilidade dos resultados obtidos pelo método analítico.

Para as demais amostras analisadas, não foram observados sinais relacionados aos pesticidas avaliados neste estudo. A ausência desses compostos pode estar associada à não contaminação das fontes analisadas, à degradação dos pesticidas no ambiente ou ainda à presença em concentrações inferiores ao limite de detecção do método. De maneira geral, os resultados reforçam a importância do monitoramento da qualidade de águas em regiões com atividade agrícola intensa, além de evidenciarem a aplicabilidade do método desenvolvido tanto para análises em níveis traço quanto para situações envolvendo concentrações quantificáveis de pesticidas em amostras ambientais.

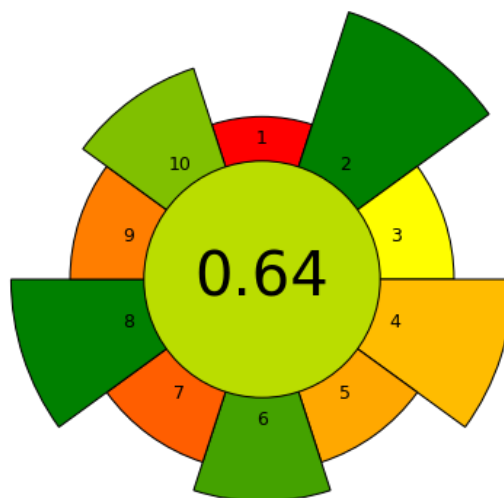
5.8 AVALIAÇÃO DA SUSTENTABILIDADE ANALÍTICA

O método desenvolvido neste trabalho apresentou pontuação AGREEprep de 0,64, indicando desempenho ambiental satisfatório e superior aos métodos de extração comparados no estudo de Wojnowski *et al.* (2022). A extração líquido-líquido convencional apresentou o pior desempenho, com nota 0,17, devido ao elevado consumo de solventes orgânicos, grande geração de resíduos e uso de reagentes perigosos. De forma semelhante, a SPE baseada em polímeros molecularmente impressos também obteve 0,17, sendo prejudicada pelo uso de diclorometano, baixa frequência analítica e maior demanda energética.

Métodos miniaturizados apresentaram desempenho intermediário, como a DLLME, com nota 0,38, e a SPE com partículas magnéticas, com 0,40. Embora essas abordagens reduzam o volume de solventes em comparação à extração líquido-líquido clássica, ainda apresentam limitações relacionadas ao uso de solventes tóxicos, baixa automação e geração de resíduos. Já os melhores resultados relatados no artigo foram observados para a SPE automatizada, com nota 0,54, e para a SPME, com 0,55. Mesmo assim, esses métodos ficaram abaixo da pontuação obtida neste trabalho.

Nesse norte, a nota 0,64 atribuída ao método desenvolvido evidencia uma vantagem importante em termos de sustentabilidade analítica. Esse resultado pode ser associado principalmente ao uso de borra de café acidificada como biossorvente, um material de baixo custo, proveniente de resíduo agroindustrial e alinhado aos princípios da química verde. Além disso, o procedimento emprega pequena massa de adsorvente, baixo volume de eluente e volume reduzido de amostra, contribuindo para menor geração de resíduos. Embora o uso de LC-MS/MS possa reduzir a pontuação no critério relacionado à técnica instrumental, devido à maior complexidade e demanda energética, o desempenho global do preparo de amostras permaneceu competitivo.

Figura 14 – Gráfico AGREEprep.



Fonte: de Souza *et al.* (2026).

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho demonstrou a viabilidade do uso da borra de café acidificada como biossorvente em sistemas de extração em fase sólida para a adsorção e pré-concentração de pesticidas organofosforados em amostras aquosas, seguido de determinação por LC-MS/MS. Os resultados obtidos evidenciaram que o material apresentou desempenho satisfatório na retenção dos pesticidas avaliados, destacando o potencial de aplicação de resíduos agroindustriais no desenvolvimento de métodos analíticos mais sustentáveis e de baixo custo.

A etapa de otimização instrumental permitiu estabelecer condições adequadas de análise por LC-MS/MS, proporcionando elevada sensibilidade e seletividade para os três pesticidas estudados. Além disso, a otimização do procedimento de extração possibilitou definir condições experimentais eficientes utilizando pequena massa de adsorvente, baixo volume de amostra e reduzido consumo de solventes orgânicos, contribuindo para menor geração de resíduos químicos e redução de custos analíticos.

