



## **Determinação vestigial de pesticidas em alimentos: novos desafios analíticos**

**TIAGO EMANUEL SILVÉRIO MACHADO**

Novembro de 2017

Mestrado em Engenharia Química  
Energia e Biorrefinaria

Determinação vestigial de pesticidas em alimentos:  
novos desafios analíticos

Tiago Machado 1110472

Orientadores: Doutora Cristina Delerue Matos  
Doutora Valentina Fernandes Domingues  
Doutora Virgínia Cruz Fernandes

## Agradecimentos

Agradeço à Doutora Cristina Delerue Matos, à Doutora Valentina Fernandes Domingues e à Doutora Virgínia Cruz Fernandes por me orientarem nesta dissertação, pelas sugestões e principalmente, pela disponibilidade incansável que tiveram sempre.

Agradeço à Conceição Ferreira por me ter ajudado sempre, fomos o apoio um do outro nesta etapa que agora cessa.

Agradeço também à minha família e amigos pelo apoio que me deram nestes últimos tempos.

## Resumo

O objetivo deste estudo consiste em determinar o impacto ambiental de métodos analíticos dedicados à determinação de pesticidas organoclorados em diferentes matrizes, neste caso, morangos, solos e compotas. Para as amostras de morangos e solos foram testados três métodos, sendo eles os QuEChERS com extração em fase sólida dispersiva (d-SPE), QuEChERS com extração de pipeta descartável (DPX) e extração de gota suspensa (SDME). As compotas foram analisadas apenas com QuEChERS com d-SPE e SDME.

O impacto ambiental é expresso em pontos e nesta dissertação obtiveram-se valores entre os 804,79 no SDME e os 841,04  $\mu$ Pts nos QuEChERS com d-SPE em compotas de pontuação global. Para melhor avaliar os resultados da pontuação global, dividiram-se todos os métodos em duas etapas, preparação de amostra e análise cromatográfica e calculado novamente a pontuação relativa a cada etapa. Verificou-se que a análise cromatográfica em todos os métodos tem um peso que varia entre os 94% nos QuEChERS com d-SPE e os 99% no SDME, sendo esta etapa igual em todos os métodos o seu impacto não varia sendo de 800,29  $\mu$ Pts. Considerando os valores obtidos para a análise cromatográfica é por isso incontestável a necessidade de otimização desta etapa para melhorar o impacto do método no seu todo. A etapa de preparação de amostra representa assim uma percentagem muito baixa no impacto ambiental. Na etapa de preparação de amostra, na SDME o impacto é igual sendo de 4,51  $\mu$ Pts e é independente do tipo de matriz. Este método apresenta um impacto com um valor quase 10 vezes inferior aos restantes. Os QuEChERS com d-SPE têm um impacto de 39,42  $\mu$ Pts para morangos, 38,42  $\mu$ Pts para solos e 40,76  $\mu$ Pts nas compotas. Para os QuEChERS com DPX o valor obtido em pontos para o impacto ambiental foi 39,42  $\mu$ Pts na matriz de morangos e 38,42  $\mu$ Pts nos solos. Verifica-se também que sendo a pontuação global da SDME menor, o seu impacto nas diferentes categorias de dano é também menor. Na análise de morangos, na categoria de dano das alterações climáticas o impacto é de 10,60  $\mu$ Pts nos QuEChERS com d-SPE, 10,57  $\mu$ Pts nos QuEChERS com DPX e 1,41  $\mu$ Pts na SDME. Na categoria saúde humana, na etapa de preparação da amostra, para a mesma matriz o impacto obtido é de 10,62  $\mu$ Pts nos QuEChERS com d-SPE, 10,43  $\mu$ Pts nos QuEChERS com DPX e 1,73  $\mu$ Pts no SDME. A mesma tendência observa-se para a categoria saúde humana nas outras matrizes. A qualidade dos ecossistemas é a categoria de dano que menos impacto sofre. Os recursos são a categoria de dano com maior impacto nos QuEChERS com d-SPE e nos QuEChERS com DPX, na SDME a categoria com maior impacto é a saúde humana. Este trabalho permitiu avaliar o impacto ambiental de diferentes metodologias analíticas realizadas em ambiente de laboratório de investigação e concluiu que a análise cromatográfica é a causa de um grande impacto no ambiente. É esta etapa aquela que deverá ser aperfeiçoada e trabalhada no sentido de reduzir o gasto energético, ser uma metodologia mais amiga do ambiente e com impacto ambiental reduzido.

## Abstract

The objective of this study is to determine the environmental impact of analytical methods dedicated to the determination of organochlorine pesticides in different matrices, in this case, strawberries, soils and jams. Three methods were tested for the strawberry and soil samples, namely QuEChERS with solid dispersive phase extraction (d-SPE), QuEChERS with disposable pipette extraction (DPX) and suspended drop extraction (SDME). The jams were analyzed only with QuEChERS with dispersive solid phase extraction (SPE) and SDME. The environmental impact is expressed in points and in this dissertation values were obtained between 804.79 in SDME and 841.04  $\mu$ Pts in QuEChERS with d-SPE in global scoring jams. In addition to the analysis of the overall score obtained, all methods were divided into two steps, sample preparation and chromatographic analysis, in this way it is possible to see in which part of the method an optimization is advisable to reduce the environmental impact. It was verified that the chromatographic analysis in all the methods has a weight that varies between the 94% in the QuEChERS with d-SPE and the 99% in the SDME, being this step equal in all the methods its impact does not vary being of 800, 29  $\mu$ Pts. Considering the values obtained for the chromatographic analysis it is therefore undisputed the need to optimize this step to improve the impact of the method. The sample preparation step represents a low percentage in environmental impact. In the sample preparation step, in the SDME the impact is equal being 4.51  $\mu$ Pts and is independent of the type of matrix. It has an impact almost 10 times lower than the rest. QuEChERS with d-SPE have an impact of 39, 42  $\mu$ Pts for strawberries, 38.42  $\mu$ Pts for soils and 40.76  $\mu$ Pts in jams. For the QuEChERS with DPX the environmental impact was 39.42  $\mu$ Pts in the matrix of strawberries and 38.42  $\mu$ Pts in the soils.

It is also verified that SDME's overall score is lower, its impact on the different categories of damage is also lower. In strawberry analysis, in the category of climate change damage, the impact is 10.60  $\mu$ Pts in the QuEChERS with d-SPE, 10.57  $\mu$ Pts in the QuEChERS with DPX and 1.41  $\mu$ Pts in the SDME. In the human health category, the sample preparation, for the same matrix, the impact obtained is 10.62  $\mu$ Pts in the QuEChERS with d-SPE, 10.43  $\mu$ Pts in the QuEChERS with DPX and 1.73  $\mu$ Pts in the SDME. The same trend is observed for the human health category in the other matrices. The quality of ecosystems is the category of damage that has the least impact. Resources are the category of damage with the greatest impact on the QuEChERS with d-SPE and on the QuEChERS with DPX, on SDME the category with the greatest impact is human health. This work allowed to evaluate the environmental impact of different analytical methodologies carried out in a research laboratory environment and concluded that the chromatographic analysis is the cause of a great impact on the environment. It is this stage that should be improved and worked to reduce energy expenditure, be a methodology more environmentally friendly and with reduced environmental impact.

## Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice.....	v
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tabelas.....	ix
Lista de abreviaturas/Nomenclatura.....	x
1. Introdução.....	1
1.1. História.....	1
1.2. Tipos de pesticidas.....	3
1.3. Organoclorados.....	4
2. Estado da arte.....	9
2.1. Métodos de extração de organoclorados.....	9
2.1.1. Extração de fase sólida (“Solid Phase Extraction” SPE).....	9
2.1.2. Micro extração em fase sólida (SPME).....	10
2.1.3. Dispersão de matriz em fase sólida (MDSP).....	11
2.1.4. QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe).....	12
2.1.5. Microextração em gota suspensa (SDME).....	13
2.2. Métodos de análise para determinação de organoclorados.....	14
2.2.1. Cromatografia gasosa.....	14
2.2.2. Detetores.....	16
3. Avaliação do ciclo de vida.....	25
3.1. Objetivo do estudo.....	26
3.2. Inventário.....	28
3.3. Avaliação do impacto ambiental.....	37
3.3.1. Matriz morangos.....	37
3.3.2. Matriz solos.....	40
3.3.3. Matriz compotas.....	42
3.4. Interpretação.....	45
4. Conclusão.....	49
Bibliografia.....	50
Anexos.....	57
Anexo A1.....	57

Anexo A2 .....	57
Anexo A3 .....	58
Anexo A4 .....	59

## Índice de Figuras

Figura 1 - Estrutura química do p,p'-DDT [2].....	1
Figura 2 - Consumo de pesticidas mundialmente em milhões de dólares americanos [5]. .....	2
Figura 3 - Utilização dos diferentes pesticidas, relativamente ao ano de 2005 [5].....	4
Figura 4 - Descrição do processo de SPE [40].....	9
Figura 5 - Seringa utilizada na micro extração em fase sólida [50].....	11
Figura 6 - Esquema representativo da dispersão de matriz em fase sólida [54].....	12
Figura 7 - Esquema representativo da microextração em gota [68] .....	13
Figura 8 - Diagrama de blocos de um sistema cromatográfico gasoso [73]. .....	14
Figura 9 - Funcionamento de um espectrómetro de massa [100].....	16
Figura 10 - Esquema do detetor de captura iónica [80].....	17
Figura 11 - Diagrama de QuEChERS com d-SPE em morangos.....	29
Figura 12 - Diagrama de QuEChERS com DPX em morangos.....	30
Figura 13 - Diagrama de QuEChERS com SPE em solos.....	31
Figura 14 - Diagrama de QuEChERS com DPX em solos. ....	32
Figura 15 - Diagrama de QuEChERS com SPE em compotas. ....	33
Figura 16 – Diagrama de extração de gota suspensa para todas as matrizes. ....	34
Figura 17 – Impacto ambiental total para os métodos utilizados nos morangos.....	37
Figura 18 – Impacto ambiental para cada uma das etapas dos métodos de análise dos morangos.....	38
Figura 19 - Impacto ambiental em percentagem nas categorias de dano da análise cromatográfica.....	38
Figura 20 - Impacto ambiental em pontos nas categorias de dano da análise cromatográfica.....	39
Figura 21 - Impacto ambiental em percentagem nas categorias de dano da etapa de preparação dos métodos de análise dos morangos.....	39
Figura 22 - Impacto ambiental nas categorias de dano da etapa de preparação dos métodos de análise dos morangos. ....	40
Figura 23 – Impacto ambiental obtido para os métodos utilizados nos solos. ....	40
Figura 24 – Peso de cada etapa no valor total de pontos. ....	41
Figura 25 - Impacto ambiental da etapa de preparação dos diferentes métodos nas categorias de dano para as amostras de solos.....	41
Figura 26 – Impacto ambiental de cada método nas diferentes categorias de dano nos solos.....	42
Figura 27 – Impacto ambiental obtido para os métodos utilizados na análise de compotas.....	42



Figura 28 – Cota de cada etapa na análise de compotas. ....	43
Figura 29 - Impacto das etapas de preparação dos diferentes métodos nas categorias de dano para as compotas.....	43
Figura 30 – Impacto ambiental de cada método nas diferentes categorias de dano para a análise de compotas. ....	44

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Variação do número de pesticidas ao longo dos anos [7].	2
Tabela 2 - Pesticidas classificados de acordo com o organismo-alvo [9].	3
Tabela 3 - Compostos organoclorados e características [18].	5
Tabela 4 - DL 50 de compostos organoclorados.	8
Tabela 5 - Vantagens e desvantagens da extração em fase sólida[43],[44].	10
Tabela 6 – Métodos analíticos mais utilizados na determinação de organoclorados em solos e alimentos.	18
Tabela 7 -Matrizes e processos de preparação de amostra estudados no ACV [59–65].	26
Tabela 8 - Inventário dos processos para a matriz de morangos.	34
Tabela 9 - Inventário dos processos para a matriz de solos.	35
Tabela 10 - Inventário dos processos para a matriz de compotas.	36
Tabela A2.11 – Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de morangos.	57
Tabela A2.12 - Dados dos QuEChERS com DPX utilizados na matriz de morangos.	57
Tabela A2.13 - Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de morangos.	58
Tabela A3.14 - Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de solos	58
Tabela A3.15 - Dados dos QuEChERS com DPX utilizados na matriz de solos.	58
Tabela A3.16 - Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de solos.	59
Tabela A4.17 - Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de compotas.	59
Tabela A4.18 – Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de compotas.	60

## Lista de abreviaturas/Nomenclatura

Aminas Primárias e Secundárias – PSA

Cromatografia Gasosa– GC

Detetor de captura de elétrons – ECD

Diclorodifenilcicloetano – 4,4'-DDD

1,1-dicloro-2-(o-clorofenil)-2-(p-clorofenil)etileno – o,p'-DDE

1,1-dicloro-2,2-bis-(p-clorofenil)etileno – 4,4'-DDE

4,4' - Diclorodifeniltricloroetano – 4,4'-DDT

Dispersão de matriz em fase sólida – MDSP

Dose letal 50 – DL50

Espectómetro de massa – MS

Espectómetro de massa tandem – MS/MS

Extração de pipeta descartável – DPX

Extração em fase sólida- SPE

Extração em fase sólida dispersiva – d-SPE

Hexaclorobenzeno – HCB

$\beta$ -hexaclorociclohexano –  $\beta$ -HCH

$\alpha$ -hexaclorociclohexano –  $\alpha$ -HCH

$\delta$ -hexaclorociclohexano – ( $\delta$ -HCH)

Limite máximo de resíduos de pesticidas – LMR

Lindano –  $\gamma$ -HCH

Microextração de fase sólida - SPME

Microextração em gota suspensa – SDME

Pentacloronitrobenzeno – PCNB

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

## 1. Introdução

Os pesticidas são compostos químicos, naturais, como por exemplo enxofre, ou sintéticos, que apareceram para colmatar a necessidade de eliminar, controlar ou prevenir uma espécie indesejada, como insetos, ervas, entre outras, de forma a proteger as plantações agrícolas e também para salvaguardar o homem e os restantes animais de doenças transmitidas por algumas pestes [1,2].

### 1.1. História

Os pesticidas encontram-se presentes na vida do Homem desde há milhares de anos. O uso intencional de pesticidas foi registado pela primeira vez em 2500 a.C., quando os sumérios esfregaram nos seus corpos lamas com enxofre na sua composição, pois acreditavam que o mau cheiro repelia pragas de insetos. Desde então, os diferentes povos foram descobrindo compostos que são utilizados como pesticidas nas mais diversas aplicações [3].

A exploração destas substâncias aumentou devido ao aumento das populações de pestes e simultaneamente, devido à diminuição da fertilidade dos solos. A primeira geração de pesticidas modernos apareceu no século XIX e baseava-se em compostos altamente tóxicos como arsénio, cianeto de hidrogénio e enxofre. Contudo, deixaram de ser utilizados devido à sua elevada toxicidade e baixa eficácia [2].

O desenvolvimento de pesticidas eficazes aumentou na Segunda Guerra Mundial, para combater doenças que atacavam os soldados, como por exemplo, a malária. O primeiro pesticida orgânico sintético surgiu em 1874, o diclorodifeniltricloroetano (DDT), mas passou despercebido até em 1940. Nessa década Paul H. Müller, descobriu as enormes potencialidades do DDT como inseticida [4]. Na Figura 1 pode-se observar a estrutura química do *p,p'*-DDT [2].

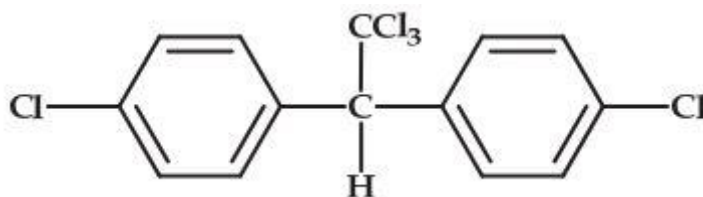


Figura 1 - Estrutura química do *p,p'*-DDT [2].

A utilização do DDT rapidamente se disseminou por todo o mundo. Este composto químico apresentava características únicas como a aplicabilidade diversa, persistência, insolubilidade, baixo custo de produção e fácil aplicação [2].

Desde esta descoberta, vários outros compostos foram sintetizados e usados no quotidiano do ser humano, tendo-se verificado um aumento significativo da utilização de pesticidas. Na Figura 2, pode-se observar o aumento dos consumos de pesticidas em todo mundo, a partir do volume de vendas [5].

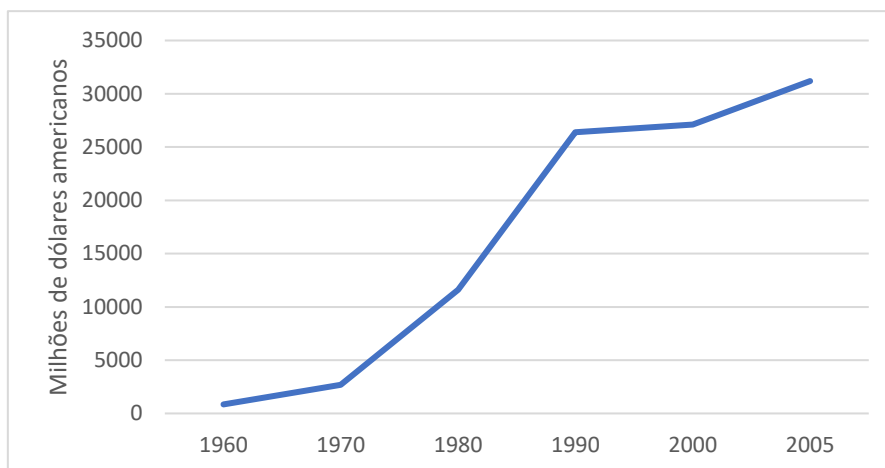


Figura 2 - Consumo de pesticidas mundialmente em milhões de dólares americanos [5].

Verifica-se que o aumento entre 1960 e 1990 foi exponencial, tendo aumentado de um consumo traduzido em 850 milhões de dólares americanos para 26400 milhões de dólares [5]. Este crescimento despertou a preocupação de diferentes entidades em estudar esta temática.

Na Europa, estudos realizados, em 2008, indicam que mais de 300 tipos de pesticidas tinham sido detetados em alimentos comercializados nos mercados europeus. Mais preocupante é o facto de mais de 5% dos produtos apresentarem quantidades superiores ao permitido na União Europeia [6].

Relativamente à utilização de pesticidas em Portugal à data de 2011, os três grupos de maior importância e utilização são os fungicidas com 115 compostos ativos, os herbicidas com 102 compostos ativos e os inseticidas com 62 compostos ativos. Ao longo dos anos verifica-se um aumento do número de compostos como se pode observar na Tabela 1 [7].

Tabela 1 - Variação do número de pesticidas ao longo dos anos [7].

Pesticida	1970	1980	1991	2002	2005	2011
Inseticida	65	69	74	84	73	62
Fungicida	37	50	96	113	101	115
Herbicida	37	63	78	95	87	102
<b>Total</b>	139	180	248	292	261	279

Verifica-se que entre 1970 e 2002 o número de pesticidas aumentou consideravelmente, verificando-se o aparecimento de mais do dobro em 32 anos, tendo

sofrido um ligeiro decréscimo em 2005. Mais recentemente em 2011 registou-se novamente um ligeiro aumento para 279 pesticidas [7].

O facto de alguns destes compostos apresentarem elevada estabilidade e persistência, fez com que as suas concentrações fossem aumentando em vários ecossistemas, tornando-se num problema grave para o ambiente e para o Homem. Vários estudos foram e continuam a ser realizados para avaliar os impactos negativos associados à presença destes químicos. A utilização de alguns destes compostos, após avaliações rigorosas, tem vindo a ser proibida na Europa e outros países.

#### 1.2. Tipos de pesticidas

A classificação de pesticidas pode ser feita de diferentes formas: agrupando-os tendo em conta a finalidade do pesticida, a origem orgânica ou inorgânica, o modo de ação e também pela estrutura química [8]. Na Tabela 2, pode-se observar as categorias de pesticidas de acordo com a sua aplicação [9].

*Tabela 2 - Pesticidas classificados de acordo com o organismo-alvo [9].*

<b>Tipo</b>	<b>Organismos alvo</b>
Acaricidas	Ácaros
Avicidas	Aves
Bactericidas	Bactérias
Carrapaticidas	Carrapatos
Columbicidas	Pombos
Formicidas	Formigas
Fungicidas	Fungos
Herbicidas	Ervas daninhas
Inseticidas	Insetos
Larvicidas	Larvas
Moluscicidas	Moluscos
Raticidas	Roedores

Desta variada gama de pesticidas, destacam-se os herbicidas, os inseticidas, os fungicidas e bactericidas, pois tratam-se dos grupos de compostos mais utilizados. Na Figura 3, observa-se as quantidades utilizadas de cada um, referentes ao ano de 2005 [5].

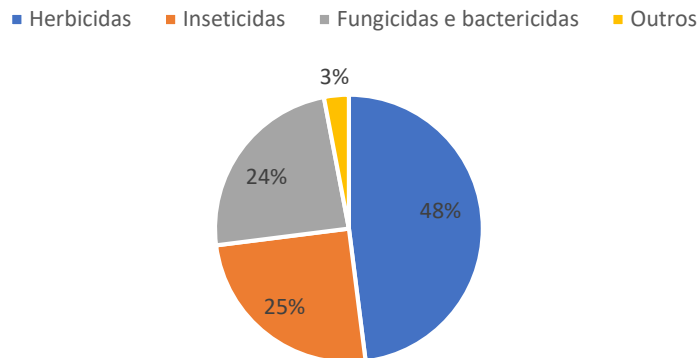


Figura 3 - Utilização dos diferentes pesticidas, relativamente ao ano de 2005 [5].

O gráfico mostra que os herbicidas são claramente aqueles mais utilizados. Estes compostos são importantes para impedir que outras espécies de plantas não desejadas como ervas daninhas, cresçam e compitam com as plantações de cultivo.

Relativamente à classificação de pesticidas pela estrutura química, os principais grupos são:

- Organofosforados – Contêm um grupo fosfato na sua estrutura base, por exemplo: malatião [2,10];
- Carbamatos – Compostos derivados do ácido carbâmico, como o aldicarbo [11];
- Triazinas – A estrutura base é um anel benzeno onde 3 átomos de carbono são substituídos com 3 átomos de azoto. Como exemplo tem-se a atrazina [12,13];
- Piretróides – Os piretróides semi-sintéticos e sintéticos são obtidos a partir dos princípios ativos presentes nos extratos das flores secas de Crisântemo. Um dos primeiros piretróides existentes foi a Aletrina [10,11,16];
- Cloroacetamidas – Este grupo trata-se de um herbicida dedicado a ervas e folhas largas, um dos compostos mais conhecidos é o metolacloro [15];
- Organoclorados – Compostos com pelo menos um átomo de cloro ligado a partir de uma ligação covalente [17].

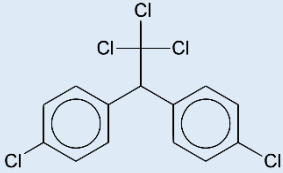
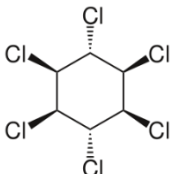
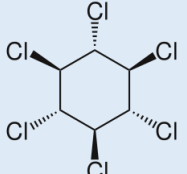
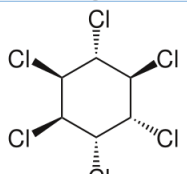
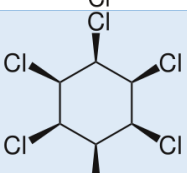
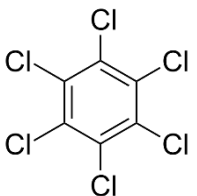
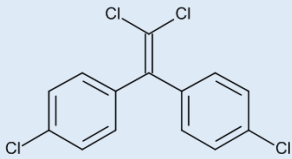
Um dos focos desta dissertação de mestrado é o estudo de pesticidas, como descrito anteriormente, mais concretamente os pesticidas organoclorados.

### 1.3. Organoclorados

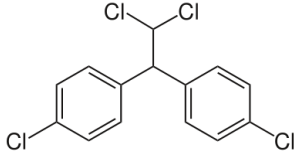
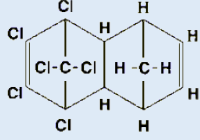
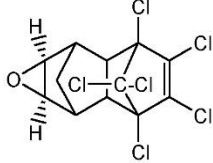
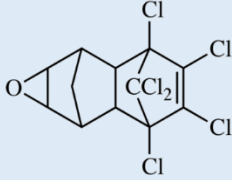
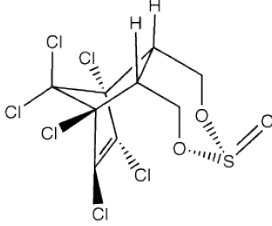
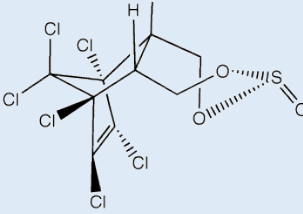
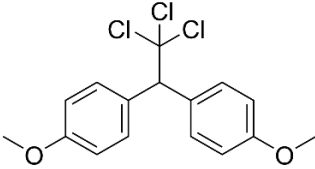
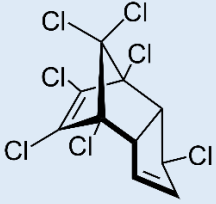
O primeiro composto organoclorado surgiu em 1940, o DDT, tendo uma enorme importância na Segunda Grande Guerra pois protegeu os soldados dos insetos. Este composto continua a ser utilizado para eliminar o mosquito transmissor de malária em

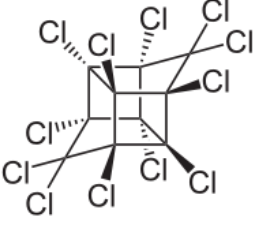
África. Na Tabela 3 encontram-se os pesticidas organoclorados e as suas características [18].

Tabela 3 - Compostos organoclorados e características [18].

Nome IUPAC	Estrutura química	Massa molecular (g/mol)	CAS
Diclorodifeniltricloroetano (o,p'-DDT)		354,49	50-29-3
Lindano ou $\gamma$ -hexaclorociclohexano ( $\gamma$ -HCH)		290,83	58-89-9
$\beta$ -hexaclorociclohexano ( $\beta$ -HCH)		290,83	319-85-7
$\alpha$ -hexaclorociclohexano ( $\alpha$ -HCH)		290,83	319-84-6
$\delta$ -hexaclorociclohexano ( $\delta$ -HCH)		290,83	6108-11-8
Hexaclorobenzeno (HCB)		284,78	118-74-1
1,1-dicloro-2,2-bis-(p-clorofenil)etileno (p,p'-DDE)		318,03	72-55-9



Diclorodifenilcicloetano (p,p'-DDD)		320,04	72-54-8
Aldrina		364,90	309-00-2
Endrina		380,91	72-20-8
Dieldrina		380,91	60-57-1
$\beta$ -Endossulfão		406,93	33213-65-9
$\alpha$ -Endossulfão		406,93	959-98-8
Metoxicloro		345,65	72-43-5
Heptacloro		373,32	76-44-8

Mirex		545,55	2385-85-5
-------	---	--------	-----------

Os pesticidas organoclorados foram maioritariamente usados na agricultura, de forma a combater insetos, impedindo que destruíssem as plantações. Estima-se que os insetos sejam responsáveis pela destruição de 14% das plantações mundiais [5].

De acordo com os mais variados estudos realizados sobre a utilização dos pesticidas organoclorados e a sua ligação com os efeitos no ambiente e saúde, a utilização destes compostos começou a ser questionada, e em 1964 o DDT foi proibido nos EUA [4].

A proibição ou restrição destes compostos organoclorados e outras substâncias foi organizada e melhor definida num tratado ambiental internacional chamado Convenção de Estocolmo para poluentes orgânicos persistentes (POP) realizado em 2001. Estes poluentes são tóxicos e persistentes no meio ambiente, acumulam-se nos tecidos gordos dos seres vivos e as suas concentrações são maiores à medida que se sobe na cadeia alimentar. Inicialmente na lista negra da Convenção de Estocolmo constavam doze compostos entre eles alguns pesticidas organoclorados, atualmente este número aumentou para mais do dobro [19]. A utilização destes compostos, atualmente é proibida em muitos países, contudo toma-se como exemplo o DDT, que ainda é utilizado em alguns países em desenvolvimento para prevenir malária entre outras doenças tropicais. Uma vigilância realizada a nível global indica a presença de DDT em tecido humano em maiores quantidades em África, Ásia e América latina do que nos Estados Unidos da América e na Europa [20].

Relativamente aos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos por lei destes compostos em alimentos, estes variavam de região para região. Entre países da União Europeia, estes valores eram também díspares, então decidiu-se criar uma legislação uniforme para todos os países que integram a União Europeia. Esta decisão tem como base facilitar as trocas de produtos entre mercados, já que os valores nos diferentes países da comunidade são iguais, controlar melhor os produtos que entram de mercados fora da Europa e principalmente a preocupação com a saúde humana. Foi então que a 23 de fevereiro de 2005 foi criado o regulamento (CE) N.O 396/2005 do parlamento europeu e do Conselho, tendo vindo a ser atualizado ao longo dos anos [21, 22].

LMR significa, limite máximo de um pesticida que é legalmente tolerado em alimentos ou plantações quando são realizadas boas práticas agrícolas [23]. Os valores definidos

para os pesticidas variam de acordo com o tipo de alimento ou ambiente em que são detetados [24].

A toxicidade deste grupo varia de moderada a alta e, visto que alguns deles são ainda utilizados em países em desenvolvimento, verificam-se anualmente 3 milhões de envenenamentos severos e 300 000 mortes num panorama mundial [25].

As vias de exposição humana aos pesticidas organoclorados podem ser por ingestão, inalação e cutânea. A absorção varia de acordo com o composto [26].

Uma forma de avaliar a toxicidade aguda é através da Dose letal (DL), em que DL50, indica a quantidade em mg de composto/kg do animal necessária para matar 50% da espécie em estudo [27]. A Tabela 4 mostra as quantidades de alguns pesticidas organoclorados em ratos e diferentes tipos de absorção.

*Tabela 4 - DL 50 de compostos organoclorados.*

	<b>Compostos</b>	<b>DL50 (oral; mg/kg)</b>	<b>DL 50 (derme; mg/kg)</b>	<b>Referência</b>
<b>Rato</b>	DDT	113 a 800	2500 a 3000 (fêmeas)	[28]
	Heptacloro	100 a 200	119 a 320	[29]
	Metoxicloro	5000 a 6000	--	[30]
	Aldrina	39 a 64	--	[31]
	Endrina	7,3 a 16,8	--	[32]
	Dieldrina	37 a 46	--	[31]

Os efeitos na saúde por exposição longa a estas substâncias podem ser variados. Na literatura existem vários estudos que mostram que os pesticidas organoclorados atuam como disruptores endócrinos [33] levando a distúrbios neuromusculares [34], sendo os mais comuns tremores neuromusculares e convulsões, podendo ser acompanhados por febre alta [35]. Estão também associados a níveis de hormonas da tiroide fora do normal [36], cancro da mama, próstata, estômago, pulmões [37], cérebro e leucemia [38]. Relativamente a possíveis tratamentos, não existe nenhum medicamento específico para tratar intoxicação por organoclorados. Por exposição cutânea, é recomendado banho com detergentes e água fria, por ingestão é necessário uma lavagem gástrica e purgativos salinos [35].

## 2. Estado da arte

Neste capítulo pretende-se apresentar os métodos de extração mais recentes e mais eficientes aplicados a compostos organoclorados e os métodos de análise para a sua determinação e quantificação.