O método desenvolvido apresentou resultados satisfatórios em relação às figuras de mérito avaliadas, incluindo linearidade, precisão, exatidão, limites de quantificação e efeito de memória, demonstrando boa repetibilidade e confiabilidade analítica de acordo com os critérios estabelecidos pelo documento SANTE/11312/2021. Os baixos limites de quantificação obtidos

reforçam o potencial de aplicação da metodologia no monitoramento de pesticidas em níveis traço em matrizes aquáticas.

A aplicação do método em amostras ambientais reais coletadas na região de Alfenas/MG permitiu identificar a presença dos pesticidas investigados em diferentes amostras, incluindo casos com concentrações quantificáveis. Esses resultados reforçam a importância do monitoramento ambiental em regiões agrícolas e demonstram a aplicabilidade prática da metodologia desenvolvida para análises ambientais reais.

A avaliação da sustentabilidade analítica pelo software AGREEprep indicou desempenho ambiental satisfatório para o método proposto, com pontuação superior a diferentes técnicas de preparo de amostras reportadas na literatura. Esse resultado está diretamente relacionado ao uso da borra de café acidificada como biossorvente, ao reduzido consumo de solventes e à menor geração de resíduos, evidenciando o alinhamento da metodologia aos princípios da Química Verde.

Os resultados obtidos demonstram que resíduos agroindustriais podem ser aplicados de forma eficiente no desenvolvimento de metodologias analíticas sustentáveis, contribuindo simultaneamente para o reaproveitamento de resíduos e para o monitoramento ambiental de contaminantes de interesse emergente. Dessa forma, a borra de café acidificada apresenta potencial promissor como biossorvente em aplicações analíticas e ambientais, podendo futuramente ser explorada em estudos envolvendo outros contaminantes e diferentes matrizes ambientais.

7 REFERÊNCIAS

ABDELFATTAH, E. A.; EL-BASSIONY, G. M. Impact of malathion toxicity on the oxidative stress parameters of the black soldier fly *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Stratiomyidae). **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 4583, 2022.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological profile for disulfoton. Atlanta: **U.S. Department of Health and Human Services**, Public Health Service, 2021. p. 92–110.

AKINDOLIE, M. S.; CHOI, H. J. Surface modification of spent coffee grounds using phosphoric acid for enhancement of methylene blue adsorption from aqueous solution. **Water Science and Technology**, v. 85, n. 4, p. 1218–1234, 2022.

ARAYA-SIBAJA, A. M. *et al.* Spent coffee ground-based materials evaluated by methylene blue removal. **Processes**, v. 13, n. 5, p. 1592, 2025.

AUSTRALIAN PESTICIDES AND VETERINARY MEDICINES AUTHORITY (APVMA). Malathion – **Final Review Technical Report** – 2024. Canberra, 2024.

BADAWY, M. E. I. *et al.* Recent trends in solid-phase extraction for pesticide residue analysis in food and environmental samples. **Microchemical Journal**, v. 179, p. 107515, 2022.

CHEN, X. *et al.* Organophosphate pesticides and neurotoxicity: mechanisms and recent advances. **Environmental Research**, v. 245, p. 118080, 2024.

DARI, D. N. *et al.* Spent coffee grounds: insights and future prospects for bioenergy and circular economy applications. **Green Technologies and Sustainability**, v. 3, n. 4, p. 100213, 2025.

DE HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. Mass spectrometry: principles and applications. 3. ed. Chichester: **John Wiley & Sons**, 2013.

DE SOUZA, S. A. *et al.* Upcycled coffee waste as sustainable sorbents for monitoring organophosphorus pesticides in environmental waters. **ACS Omega**, v. 11, p. 1982–1998, 2026.

DE SOUZA, T. F. *et al.* Biochars as adsorbents of pesticides: laboratory-scale performances and real-world contexts, challenges, and perspectives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 12, n. 2, p. 112345, 2024.

DU, Y. *et al.* Biases introduced by solid-phase extraction in dissolved organic matter analysis: implications for environmental studies. **Science of the Total Environment**, v. 912, p. 169456, 2024.

EATON, D. L. *et al.* Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 38, suppl. 2, p. 1–125, 2008.

EL-SHAFIE, A. S. *et al.* Removal of antibiotics from aqueous solutions: insights of competitive adsorption onto Ni-impregnated biochar of spent coffee grounds. **Applied Water Science**, v. 14, art. 209, 2024.