### 2.1. Métodos de extração de organoclorados

Os métodos de extração permitem que compostos sejam separados da amostra inicial e dos possíveis interferentes que possam existir, de forma a ser possível a sua determinação. Relativamente aos pesticidas organoclorados, para além dos métodos mais clássicos como a extração líquido-líquido, existem outros métodos mais recentes como: a extração em fase sólida (SPE), a microextração em fase sólida (SPME), a dispersão de matriz em fase sólida (MDSP), o método *Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe (QuEChERS)* e a microextração de gota suspensa (SDME).

#### 2.1.1. Extração em fase sólida (“Solid Phase Extraction” SPE)

Este processo foi desenvolvido com o objetivo de completar as lacunas apresentadas pela extração líquido-líquido. Consiste em colocar a amostra numa coluna onde se encontra uma fase sólida compacta [39]. Deste modo o analito é purificado e concentrado por eluição com um solvente apropriado. O processo de separação pode ser feito de formas distintas como se pode observar na Figura 4 [40].

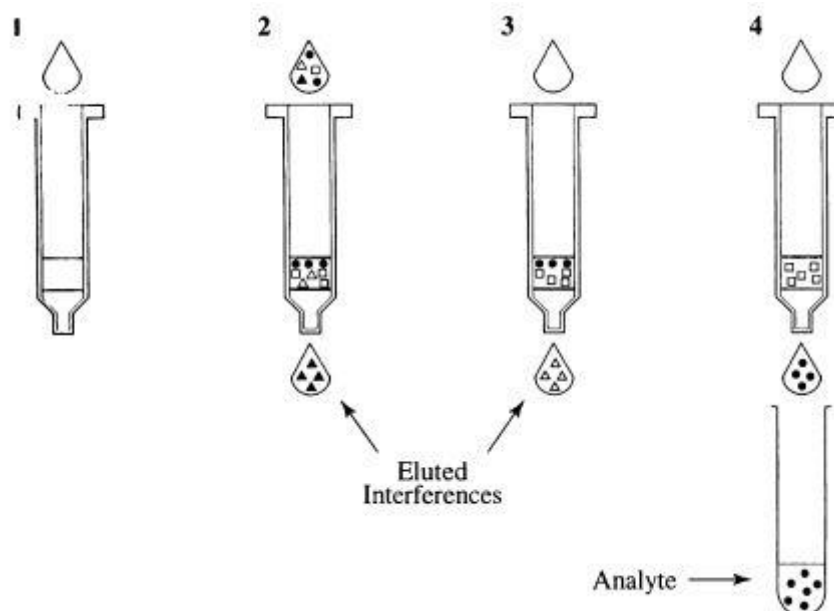


Figura 4 - Descrição do processo de SPE [40].

Um dos processos possíveis passa pela primeira eluição dos interferentes (passos 2 e 3), onde os primeiros interferentes (triângulos preenchidos) não têm qualquer afinidade com o sólido e são separados de imediato, de seguida passa-se um solvente

adequado pela coluna para a separação de um outro interferente (triângulos sem preenchimento). Finalmente, no passo 4, utiliza-se o solvente que fará a eluição do analito pretendido para posterior análise. Outro processo de extração utilizado é a eluição direta do analito, as separações intermédias referidas no método anterior não existem, ficando todos os interferentes retidos na coluna. O solvente que é utilizado é selecionado atendendo às características dos compostos a estudar, sua sendo apenas esses a sofrer eluição [40].

A fase sólida e respetivo mecanismo de retenção têm que ser selecionados, tendo em conta o composto ou grupo que se pretende analisar, sendo necessário avaliar a polaridade. Existe, portanto, a fase normal, a fase reversa e a permuta iónica [41].

A fase normal envolve a sorção do analito por uma superfície polar. As interações podem ser pontes de hidrogénio, dipolo-dipolo,  $\pi$ - $\pi$  e dipolo-dipolo induzido.

Contrariamente, a fase reversa envolve solutos orgânicos em solventes polares como é o caso da água em contacto com fases sólidas apolares. O mecanismo de interação é não polar, onde estão presentes forças de Van der Waals [40].

A permuta iónica baseia-se num soluto orgânico no estado iónico presente num solvente polar ou apolar e um sorbente com a carga iónica contrária. A energia presente nestas ligações é elevada e permite que solutos polares sejam removidos com eficácia de solventes polares [42].

Na Tabela 5 pode-se observar as vantagens e desvantagens da extração em fase sólida [43,44].

*Tabela 5 - Vantagens e desvantagens da extração em fase sólida[43],[44].*

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Inexistência do problema da separação incompleta das fases líquidas.	Para amostras muito contaminadas, pode ocorrer passagem de impurezas.
Melhores recuperações do que extração líquido-líquido	Escolha da fase sólida delicada, tendo em conta o composto alvo.
Mais económico	
Utilização de menores quantidades de solventes	
Extrato mais purificado.	

### 2.1.2. Micro extração em fase sólida (SPME)

A SPME é um método de extração muito usado, tendo sido desenvolvido em 1990 por Pawliszyn [45]. Consiste numa fibra de 1 cm de comprimento unida a um êmbolo de aço inoxidável. A fibra é revestida por um polímero, a sua escolha depende do analito

em análise [46]. Ao longo dos anos sofreu alterações, tendo sido trazido para o mercado em 2014 os primeiros cartuchos de micro extração em fase sólida [47].

Este método melhora algumas das desvantagens presentes nos métodos convencionais, visto que elimina ou reduz significativamente o uso de solventes orgânicos e a extração do analito e a sua pré concentração são feitas simultaneamente [48]. Contudo, é um método de extração que envolve custos relativamente elevados e é um processo que consome tempo [49]. Na Figura 5, observa-se a seringa utilizada neste processo [50].

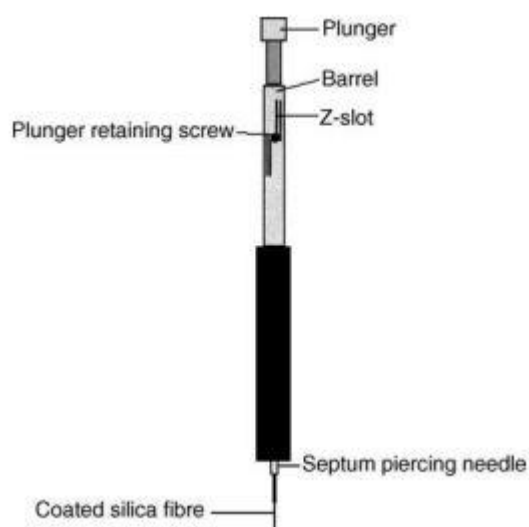


Figura 5 - Seringa utilizada na micro extração em fase sólida [50].

### 2.1.3. Dispersão de matriz em fase sólida (MDSP)

A MDSP foi desenvolvida com o objetivo de facilitar e melhorar a extração em amostras semi-sólidas ou sólidas, devido às limitações apresentadas pelos métodos na altura em que este foi desenvolvido, 1989 [51]. Este método utiliza também um sorbente sólido como a extração em fase sólida sendo que na dispersão de matriz a amostra fica dispersa por toda a coluna e não apenas retida na parte superior como na extração em fase sólida. A eluição pode ser realizada pelas duas formas já mencionadas na extração em fase sólida [52]. A eficiência de extração desta metodologia foi verificada em vários compostos tais como drogas, pesticidas, componentes naturais, entre outros [53].

Na Figura 6 pode-se observar o esquema base do procedimento da dispersão de matriz em fase sólida [54].

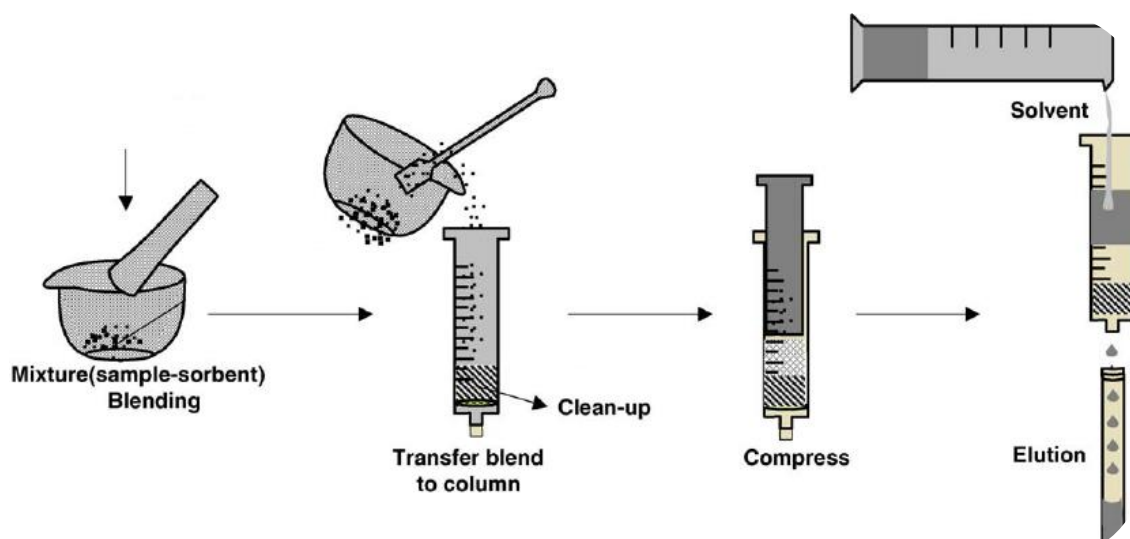


Figura 6 - Esquema representativo da dispersão de matriz em fase sólida [54].

Na figura visualiza-se uma primeira etapa de mistura da amostra com o sorbente, sendo essa mistura colocada numa coluna e por fim a realização da extração.

#### 2.1.4. QuEChERS (*Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe*)

O método QuEChERS foi desenvolvido por Michelangelo Anastassiades e Steven Lehotay entre 2001 e 2002 e foi publicado detalhadamente em 2003 [55],[56]. O método descrito baseia-se na extração de pesticidas de frutas e vegetais. A metodologia divide-se em 2 etapas muito bem definidas, a primeira etapa uma extração recorrendo a solvente orgânico e sais seguida de uma etapa de limpeza. A segunda etapa é responsável pela limpeza do extrato removendo açúcares, lípidos, ácidos orgânicos, esteróis, proteínas, pigmentos e excesso de água através de uma extração em fase sólida dispersiva (d-SPE) [57]. Novas variantes do método original têm vindo a ser desenvolvidas com o objetivo de melhorar a sua eficiência, rapidez, custo, entre outros aspetos. Uma das otimizações do método original é também o QuEChERS precedido de extração de pipeta descartável (DPX), outra forma de eliminar interferentes da amostra. Este utiliza uma pipeta com um sorbente entre dois filtros, ocorrendo aí a extração desejada [58].

Este método é um dos estudados neste trabalho para a determinação de pesticidas organoclorados em morangos e solos de cultivo [58–65].

Comparativamente a outros métodos, este apresenta vantagens tais como:

- Utilização de pequenas quantidades de amostra;

- Redução do tempo de preparação da amostra;
- A extração revela elevada eficiência e reprodutibilidade;
- Redução do volume de solventes orgânicos;
- Diminuição do impacto ambiental na análise destes compostos [66].

#### 2.1.5. Microextração em gota suspensa (SDME)

Outro método desenvolvido com o objetivo de se apresentar como substituto aos métodos convencionais e eliminar ou diminuir os impactos negativos apresentados por estes é o método de extração em gota suspensa.

Este procedimento de extração foi apresentado em 1996 por Michael Jeannot e Frederick Cantwell e consiste numa extração líquido-líquido reduzido a uma quantidade residual de solvente orgânico [67]. Na Figura 7 observa-se um esquema do contato realizado entre as duas fases projetado por Jeannot e Cantwell [68].

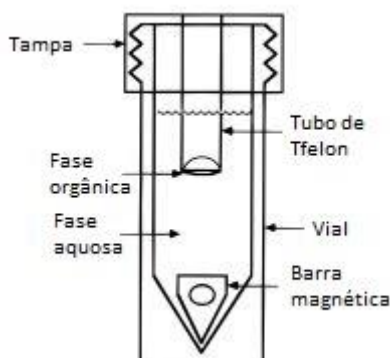


Figura 7 - Esquema representativo da microextração em gota suspensa [68]

Uma gota de 8  $\mu\text{L}$  de um solvente orgânico é colocada na ponta de um tubo de teflon e mergulhada na fase aquosa, a passagem dos compostos é feita tendo em conta o conceito de extração líquido-líquido. A barra magnética irá fazer a agitação necessária para que as duas fases circulem e facilite a passagem da fase aquosa para a fase orgânica [68]. O tempo de contacto não é definido, variando de acordo com o estudo e determinação que está a ser realizada. De igual forma o volume de gota utilizado pode também variar.

O método utiliza apenas uma gota de solvente orgânico, por isso, o baixo custo relativamente à utilização destes solventes e o curto tempo de operação são vantagens importantes [64]. Os principais riscos deste método é a sensibilidade da gota, podendo ser destruída ou perdida no manuseamento [69], e a necessidade de um operador experiente de forma a diminuir a probabilidade de erros.

Novas variantes deste método foram sendo apresentadas ao longo do tempo, como é o caso da SDME de fluxo contínuo de Liu e Lee [70].



## 2.2. Métodos de análise para determinação de organoclorados

A cromatografia é o método analítico mais utilizado para a análise de pesticidas. É uma técnica de separação e de identificação de diferentes compostos. Esta separação depende do comportamento dos analitos entre a fase móvel e a fase estacionária.

Para a separação de grupos de compostos mais apolares o método mais utilizado é a cromatografia gasosa (GC) [71].

Relativamente aos detetores, especificamente para os pesticidas organoclorados os utilizados são o detetor de espectrometria de massa (MS), o MS em modo tandem (MS/MS) e detetor de captura eletrónica (ECD) [58–65].

### 2.2.1. Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação, onde os componentes da amostra se separam entre duas fases, sendo uma a fase estacionária e a outra a fase móvel gasosa. De acordo com o tipo de fase estacionária, a cromatografia gasosa pode ser classificada em cromatografia gás-sólido, em que a fase estacionária é um sólido, e gás-líquido, sendo a fase estacionária líquida [72].

Os principais constituintes de um sistema cromatográfico podem ser observados na Figura 8 [73].

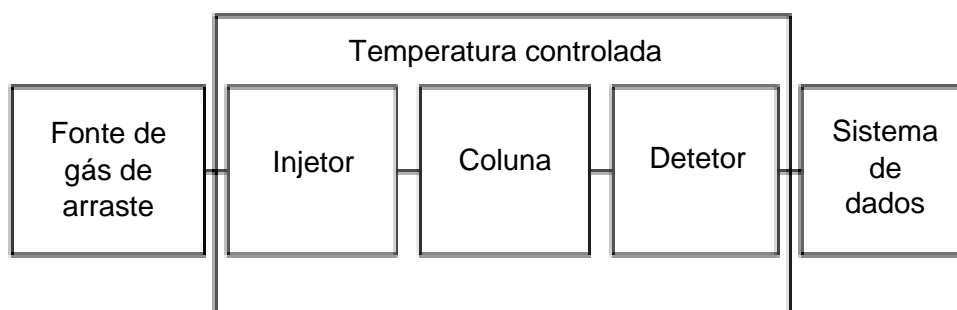


Figura 8 - Diagrama de blocos de um sistema cromatográfico gasoso [73].

#### 2.2.1.1. Gás de arraste

A fonte de gás de arraste fornece ao sistema o gás inerte que servirá de fase móvel. Esse gás pode ser azoto ou hélio, sendo a escolha baseada nos princípios de separação e no custo associado à sua utilização [73]. Outro gás que pode ser utilizado é o hidrogénio, este apresenta-se mais eficiente do que os anteriores, contudo o seu custo elevado e o seu maior risco de acidente exclui-o na grande maioria das situações [74]. No caso do estudo realizado foram utilizados azoto e hélio.

#### 2.2.1.2. Injetor

O processo inicia-se pela injeção da amostra no injetor. A amostra é introduzida no sistema cromatográfico a uma temperatura elevada e controlada de forma a garantir a

vaporização da amostra. A injeção da amostra pode ser feita manualmente ou de forma autónoma com a utilização de um injetor automático (*autosampler*). Nos estudos realizados foram usados estes dois tipos de injeção, tendo sido a injeção manual utilizada nos SDME.

Os modos de injeção em cromatografia gasosa podem ser *split* ou *splitless*. Em modo *split*, o volume recolhido pela agulha não entra totalmente para a coluna, parte do analítico vai para uma outra corrente que não a da coluna. Este método é utilizado quando se tratam de amostras muito concentradas que podem prejudicar a coluna capilar [74]. No modo *splitless* o analito é totalmente injetado na coluna, tendo sido este o modo utilizado nos estudos realizados na determinação de pesticidas organoclorados. Neste trabalho a temperatura mantida no injetor é de 250°C.

#### 2.2.1.3. Coluna

Após a passagem pelo injetor a amostra entra na coluna e inicia-se a separação dos compostos de acordo com a afinidade com a fase estacionária. A coluna capilar utilizada apresenta um comprimento de 30 metros, TRB-5MS (0.25 mm i.d., 0.25 µm de espessura de filme, Teknokroma).

## 2.2.2. Detetores

### 2.2.2.1. Espectrómetro de massa (MS)

A deteção por espectrometria de massa permite identificar moléculas recorrendo ao valor da massa da molécula e/ou fragmentos da mesma permitindo a caracterização de suas estruturas químicas. O tipo de espectrómetro de massa utilizado nos estudos desenvolvidos foi MS *ion trap*. O seu funcionamento consiste primeiramente na ionização das moléculas ao estado catiónico, de seguida os iões são acumulados no *ion trap* e estabilizados através de um campo de rádio frequências que atua nas 3 direções, não permitindo qualquer liberdade de movimento dos iões. Os catiões são depois encaminhados para o detetor de acordo com a sua massa molar [75]. Na Figura 9 pode-se observar a constituição de um espectrómetro de massa do tipo *ion trap* [76].

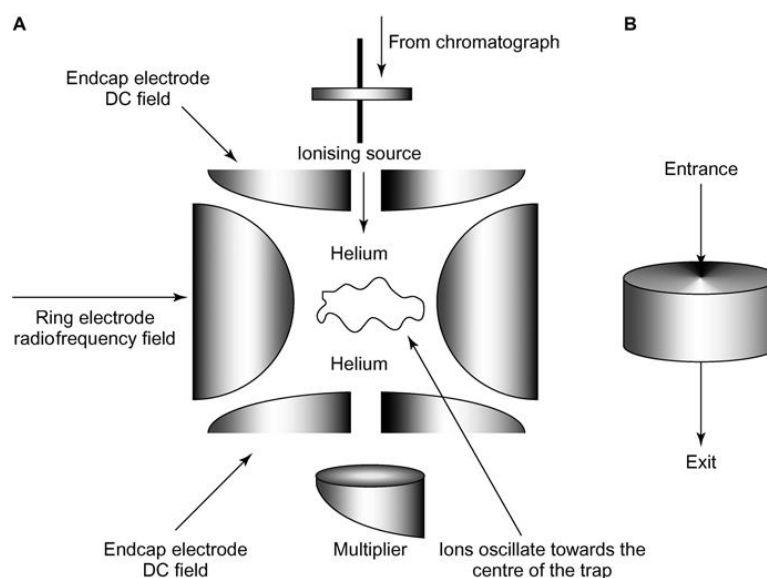


Figura 9 - Funcionamento de um espectrómetro de massa [100].

### 2.2.2.2. Captura eletrónica

O detetor de captura eletrónica é seletivo a compostos eletronegativos, salientando-se as moléculas cloradas, fluoradas ou bromadas [77]. Os pesticidas em estudo são os pertencentes ao grupo dos organoclorados e por isso candidatos para serem analisados por ECD.

Este detetor tem como princípio de funcionamento a reação das moléculas eletronegativas com eletrões térmicos presentes no detetor de forma a formar aniões [78]. Utiliza uma fonte radioativa que emite energia Beta, sendo mais comum usar Niquel-63 ou Trítio. Estas partículas Beta colidem com o gás de arraste formando eletrões térmicos, criando uma corrente elétrica constante. Os compostos em análise

ao entrar no detetor capturam esses elétrons, resultando num decréscimo do sinal, e assim cria-se sinal dando uma resposta no cromatograma [79].

Na Figura 10 está representado o esquema de um detetor de captura eletrónica [80].

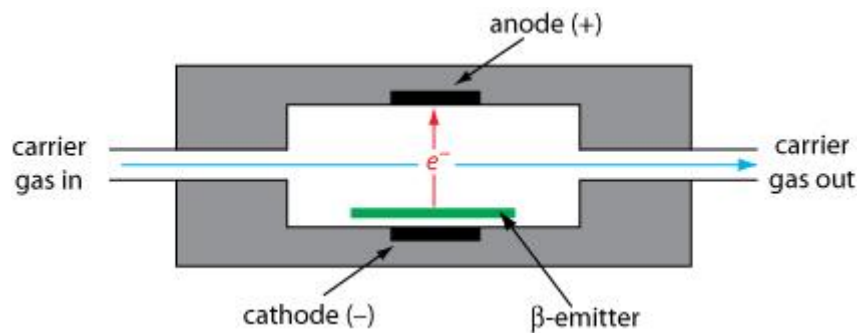


Figura 10 - Esquema do detetor de captura eletrónica [80].

Na Tabela 6 podem ser observados alguns estudos realizados relativamente à determinação de organoclorados em solos e alimentos. Encontram-se resumidos alguns dos métodos analíticos mais utilizados datados entre 2003 e 2016, os seus limites de quantificação (LOQ) e deteção (LOD) e gamas de trabalho.

Tabela 6 – Métodos analíticos mais utilizados na determinação de organoclorados em solos e alimentos.

OCP's		Matriz	Preparação da amostra	Técnica analítica	Gama de trabalho (µg/kg)	LOD/LOQ (µg/kg)	Referência
o,p'-DDT β-HCH δ-HCH p,p'-DDE Aldrina Dieldrina β-Endossulfão	Lindano α-HCH HCB p,p'-DDD Endrina α-Endossulfão Metoxicloro	Açaí	QuEChERS	GC-ECD	5 a 60	Maior:4,97/16,58 δ-HCH Menor: 0,85/2,83 Metoxicloro	[81]
		Goiaba				Maior:5,00/18,67 δ-HCH Menor: 1,75/5,84 Metoxicloro	
Lindano α-HCH δ-HCH HCB p,p'-DDE p,p'-DDD Aldrina Endrina Dieldrina 4,4'-DDT	β-Endossulfão α-Endossulfão Metoxicloro Heptacloro d-Lindano Heptacloro epoxido Endrina aldeido o,p'-DDE 4,4'-DDD	Damasco	QuEChERS com d-SPE	GC-MS	2 a 1000	Maior:3,90/13,00 δ-HCH, α-HCH Menor: 0,30/1,00 o,p'-DDE	[82]
		Pêra				Maior:2,70/9,00 δ-HCH, Endrina aldeido Menor: 0,30/1,00 Heptacloro epoxido	
Lindano Aldrina Endrina	Dieldrina Heptacloro	Laranja	SPE	GC-ECD	10 a 500	Maior:15,00/50,00 Lindano, Heptacloro Menor: 0,30/1,00 Aldrina, Endrina, Dieldrina	[83]

Lindano α-HCH δ-HCH β-HCH Heptacloro Aldrina β- Endossulfão	p,p'-DDD Endrina aldeido Endrina cetona Heptacloro epoxido α-Clordano Endrina	Peixe (Carpa, peixe-gato e Saira)	QuEChERS com DLLME-SFO	GC-ECD	5 a 20	Maior:1,58/4,70 p,p'-DDD Menor: 0,65/1,94 Endrina aldeido	[84]
α-HCH β-HCH o,p'-DDT	p,p'-DDD o,p'-DDE Endossulfão	Espinafres, couve flor, brócolos, aipo, repolho, alface, mostarda	SPE	GC-ECD	500 a 3000	Entre 0,03 e 4,5/Entre 0,2 e 45	[85]
Lindano β-HCH α-HCH δ-HCH HCB p,p'-DDE p,p'-DDD Aldrina Endrina Dieldrina 4,4'-DDT PCNB 2,4'-DDT 2,4'-DDD	β-Endossulfão α-Endossulfão Metoxicloro Heptacloro d-Lindano Heptacloro epoxido β Heptacloro epoxido α Endrina aldeído o,p'-DDE 4,4'-DDD 4,4'-DDE	Uvas	Extração sortiva em barra de agitação com dessorção térmica	GC-ECD	0,1 a 100	Maior:0,90/3,10 2,4'-DDT Menor: 0,03/0,1 Heptacloro epoxido β	[86]

2,4'-DDE							
$\alpha$ -HCH $\beta$ -HCH Heptacloro Aldrina trans- Chlordane	$\alpha$ -Endossulfão cis-Clordano Endrina Dieldrina Metoxicloro	Salsa, agrião, pepino, tomate, batata limões e morangos	Dionex- Extração de solvente acelerada com SPE	GC-ECD e GC-MS	5 a 1000	Maior:2,58/8,59 cis- Clordano Menor: 1,54/5,13 $\beta$ -HCH	[87]
Lindano $\beta$ -HCH $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH p,p'-DDE p,p'-DDD Aldrina Endrina Dieldrina 4,4'-DDT	$\beta$ -Endossulfão $\alpha$ -Endossulfão Metoxicloro Heptacloro Heptacloro epoxide $\beta$ Heptacloro epoxide $\alpha$ Endrina aldeído o,p'-DDE 4,4'-DDD 4,4'-DDE	Alface Pimenta Tomate Espinafre Batata	Extração de micro- ondas assistida com SPE	GC-ECD	5 a 1000	Maior:8,50/17,50 $\beta$ -HCH Menor: 0,70/6,3 4,4'-DDE	[88]
Lindano $\beta$ -HCH $\alpha$ -HCH HCB Aldrina	4,4'-DDT 2,4'-DDT 4,4'-DDD 4,4'-DDE	Mel	SPE com sorbente octadecil	GC-MS	LOQ a 100xLO Q	Maior: --/20 4,4'-DDT; 2,4'-DDT; 4,4'-DDD; 4,4'-DDE Menor: --/3 $\alpha$ -HCH	[89]
$\beta$ -HCH $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH	Aldrina Endrina Dieldrina	Alface	QuEChERS com d-SPE	GC-MS/ LC-MS	5 a 1000	Maior:4,0/11,0 p,p'-DDD Menor: 1,0/3,0 Aldrina; $\delta$ -HCH; $\alpha$ - Endossulfão; Dieldrina	[90]

Heptacloro p,p'-DDD 4,4'-DDT 4,4'-DDE	$\alpha$ -Endossulfão Metoxicloro Endossulfão sulfato Clordano	Cenoura				Maior:5,0/15,0 Dieldrina Menor: 1,0/3,0 p,p'-DDD; 4,4'-DDT; $\delta$ -HCH	
		Tomate				Maior:4,0/13,0 4,4'-DDE Menor: 2,0/5,0 p,p'-DDD; $\delta$ -HCH; Endrina; Dieldrina; Clordano	
		Abacaxi				Maior:3,0/10,0 4,4'-DDE Menor: 1,0/3,0 Clordano	
Lindano $\beta$ -HCH $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH HCB p,p'-DDE p,p'-DDD Aldrina Endrina Dieldrina 4,4'-DDT PCNB 2,4'-DDT 2,4'-DDD 2,4'-DDE Alacloro Brompropilat o Clorfenapir Clorofensão	$\beta$ -Endossulfão $\alpha$ -Endossulfão Metoxicloro Heptacloro d-Lindano Heptacloro epoxide $\beta$ Heptacloro epoxide $\alpha$ Endrina aldeído 4,4'-DDD 4,4'-DDE cis- Clordano trans- Clordano Endossulfão sulfato Captano Pendimetalina, Pentacloroanilina, Procimidona, Propizamida,	Solo suíço	Extração de solvente acelerada	GC-MS	50 a 500	5,0/10,0 do método	[91]



Cloro-dimetilo, Clorotalonil, Clorozolinato, Diclofluanida, Fenson, Folpe, Haloxifop- metilo, Iprodiona, Isodrina Oxiclordano	Quintozeno, Tecnazeno, Tetradifão, Tetrasul, Tolulfuoreto, Trifluralina e vinclozolina Mirex Nitroftal- isopropilo						
Lindano $\beta$ -HCH $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH	4,4'-DDT 2,4'-DDT 4,4'-DDD Endossulfão	Feijão-caupi Couve-flor, Aipo, Repolho, Cogumelos, Cebolinha, Alface fresca, Repolho roxo, Pepino, Alface, Salsa, Feijão, Espinafre, Tomate, Pimenta, Beringela, Rabanete, Batata, Cenoura,	SPE	GC-MS	250 a 2000	Vegetais secos: Maior:1,2/4,0 $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH, 4,4'-DDT, Endossulfão Menor: 0,6/2,0 ,4'-DDT 4,4'-DDD, Lindano $\beta$ -HCH Vegetais Frescos: Maior:0,4/2,0 $\alpha$ -HCH $\delta$ -HCH, 4,4'-DDT, Endossulfão Menor: 0,2/0,6 ,4'-DDT 4,4'-DDD, Lindano $\beta$ -HCH	[92]

		Fungo seco, Cogumelos secos ( <i>Agaricus campestris</i> ) Tremella seca (fungo branco comestível), e Gengibre.					
Lindano β-HCH α-HCH 4,4'-DDT 2,4'-DDT 4,4'-DDD	Heptacloro Aldrina δ-HCH 2,4'-DDE Dieldrina 4,4'-DDE	Repolho chinês Pepino Tomate	SPE	GC-MS	200 a 2500	<p>Maior: 5,0/20,0 2,4'-DDT</p> <p>Menor: 3,0/10 Lindano, β-HCH, α-HCH, 4,4'-DDT, 4,4'-DDD, Heptaclor, Aldrina, δ-HCH, 2,4'-DDE, Dieldrina, 4,4'-DDE</p>	[93]
Lindano β-HCH α-HCH δ-HCH Aldrina Endossulfão 4,4'-DDD	Heptacloro Heptacloro epoxide Endrina Endrina cetona Endrina aldeído 4,4'-DDE	Tomate Pepino Pimenta	<p>Extração com diclorometano ou acetato de etilo e <i>Clean up</i> com coluna Florisil</p>	GC-ECD	2 a 250	<p>Maior: 2,92/7,95 Endrina cetona</p> <p>Menor: 0,69/ 1,87 Aldrina</p>	[94]



### 3. Avaliação do ciclo de vida

De forma genérica a avaliação do ciclo de vida (ACV) consiste em medir o impacto ambiental associado a um produto, processo ou serviço, compilando e quantificando a energia e os materiais consumidos e os resíduos libertados para o ambiente [95].

Existem inúmeras razões que justificam a realização deste estudo, muitas delas ambientais, como a redução de consumo de materiais, de energia, de produção resíduos, de efluentes e emissões gasosas, diminuindo assim o impacto ambiental, a que acrescem outras razões de aspeto económico como redução de custos, foco no desenvolvimento de produto/processo, diminuição da utilização de matérias primas [96].

A ACV permite uma análise científica sobre as questões ambientais relacionadas a um produto ou processo, a partir de ações/etapas que incluem:

- i) Definir de forma clara e concreta o objetivo e o âmbito do estudo – Objetivo do estudo;
- ii) Uma compilação de um inventário de entradas de energia e materiais relevantes inseridas e emissões ambientais – Inventário;
- iii) Avaliação do impacto ambiental associado com entradas e saídas identificadas – Avaliação do impacto ambiental;
- iv) Interpretação dos resultados sobre o impacto do processo, ou técnica analítica, para uma tomada de decisão mais informada – Interpretação.

Depois de efetuada alguma pesquisa, verifica-se que este estudo é pioneiro para este tipo de processos realizados a nível laboratorial [97].