EUROPEAN COMMISSION. Regulamento de Execução (UE) 2023/731 da Comissão, de 3 de abril de 2023, relativo a um programa coordenado plurianual de controle da União para 2024, 2025 e 2026 destinado a garantir o cumprimento dos limites máximos de resíduos de pesticidas e avaliar a exposição dos consumidores aos resíduos de pesticidas em alimentos de origem vegetal e animal. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, L 95, p. 28–40, 4 abr. 2023.

FAO. International code of conduct on pesticide management. Rome, 2021.

FENT, G. M. Disulfoton. In: WEXLER, P. (ed.). Encyclopedia of Toxicology. 3. ed. Oxford: **Academic Press**, 2014. p. 210–211.

FISCAL-LADINO, J. A.; TABORDA-OCAMPO, G.; BETANCOURT-ARANGO, J. P. Optimization of the methodology for the extraction of organophosphate pesticides by HS-SPME-GC-NPD. **Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 49, n. 193, p. 833–843, 2025.

FLORES, C. V. *et al.* Spent coffee ground–calcium alginate biosorbent for adsorptive removal of methylene blue from aqueous solutions. **RSC Sustainability**, v. 2, p. 239–246, 2024.

GHOLAMZADEH, M. *et al.* Beyond conventional treatment: a comprehensive systematic review on the advanced oxidation processes for the removal of malathion pesticide from aqueous environments. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 140, p. 104010, 2025.

GU, Y. *et al.* Recent advances in LC-MS/MS methods for biomarker and pesticide analysis in complex matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 182, p. 117204, 2025.

GUPTA, R. C. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. Burlington: **Elsevier Academic Press**, 2008.

HABILA, M. *et al.* Metal organic frameworks enhanced dispersive solid phase microextraction of malathion before detection by UHPLC-MS/MS. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 20, p. 3916–3924, 2020.

HARRIS, D. C.; LUCY, C. A. Análise química quantitativa. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2023.

HASHEMI, B. *et al.* Recent advances in application of metal-organic frameworks and covalent organic frameworks in sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 229–257, 2017.

HERNÁNDEZ, A. F. *et al.* Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health. **Toxicology**, v. 307, p. 136–145, 2013.

JAFARI, M.; GHOLAMI, A.; AKHGARI, M. A novel method for the determination of organophosphorus pesticides in urine samples using a combined gas diffusion microextraction (GDME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. **MethodsX**, v. 14, p. 103212, 2025.

JOKANOVIĆ, M. Neurotoxic effects of organophosphorus pesticides and possible association with neurodegenerative diseases in man: a review. **Toxicology**, v. 410, p. 125–131, 2018.

KEERTHANA, S. *et al.* Advances in miniaturized solid-phase extraction techniques for environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1715, p. 464604, 2024.

KERŠŇÁKOVÁ, Z. *et al.* Occurrence and consequences of matrix effects in simultaneous multi-class LC-MS/MS determination of pesticides, pharmaceuticals and perfluoroalkyl substances in different types of groundwater. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 235, n. 6, art. 396, 2024.

KHATIB, I. *et al.* Molecular and biochemical evidence of the toxic effects of terbuthylazine and malathion in zebrafish. **Animals**, v. 13, n. 6, p. 1029, 2023.

KOMLAN, K. J. *et al.* Occurrence and risk assessment of pyrethroids and organophosphorus pesticides in the middle part of Mono River Basin. **International Journal of Environmental Monitoring and Analysis**, v. 12, n. 1, p. 14–20, 2024.

KRSTIĆ, D. Z. *et al.* Inhibition of AChE by malathion and some structurally similar compounds. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 562–573, 2008.

KRUVE, A. *et al.* Tutorial review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: part I. **Analytica Chimica Acta**, v. 870, p. 29–44, 2015.

KUMAR, P. *et al.* Insight into the environmental fate, hazard, detection, and sustainable degradation technologies of chlorpyrifos—an organophosphorus pesticide. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 30, n. 50, p. 108347–108369, 2023.

LITA, A. *et al.* Magnetic coffee waste biochar for glyphosate adsorption from aqueous solutions. **Chemosphere**, v. 337, p. 139338, 2023.

MAHDAVIJALAL, M. *et al.* Recent advances in magnetic solid-phase extraction for environmental pollutants. **Microchemical Journal**, v. 198, p. 110112, 2024.