O método utilizado para a AVC neste estudo é o Impact 2002+ e fornece fatores de caracterização para mais de 1.500 substâncias. Esta metodologia apresenta novos conceitos e métodos de avaliação comparativa de toxicidade humana e efeitos de ecotoxicidade. Para a categoria consumo de recursos, o conceito de energia excedente define-se somando-se energia primária e excedente para os combustíveis fósseis e desenvolvimentos têm sido realizados sobre a exposição ao ar interior de ambientes fechados e os impactos diretos de pesticidas [98].

### 3.1. Objetivo do estudo

O primeiro passo para a realização de um estudo de ACV é realizar uma observação geral do projeto de forma a definir claramente o âmbito e o objetivo da ACV que se irá realizar.

O objetivo principal dos estudos de ACV do presente trabalho foi avaliar quais os métodos analíticos utilizados para extração e determinação de pesticidas organoclorados em diferentes matrizes, apresentam maior impacto ambiental. Foram estudados para a ACV um total de 8 processos. Na Tabela 7 apresentam-se os processos utilizados para a preparação de amostra de cada matriz estudada [59–65].

*Tabela 7 -Matrizes e processos de preparação de amostra estudados no ACV [59–65].*

<b>Matriz</b>	<b>Processo</b>
<b>Morangos</b>	QuEChERS com d-SPE QuEChERS com DPX SDME
<b>Solos</b>	QuEChERS com d-SPE QuEChERS com DPX SDME
<b>Compotas</b>	QuEChERS com d-SPE SDME

O campo de ação consiste, como já apresentado anteriormente na Tabela 7, em 8 metodologias analíticas distintas para a extração e determinação de pesticidas organoclorados por GC.

A informação utilizada para este estudo provém de estudos experimentais realizados no laboratório GRAQ do ISEP e já publicados em revistas científicas internacionais anexadas no Web of Science [59–65] e das bases de dados existentes no SimaPro 8.4.0.0.

O método de avaliação de impacto utilizado foi o Impact 2002+. O Impact 2002+ utiliza uma abordagem combinada de categoria intermédia / dano, ligando todos os tipos de resultados do inventário do ciclo de vida (fluxos elementares e outras intervenções) através de 15 categorias intermédias para quatro categorias de danos. Assim, analisa e processa os dados fornecidos, propondo uma relação viável entre as categorias intermédias e as categorias de dano [99].

As categorias intermédias referidas são [99]:

- Carcinogénicos
- Não carcinogénicos
- Inorgânicos respiráveis
- Radiação ionizada
- Diminuição da camada de ozono
- Orgânicos respiráveis
- Ecotoxicidade aquática
- Extração mineral
- Ecotoxicidade terrestre
- Acidez terrestre
- Ocupação de território
- Acidificação aquática
- Eutrofização aquática
- Aquecimento global
- Energia não renovável

Estas categorias foram depois associadas em categorias de dano, sendo elas saúde humana, qualidade dos ecossistemas, alterações climáticas e recursos [97]. A vantagem deste método de avaliação é a possibilidade de normalizar os resultados nas diferentes áreas, pois apresentam diferentes unidades de forma a conseguir obter uma pontuação global e assim ter uma melhor perceção do impacto de cada método.

Definido o objetivo, a fase seguinte consistiu na realização do inventário de todos os processos definidos para os estudos de ACV.

### 3.2. Inventário

A realização do inventário é necessária para conhecer todas as entradas e saídas, tanto de reagentes, como de energia, de resíduos produzidos e emissões gasosas em cada etapa dos diferentes processos.

Depois de analisados os métodos, verifica-se algumas semelhanças entre eles. Todos os 8 métodos têm como etapa final a análise cromatográfica da amostra e respectivos padrões, é utilizado n-hexano, contudo em diferentes quantidades. Outro ponto comum em todos os métodos é a utilização de uma centrífuga com uma potência de 240 W.

Os processos QuEChERS com d-SPE e DPX para todas as matrizes são mais extensos relativamente ao número de etapas que precisam de ser realizadas quando comparados com o processo SDME. Os processos que envolvem QuEChERS utilizam um conjunto de reagentes tais como, acetonitrilo, cloreto de sódio, citrato trissódico diidratado, hidrogenocitrato dissódico sesquiidratado, sulfato de magnésio anidro, sulfato de magnésio, aminas primárias e secundárias e C18.

A energia gasta nesta metodologia QuEChERS provem da já referida centrífuga, um vortex com potência de 150 W e dos equipamentos utilizados para a análise cromatográfica. É também utilizado em solos e compostas nos métodos QuEChERS com d-SPE e DPX um equipamento de ultrasons com uma potência de 100 W. Um exemplo de cálculo dos consumos energéticos pode ser encontrado nos Anexos A1. Nas Figuras 11 e 12 podem ser observados os diagramas com saídas e entradas de cada etapa para QuEChERS com d-SPE e DPX nas amostras de morango.

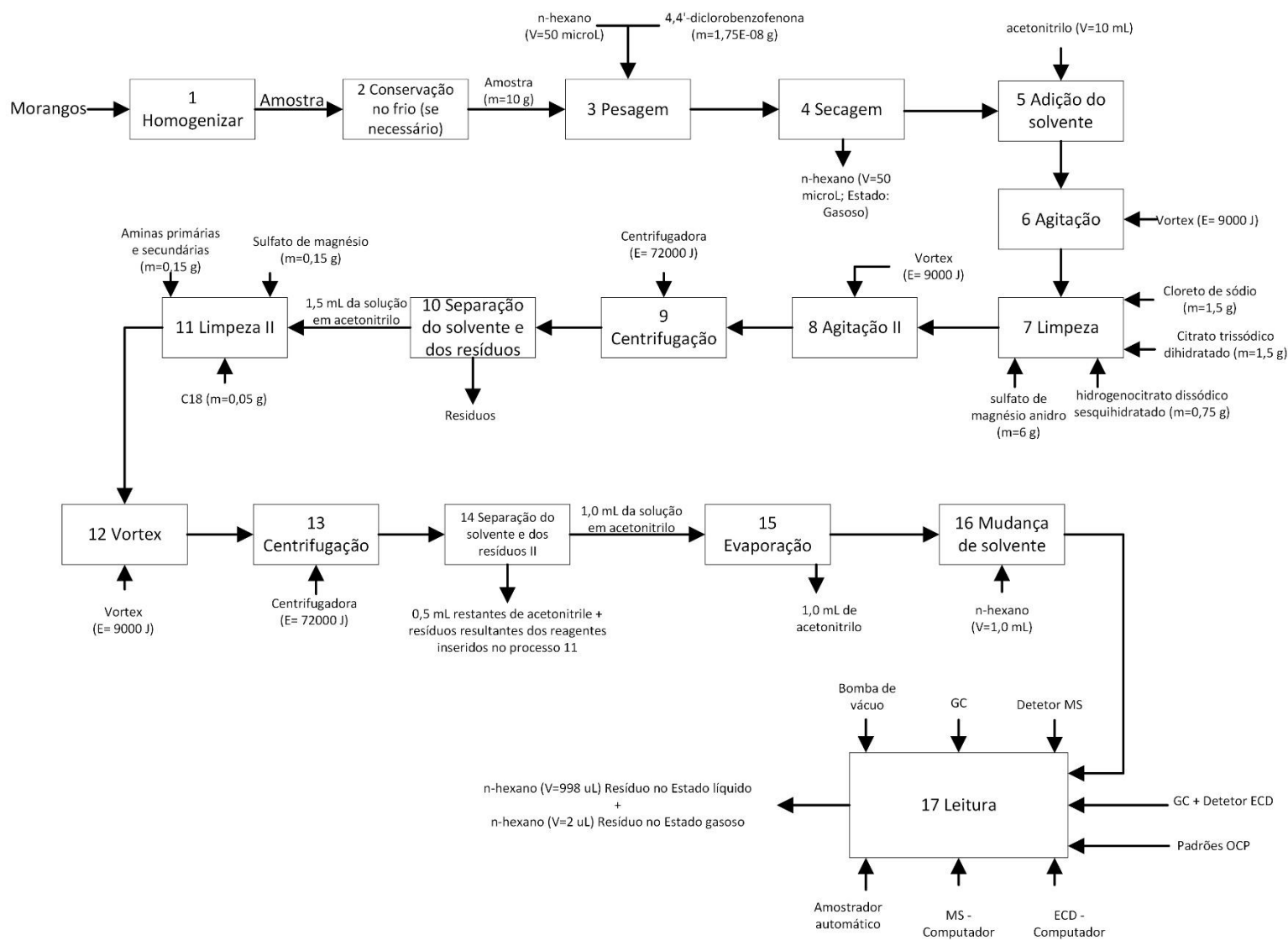


Figura 11 - Diagrama de QuEChERS com d-SPE para morangos.



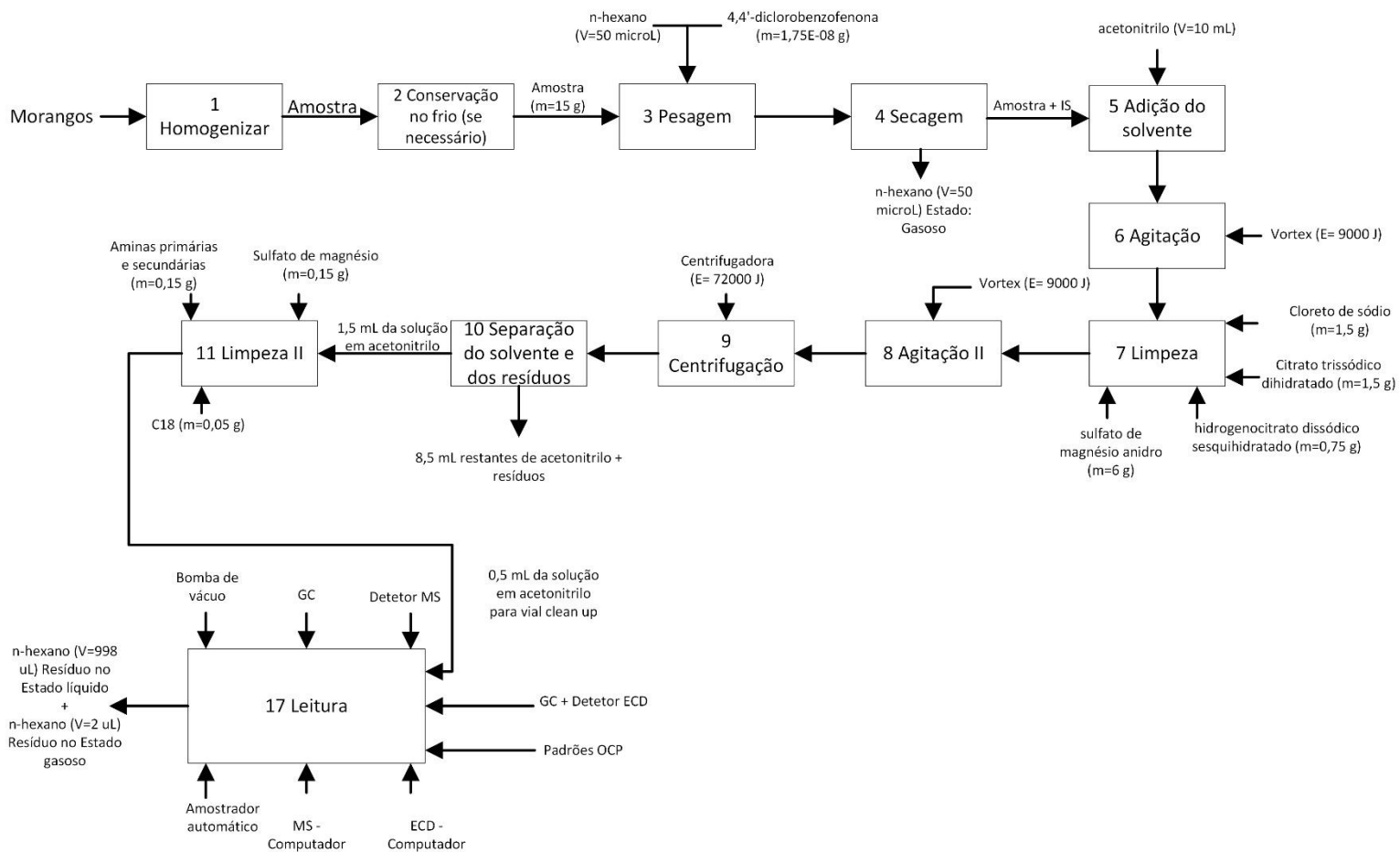


Figura 12 - Diagrama de QuEChERS com DPX para morangos.

Para os processos QuEChERS com d-SPE e DPX que apresentam solos como matriz foi adicionada uma etapa de ultrasons, os diagramas são apresentados nas Figuras 13 e 14.

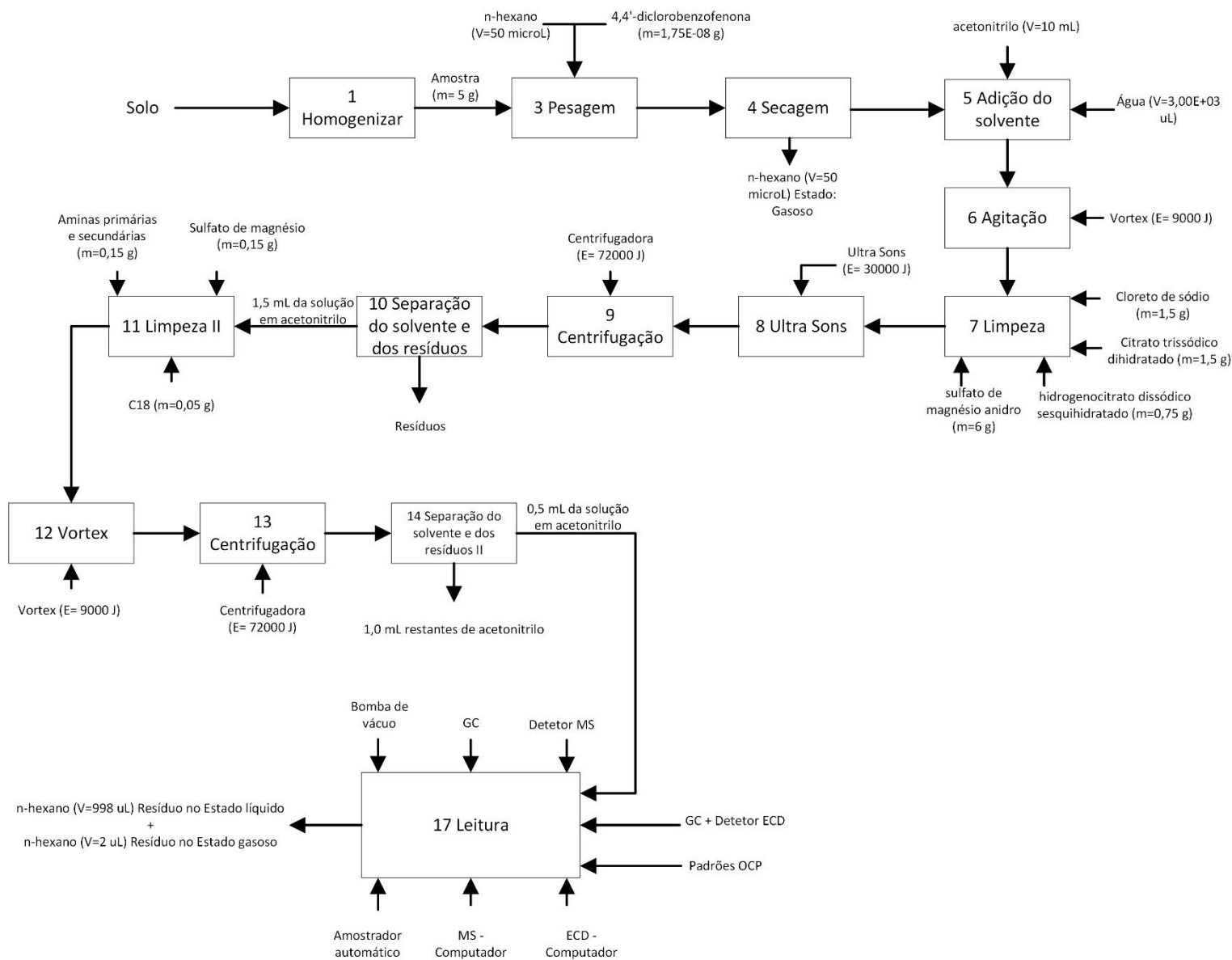


Figura 13 - Diagrama de QuEChERS com SPE para solos.

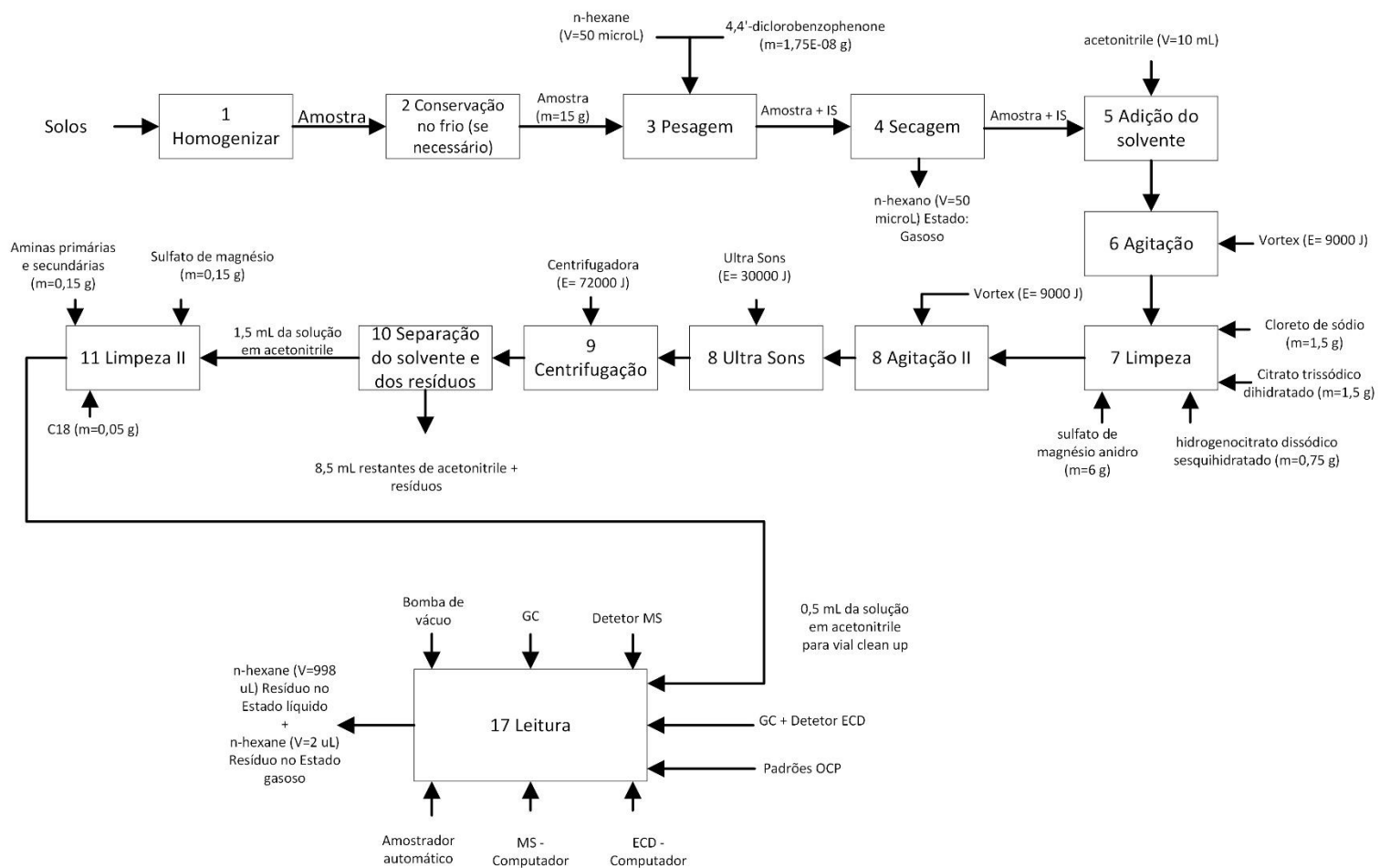


Figura 14 - Diagrama de QuEChERS com DPX para solos.

Na determinação de pesticidas organoclorados em compotas apenas foi realizada a extração por QuEChERS com d-SPE, sendo o esquema apresentado na Figura 15. Nesta metodologia a etapa com ultrasons é também incluída.

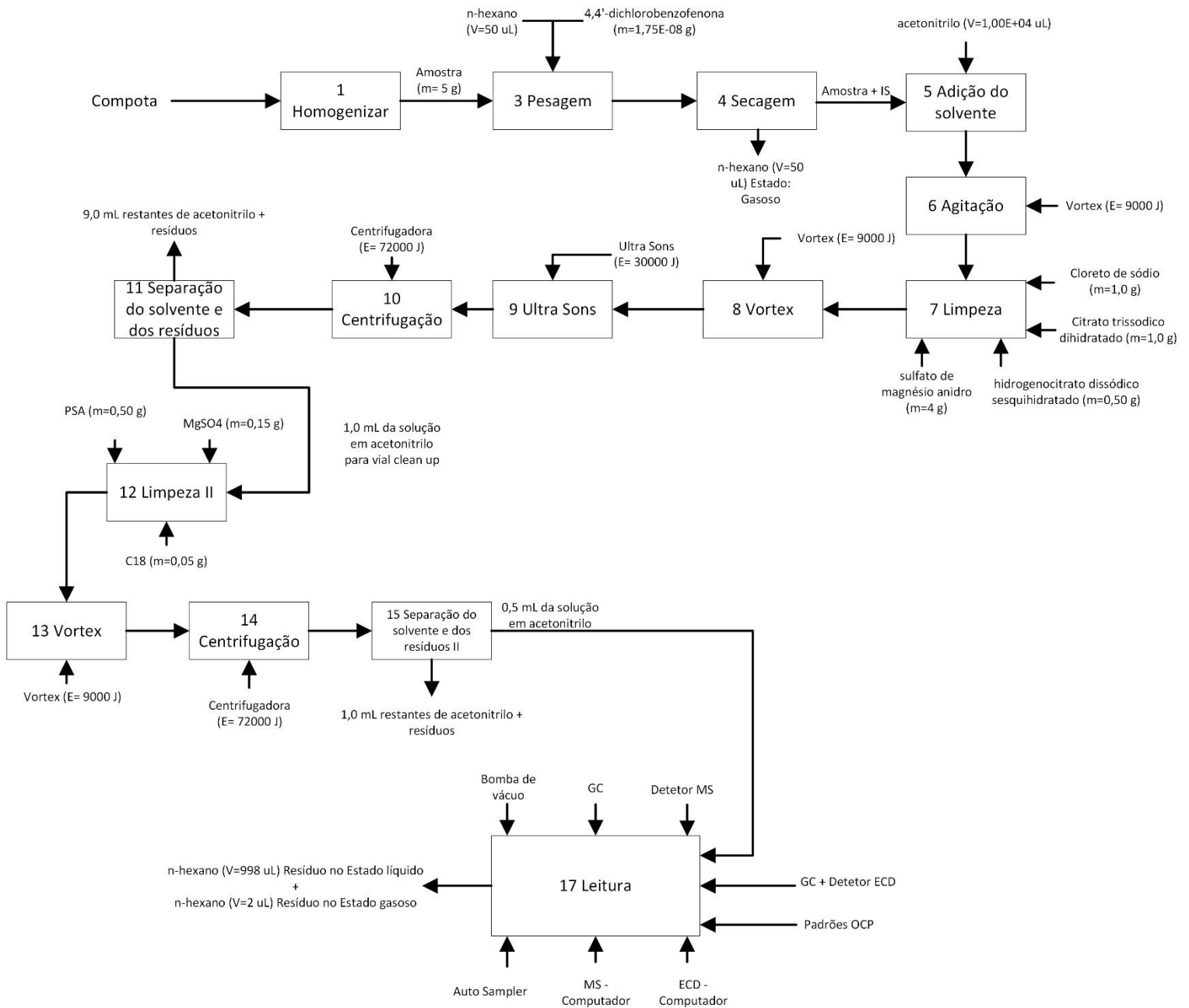


Figura 15 - Diagrama de QuEChERS com SPE para compotas.

Os restantes métodos são a extração de gota suspensa para as diferentes matrizes testadas, que foram os morangos, os solos e as compotas. Neste processo o número de etapas é menor do que nas anteriormente apresentadas. A utilização de n-hexano mantém-se, contudo em quantidades muito pequenas, sendo o volume cerca de 5 µL. As etapas do processo são exatamente iguais para as diferentes amostras. A Figura 16 apresenta o diagrama para o método SDME.

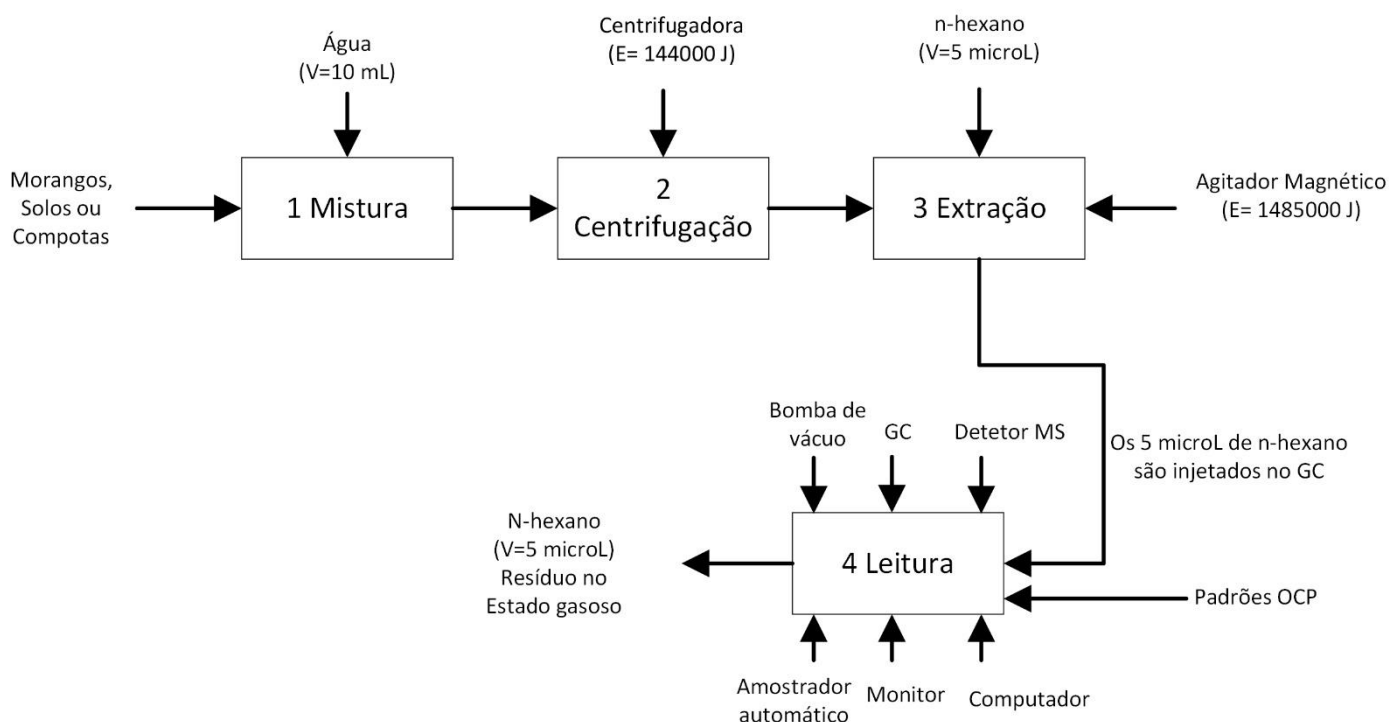


Figura 16 – Diagrama de extração de gota suspensa para todas as matrizes.

Depois de uma análise detalhada das diferentes metodologias foram recolhidas todas as informações necessárias para a realização do inventário. De forma sucinta, pode-se observar as entradas e saídas nos diferentes métodos na matriz de morangos na Tabela 8. Nas entradas estão enumerados todos os materiais utilizados e nas saídas a energia gasta, as emissões gasosas e os resíduos produzidos e respetivos destinos.

Tabela 8 - Inventário dos processos para a matriz de morangos.

Materiais	Morangos		
	QuEChERS com DPX	SDME	QuEChERS com d-SPE
4,4' – diclorobenzofenona (g)	1,75E-08	-	1,75E-08
n-hexano (g)	0,69195	-	0,69195
Acetonitrilo (g)	8,84	-	8,84
Sulfato de magnésio (g)	6,15	-	6,15
Cloreto de sódio (g)	1,5	-	1,5
Viais (g)	3	-	6
Sílica ativada (C18) (g)	0,05	-	0,05

PSA (g)	0,15	-	0,15
Polietileno de baixa densidade (g)	4,2	1,2	1,2
Citrato trissódico diidratado (g)	1,5	-	1,5
Hidrogenocitrato dissódico sesquidratado (g)	0,75	-	0,75
Polipropileno (g)	13	-	14
Água (mL)		10	
<b>Eletricidade</b>			
Eletricidade gasta na leitura (J)	13970880	13970880	13970880
Restante eletricidade (J)	37200	42075	52200
<b>Emissões para o ar</b>			
n-hexano (g)	0,03295	-	0,03295
Acetonitrilo (g)	0,884	-	0,884
DDT (g)	0,000153	0,000153	0,000153
<b>Resíduos para tratamento</b>			
Material inerte, aterro sanitário (g)	3,05	-	6,05
Resíduos perigosos, incineração (g)	6,2	-	6,2
Aterro sanitário (g)	32,2	21,2	25,2

Para os solos podem-se observar na Tabela 9, igualmente os valores das entradas e saídas nos diferentes métodos.

Tabela 9 - Inventário dos processos para a matriz de solos.

<b>Materiais</b>	<b>Solos</b>		
	<b>QuEChERS com DPX</b>	<b>SDME</b>	<b>QuEChERS com d-SPE</b>
4,4' – diclorobenzofenona (g)	1,75E-08	-	1,75E-08
n-hexano (g)	0,69195	-	0,69195
Acetonitrilo (g)	8,84	-	8,84
Sulfato de magnésio (g)	6,15	-	6,15
Cloreto de sódio (g)	1,5	-	1,5
Viais (g)	3	-	6
Silica ativada (C18) (g)	0,05	-	0,05
PSA (g)	0,15	-	0,15
Polietileno de baixa densidade (g)	4,2	1,2	1,2
Citrato trissódico diidratado (g)	1,5	-	1,5
Hidrogenocitrato dissódico sesquidratado (g)	0,75	-	0,75
Polipropileno (g)	13	-	14
Água (mL)		10	
<b>Eletricidade</b>			
Eletricidade gasta na leitura (J)	13970880	13970880	13970880
Restante eletricidade (J)	28200	42075	43200
<b>Emissões para o ar</b>			
n-hexano (g)	0,03295	-	0,03295
Acetonitrilo (g)	0,884	-	0,884
DDT (g)	0,000153	0,000153	0,000153
<b>Resíduos para tratamento</b>			
Material inerte, aterro sanitário (g)	3,05	-	6,05
Resíduos perigosos, incineração (g)	6,2	-	6,2

Aterro sanitário (g)

22,2	21,2	20,2
------	------	------

Nas amostras de compotas apenas foram realizados os métodos SDME e QuEChERS com d-SPE como se observa na Tabela 10.

Tabela 10 - Inventário dos processos para a matriz de compotas.