MILANKOVIĆ, J. *et al.* Coffee waste-derived adsorbents for pesticide removal from water: adsorption behavior and regeneration studies. **Environmental Technology & Innovation**, v. 35, p. 103456, 2024.

MILANKOVIĆ, V. *et al.* Resolving coffee waste and water pollution – a study on KOH-activated coffee grounds for organophosphorus xenobiotics remediation. **Journal of Xenobiotics**, v. 14, n. 3, p. 1238–1255, 2024.

MILANKOVIĆ, V. *et al.* Spent coffee grounds as an adsorbent for malathion and chlorpyrifos – kinetics, thermodynamics, and eco-neurotoxicity. **Foods**, v. 12, n. 12, p. 2397, 2023.

MILANKOVIĆ, V. *et al.* Spent coffee grounds-derived carbon material as an adsorbent for removing multiple contaminants from wastewater: a comprehensive kinetic, isotherm, and thermodynamic study. **Journal of Water Process Engineering**, v. 63, p. 105507, 2024.

MLYNARCZKOWSKA, A. *et al.* Coffee waste as sustainable adsorbent material for environmental remediation. **Materials**, v. 17, n. 5, p. 1044, 2024.

MOINFAR, S. *et al.* Development of a SPE/GC–MS method for the determination of organophosphorus pesticides in food samples using syringe filters packed by GNP/MIL-101(Cr) nanocomposite. **Food Chemistry**, v. 371, p. 130997, 2022.

MONTOURI, P. *et al.* Occurrence, distribution, and risk assessment of organophosphorus pesticides in the aquatic environment of the Sele River Estuary, Southern Italy. **Toxics**, v. 10, n. 7, p. 377, 2022.

MOODY, C. M. Solid phase extraction and dissolved organic matter characterization: limitations and perspectives. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 18, n. 11, p. 593–604, 2020.

MOSALLAEI, S.; TABATABAEI, Z.; AZHDARPOOR, A. Investigating organophosphorus pesticides in dates from Khesht City (Iran): impact of washing and assessment of the health risks. **Applied Food Research**, v. 4, n. 2, p. 100535, 2024.

MPUPA, A. *et al.* Molecularly imprinted polymers in solid-phase extraction for selective analysis of environmental contaminants. **Analytical Letters**, v. 54, n. 14, p. 2347–2365, 2021.

MUKARUNYANA, B. *et al.* Coffee pulp and husk-derived hydrochars and biochars adsorb polyphenols and pesticides from wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, v. 41, p. 104739, 2026.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 2730, **Chlorpyrifos**. Bethesda, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorpyrifos>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 3118, **Disulfoton**. Bethesda, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3118>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 15415, **Malaoxon**. Bethesda, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15415>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PubChem Compound Summary for CID 4004, **Malathion**. Bethesda, 2026. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malathion>.

ORE, O. T. *et al.* Organophosphate pesticide residues in environmental and biological matrices: occurrence, distribution and potential remedial approaches. **Environmental Chemistry and Ecotoxicology**, v. 5, p. 9–23, 2023.

ORE, O. T.; ADEOLA, A. O.; OLUWATOSIN, O. Organophosphate pesticides in aquatic environments: occurrence, toxicity and remediation strategies. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 195, p. 1042, 2023.

ÖZER, E. T.; OSMAN, B.; PARLAK, B. An experimental design approach for the solid phase extraction of some organophosphorus pesticides from water samples with polymeric microbeads. **Microchemical Journal**, v. 154, p. 104537, 2020.

PATHAK, V. M. *et al.* Current status of pesticide effects on environment, human health and mitigation strategies. **Environmental Challenges**, v. 9, p. 100657, 2022.

PETER, K. T. *et al.* QuEChERS-based sample preparation methods for multi-residue pesticide analysis: recent advances and applications. **Food Chemistry**, v. 452, p. 138912, 2024.

PILTO, Z.; YUSUF, Z.; DESTA, M. Bioprospecting of coffee (*Coffea arabica* L.) husk as an eco-friendly biosorbent for the removal of Congo red dye. **Discover Applied Sciences**, v. 7, art. 1130, 2025.

PONGSIRIYAKUL, K. *et al.* Upcycling coffee waste: key industrial activities for sustainability and circular bioeconomy. **Processes**, v. 12, n. 12, p. 2851, 2024.

PUARI, A. T. *et al.* Sustainable heavy metal removal using coffee husk-derived biochar: response surface optimization and adsorption mechanisms. **Journal of Ecological Engineering**, v. 27, n. 3, p. 435–450, 2026.

QUYEN, V. T. *et al.* Biosorbent derived from coffee husk for efficient removal of toxic heavy metals from wastewater. **Chemosphere**, v. 284, p. 131312, 2021.

RAMADAN, L. *et al.* Development of LC–MS/MS method for the simultaneous detection of emerging contaminants in aquatic matrices. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 235, art. 537, 2024.

RANI, L. *et al.* An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, p. 124657, 2021.

ROCHA, G. S. *et al.* Coffee residues as biosorbents for pesticide extraction and preconcentration in environmental waters. **Journal of Environmental Management**, v. 368, p. 121498, 2024.

ROSENDO, A. C. *et al.* Advances in solid-phase extraction for environmental contaminant analysis. **Separation and Purification Reviews**, v. 52, n. 4, p. 356–382, 2023.

SAAD, A. M. *et al.* Organophosphate pesticides: environmental behavior, toxicological impacts and analytical approaches. **Environmental Pollution**, v. 368, p. 125412, 2025.

SAMI, S. A. *et al.* A comprehensive review on environmental dynamics of chlorpyrifos: fate, toxicity, remediation, and regulatory aspects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 308, p. 119484, 2025.

SANTE/11312/2021. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Version 2. **European Commission**, 2023.

SHEKHAR, S. *et al.* Chronic exposure to organophosphate pesticides and endocrine/neurobehavioral effects: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 276, p. 116345, 2024.

SIDHU, G. K. *et al.* Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 13, p. 1135–1187, 2019.

- TANG, Y. Coffee waste valorization for environmental remediation applications. **Bioresource Technology**, v. 398, p. 130456, 2024.
- TARÁBEK, P. *et al.* Identification of organic contaminants in water and related matrices using untargeted liquid chromatography high-resolution mass spectrometry screening with MS/MS libraries. **Chemosphere**, v. 366, p. 143489, 2024.
- TCHOUNWOU, P. B. *et al.* Environmental exposure and health effects associated with malathion toxicity. **In: Toxicity and Hazard of Agrochemicals**. London: IntechOpen, 2015.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Pesticide Registration Review: Proposed Decisions for Several Pesticides [Case Number 0088, EPA-HQ-OPP-2009-0059]. Washington, DC, 2024.
- WHO. Public health impact of pesticides used in agriculture. Geneva, 2020.
- WOJNOWSKI, W. *et al.* AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 149, p. 116553, 2022.
- WOŁEJKO, E. *et al.* Chlorpyrifos occurrence and toxicological risk assessment: a review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 19, p. 12209, 2022.
- WOŹNIAK, J. *et al.* Novel application of metal–organic frameworks as efficient sorbents for solid-phase extraction of chemical warfare agents and related compounds in water samples. **Molecules**, v. 29, n. 14, p. 3259, 2024.
- ZHANG, S. *et al.* Impact of matrix species and mass spectrometry on matrix effects in multi-residue pesticide analysis based on QuEChERS-LC-MS. **Foods**, v. 12, n. 6, p. 1226, 2023.
- ZHOU, X. *et al.* Recent developments in solid-phase extraction coupled to chromatographic techniques for environmental analysis. **Journal of Separation Science**, v. 47, n. 3, p. 2300412, 2024.

APÊNDICE

APÊNDICE A – DECLARAÇÃO DE USO DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL

Declara-se que durante a elaboração deste Trabalho de Conclusão de Curso, foram utilizadas ferramentas de inteligência artificial como apoio em atividades específicas relacionadas à escrita. O ChatGPT (OpenAI, versão GPT-5.5) foi utilizado para auxiliar na revisão de trechos do texto quanto à norma culta da língua portuguesa, oferecendo sugestões para melhorar a clareza e a correção gramatical. Também foi utilizada a plataforma Consensus IA (versão 2.0), como ferramenta de apoio na busca por artigos científicos e na identificação de estudos relacionados ao tema pesquisado.

As informações e sugestões fornecidas por essas ferramentas foram avaliadas criticamente pelo autor antes de sua utilização. A escolha das referências bibliográficas incluídas neste trabalho, a interpretação dos estudos consultados, a redação final do texto e todas as análises e conclusões apresentadas são de responsabilidade exclusiva do autor.