<b>Materiais</b>	<b>Compotas</b>	
	<b>SDME</b>	<b>QuEChERS com d-SPE</b>
4,4' – diclorobenzofenona (g)	-	1,75E-08
n-hexano (g)	-	0,69195
Acetonitrilo (g)	-	8,84
Sulfato de magnésio (g)	-	4,15
Cloreto de sódio (g)	-	1
Viais (g)	-	6
Silica ativada (C18) (g)	-	0,05
PSA (g)	-	0,15
Polietileno de baixa densidade (g)	1,2	1,2
Citrato trissódico diidratado (g)	-	1
Hidrogenocitrato dissódico sesquidratado (g)	-	0,5
Polipropileno (g)	-	14
Água (mL)	10	
<b>Eletricidade</b>		
Eletricidade gasta na leitura (J)	13970880	13970880
Restante eletricidade (J)	42075	97200
<b>Emissões para o ar</b>		
n-hexano (g)	-	0,03295
Acetonitrilo (g)	-	0,884
DDT (g)	0,000153	0,000153
<b>Resíduos para tratamento</b>		
Material inerte, aterro sanitário (g)	-	6,05
Resíduos perigosos, incineração (g)	-	6,2
Aterro sanitário (g)	21,2	25,2

### 3.3. Avaliação do impacto ambiental

Nesta secção serão apresentados os resultados obtidos da avaliação do impacto ambiental de cada método estudado, sendo a análise dos resultados obtidos apresentada na secção 3.4 de interpretação. O método utilizado foi, como já referido, o Impact 2002+. Este método permite que diferentes áreas de impacto sejam normalizadas de forma a obter um valor global, permitindo ter uma ideia geral do impacto de cada método estudado. As categorias de danos estudadas foram a saúde humana, qualidade dos ecossistemas, alterações climáticas e recursos. A unidade utilizada tem como denominação Pontos.

#### 3.3.1. Matriz morangos

Iniciando pela matriz de morangos, a Figura 17 apresenta os valores totais de pontos apresentados pelos QuEChERS com d-SPE, QuEChERS com DPX e SDME.

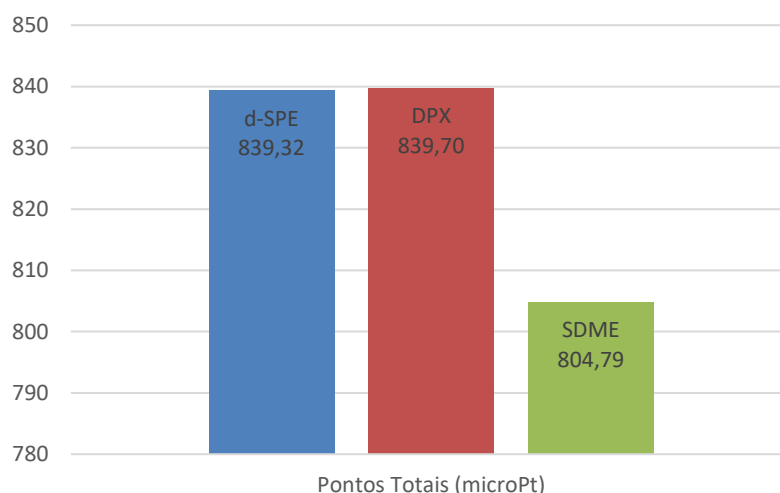


Figura 17 – Impacto ambiental total para os métodos utilizados nos morangos.

De forma a compreender em que etapas dos métodos o impacto era maior, decidiu-se dividi-los em duas categorias principais, a primeira é a preparação da amostra e a segunda é a análise por GC. Esta divisão está representada na Figura 18 onde se observam os gráficos circulares evidenciando o valor em pontos totais que cada etapa apresenta.



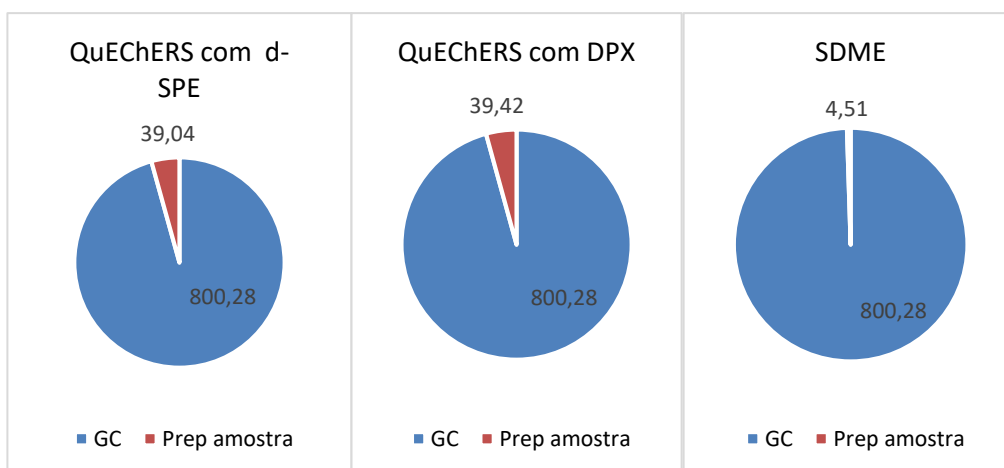


Figura 18 – Impacto ambiental para cada uma das etapas dos métodos de análise dos morangos.

Depois de realizada uma apreciação geral de cada método e as suas etapas, foram analisadas as 4 categorias de dano. Esta análise foi realizada para melhor avaliar em que categoria de dano o impacto era mais relevante. Esta avaliação foi dividida também nas duas etapas principais dos métodos (análise cromatográfica e preparação de amostra). Na Figura 19 observa-se a distribuição dos impactos na etapa da análise cromatográfica. Como a análise cromatográfica é comum em todas as matrizes, os resultados para as categorias de dano são iguais nesta etapa para todas as metodologias e matrizes estudadas (morangos, solos e compotas).

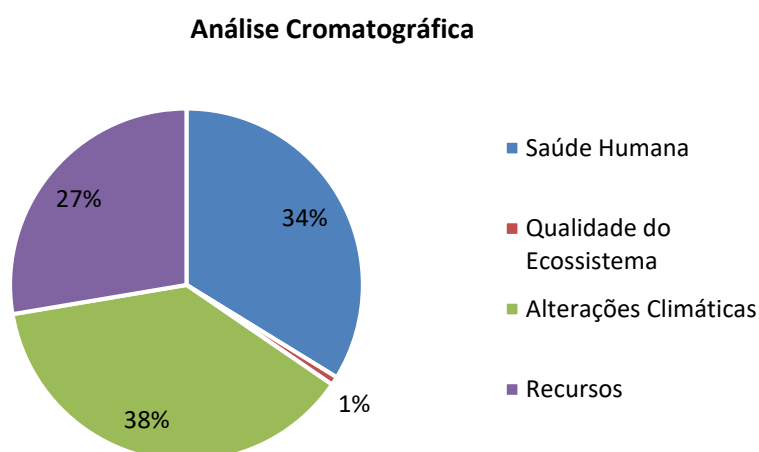


Figura 19 - Impacto ambiental em percentagem nas categorias de dano da análise cromatográfica.

A Figura 20 permite observar a dispersão apresentada anteriormente numa escala pontual.

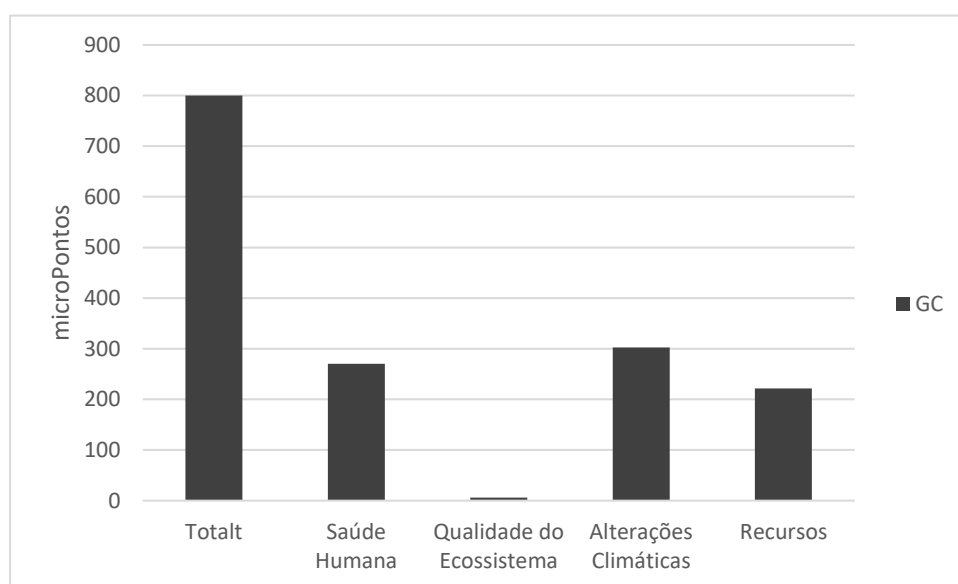


Figura 20 - Impacto ambiental em pontos nas categorias de dano da análise cromatográfica.

Passando para a etapa da preparação da amostra, a Figura 21 mostra as percentagens para cada categoria de dano dos diferentes métodos para a matriz de morangos.

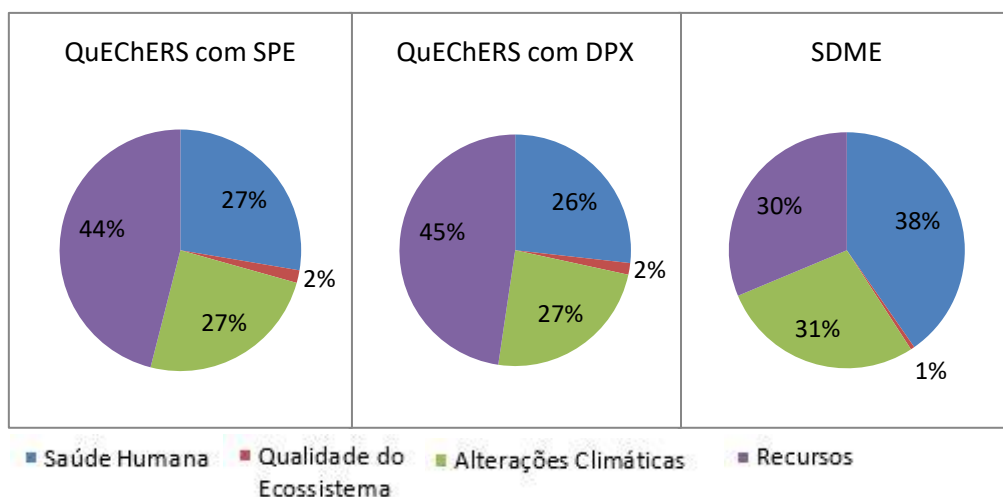


Figura 21 - Impacto ambiental em percentagem nas categorias de dano da etapa de preparação dos métodos de análise dos morangos.

Tendo em conta a pontuação geral da preparação de amostra, apresenta-se na Figura 22 os pontos reais em cada uma das categorias de dano.

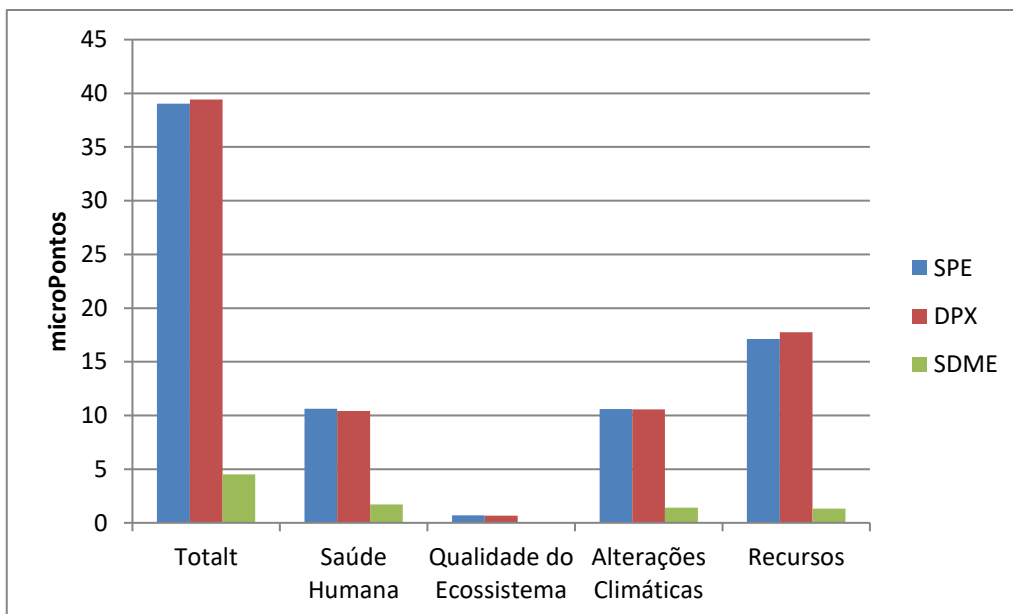


Figura 22 - Impacto ambiental nas categorias de dano da etapa de preparação dos métodos de análise dos morangos.

### 3.3.2. Matriz solos

Para o estudo realizado em solos os métodos foram os QuEChERS com d-SPE, QuEChERS com DPX e SDME. Os valores pontuais para cada método são apresentados na Figura 23.

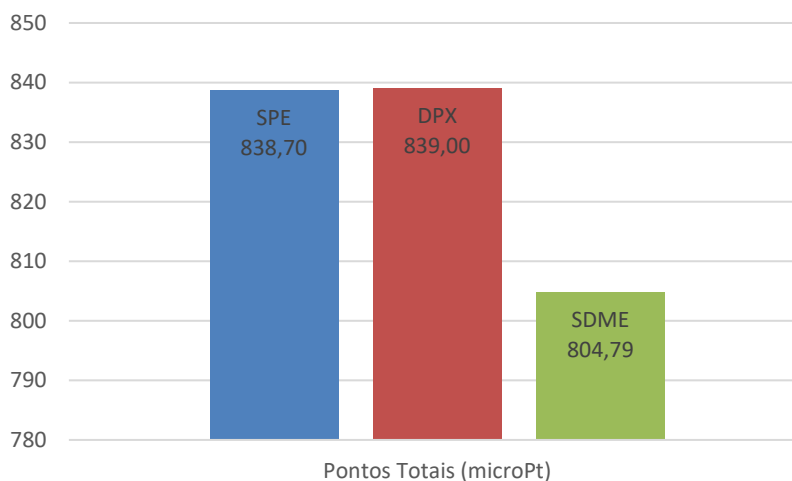


Figura 23 – Impacto ambiental obtido para os métodos utilizados nos solos.

O impacto ambiental de cada etapa na pontuação geral é representado na Figura 24. O procedimento de análise de resultados realizado foi semelhante ao apresentado anteriormente para os morangos.

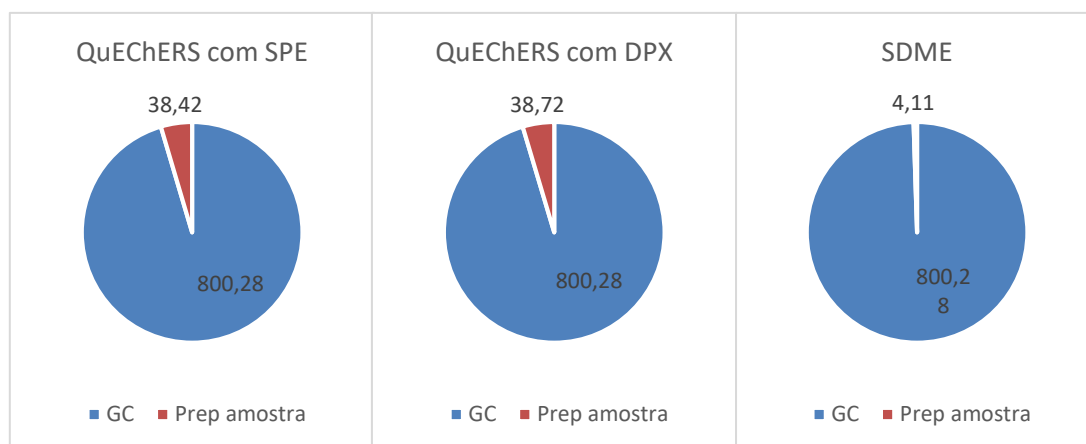


Figura 24 – Peso de cada etapa no valor total de pontos.

Na Figura 25 são apresentados os impactos ambientais para as diferentes categorias de dano, em percentagem, para a etapa de preparação de amostra para os diferentes métodos.

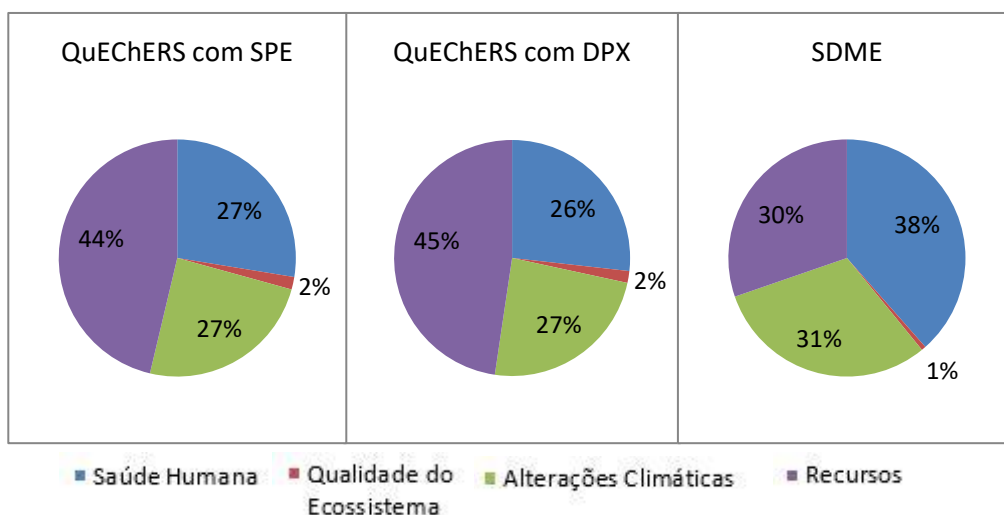


Figura 25 - Impacto ambiental da etapa de preparação dos diferentes métodos nas categorias de dano para as amostras de solos.

Na Figura 26 são apresentados os impactos ambientais para as diferentes categorias de dano para a etapa de preparação de amostra para os diferentes métodos utilizados nos solos.

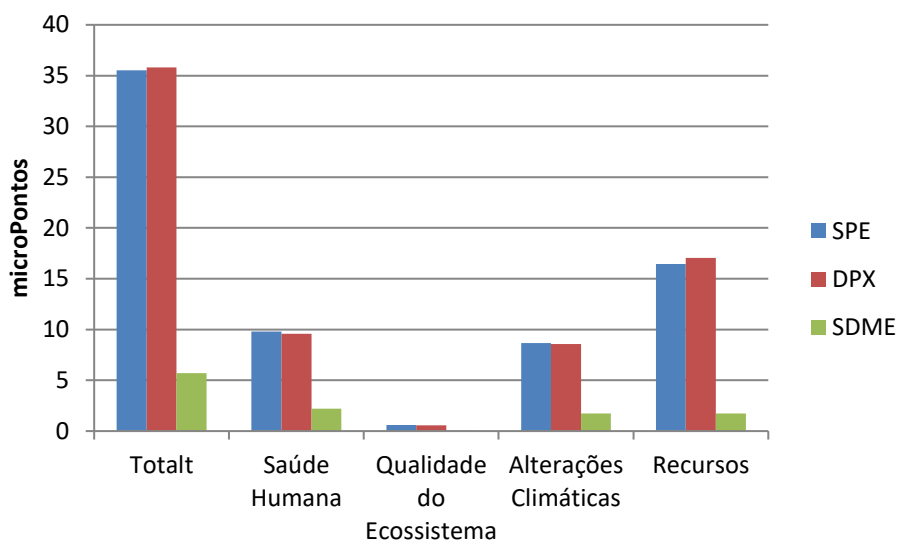


Figura 26 – Impacto ambiental de cada método nas diferentes categorias de dano nos solos.

### 3.3.3. Matriz compotas

Relativamente à determinação de pesticidas organoclorados em compotas, foram realizados os QuEChERS com d-SPE e SDME. Na Figura 27 apresenta-se a pontuação geral de cada um dos métodos estudados.

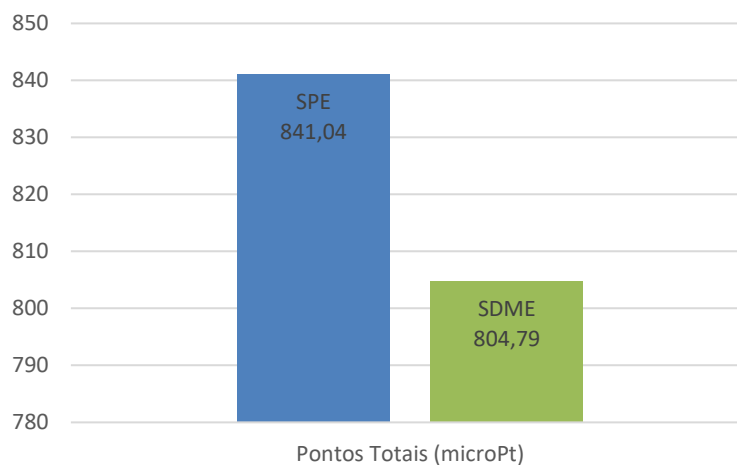


Figura 27 – Impacto ambiental obtido para os métodos utilizados na análise de compotas.

Seguindo a estrutura utilizada nas matrizes anteriores, observam-se os valores de cada etapa no valor global apresentado na Figura 28.

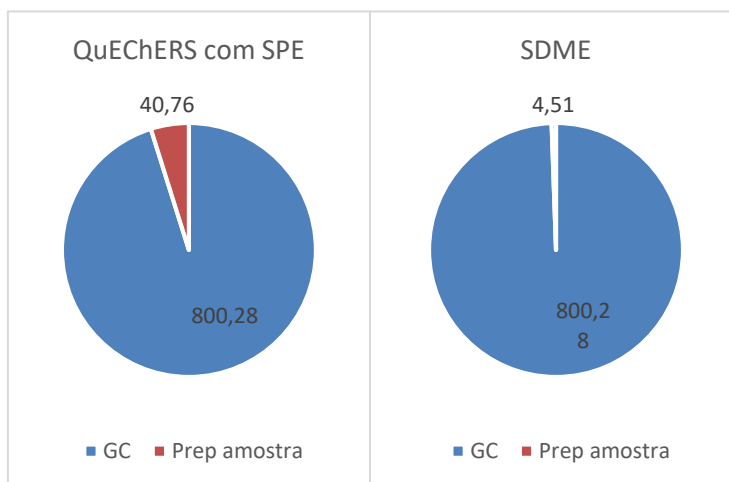


Figura 28 – Cota de cada etapa na análise de compotas.

Avaliando agora em que categorias a preparação das amostras tem maior impacto, a Figura 29 mostra as diferentes percentagens para cada categoria de dano dos dois métodos estudados nas compotas.

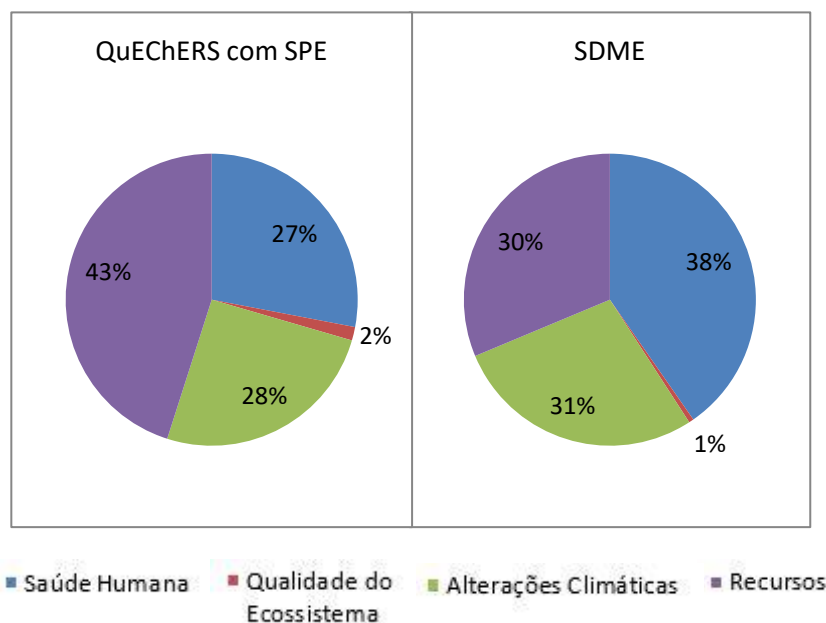


Figura 29 - Impacto das etapas de preparação dos diferentes métodos nas categorias de dano para as compotas.

Para avaliar o impacto ambiental, expresso em pontos, da preparação de amostra em cada método, apresentam-se na Figura 30 os valores correspondentes.

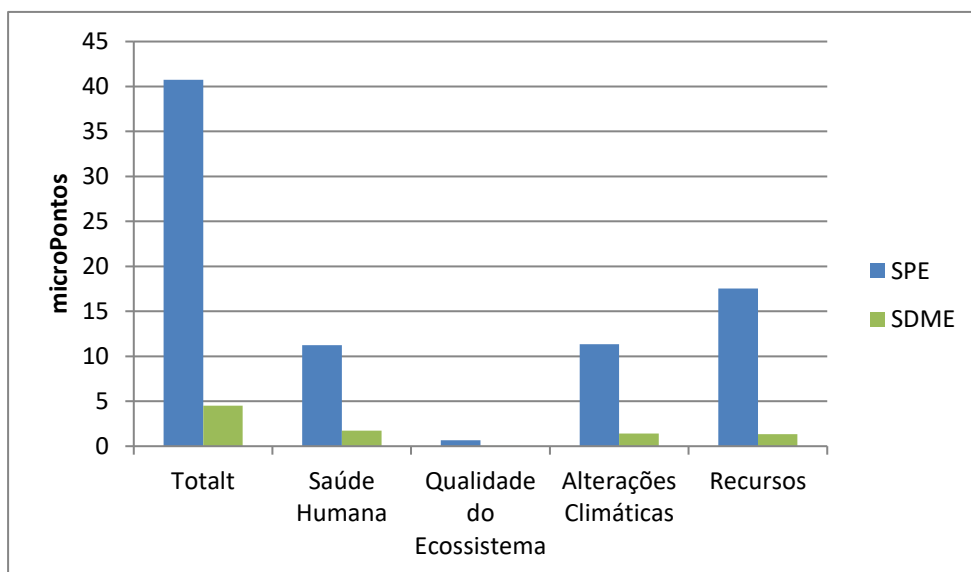


Figura 30 – Impacto ambiental de cada método nas diferentes categorias de dano para a análise de compostos.

### 3.4. Interpretação

Analisando os resultados obtidos, verifica-se que os resultados se apresentam semelhantes entre as 3 metodologias analíticas e mesmo entre as 3 amostras estudadas. As pontuações totais da avaliação do impacto ambiental de todos os métodos analíticos aplicados nas diferentes amostras variaram entre os 804,79 e os 841,04  $\mu$ Pts.

Para a análise cromatográfica, usaram-se sempre os mesmos equipamentos e o mesmo procedimento de análise (Método instrumental), dessa forma, para esta etapa obteve-se sempre a mesma pontuação de impacto na avaliação de ciclo de vida como se pode observar nas Figuras 18, 24 e 28, sendo o valor de 800,28  $\mu$ Pts. Este resultado mostra que a análise cromatográfica representa entre 95 a 99% do valor total dos métodos realizados. Verifica-se que esta etapa tem um peso dominante no estudo ACV relativamente a etapa de preparação de amostras. Analisando as categorias de dano para a análise cromatográfica através da Figura 20, observa-se que a categoria com menor impacto é a qualidade do ecossistema com 6,26  $\mu$ Pts, as restantes três apresentam valores bastante superiores sendo a categoria que avalia as alterações climáticas a que apresenta maior cota de impacto desta etapa (302,41  $\mu$ Pts). Este resultado deve-se à elevada quantidade de energia consumida nesta etapa.

Passando para a etapa de preparação de amostra para a matriz de morangos nos três métodos estudados, o impacto ambiental expresso em pontos foi de 39,04  $\mu$ Pts para os QuEChERS com d-SPE, 39,42  $\mu$ Pts para os QuEChERS com DPX e 4,51  $\mu$ Pts para a SDME como se observa na Figura 18. Verifica-se, comparando com os 800,29  $\mu$ Pts da análise cromatográfica, que as etapas de preparação têm um impacto muito mais baixo. Os QuEChERS com d-SPE e os QuEChERS com DPX apresentam valores muito próximos, devido às semelhanças, tanto de reagentes como dos equipamentos utilizados na preparação. A SDME tem um valor quase 10 vezes inferior principalmente devido à reduzida quantidade e até à ausência de reagentes no método SDME que são utilizados nos outros dois métodos. Pode-se tomar como exemplo comparativo o reagente n-hexano que nos dois primeiros é utilizado um volume de 1050  $\mu$ L em quanto que na extração de gota suspensa utiliza apenas 5  $\mu$ L. A preparação de amostras nos métodos para os morangos, apresentadas nas Figuras 21 e 22 e no Anexo A2 as Tabelas A2.11, A2.12 e A2.13, os QuEChERS com d-SPE e QuEChERS com DPX tem maior impacto nos recursos com percentagens de 44% (17,12  $\mu$ Pts) e 45% (17,74  $\mu$ Pts), principalmente devido aos vários reagentes utilizados para ambos os métodos. A SDME tem maior impacto na saúde humana com 38% (1,73  $\mu$ Pts), visto que o consumo de materiais é bastante reduzido e os impactos essencialmente devidos ao consumo de



energia. No entanto este impacto na saúde apresenta um valor em pontos muito reduzido (1,73  $\mu$ Pts) quando comparado com o valor obtido para esta mesma categoria nos outros métodos analíticos (QuEChERS com d-SPE (10,62  $\mu$ Pts) QuEChERS com DPX (10,43  $\mu$ Pts). Para os três métodos a categoria de dano que menos impacto sofre é a qualidade dos ecossistemas obtendo 2% para os QuEChERS com d-SPE e para QuEChERS com DPX e 1% para a SDME.

Na matriz de solos continuaram a ser utilizados os três métodos em estudo. Para o QuEChERS com d-SPE obteve-se uma pontuação total de 838,70  $\mu$ Pts, para QuEChERS com DPX o valor foi de 839,00  $\mu$ Pts e para a SDME obteve-se 804,79  $\mu$ Pts, como se pode observar na Figura 23. Relembrando que a análise cromatográfica tem 800,28  $\mu$ Pts para todos os métodos em todas as matrizes, verifica-se na Figura 24 as pontuações da preparação de amostra foram respetivamente, 38,42  $\mu$ Pts, 38,72  $\mu$ Pts e 4,11  $\mu$ Pts. Apesar de os valores não serem iguais, verifica-se a tendência também observada na matriz de morangos em que os QuEChERS com d-SPE e QuEChERS com DPX apresentam valores muito semelhantes, justificada pelos procedimentos serem muito parecidos. No caso desta matriz (solos) é adicionada uma etapa de ultrasons que não existe na análise de morangos. No método de SDME o valor obtido com solos é igual ao obtido com morangos visto que o procedimento é exatamente o mesmo, mudando apenas a matriz. Analisando a Figuras 26 e a Tabela A3.14, A3.15 e A3.16 no Anexo A3, constata-se mais uma vez o impacto superior dos métodos QuEChERS com d-SPE e QuEChERS com DPX nas diferentes categorias de dano. Na categoria de saúde humana obtiveram-se 10,43  $\mu$ Pts para QuEChERS com d-SPE, 10,22  $\mu$ Pts para QuEChERS com DPX e 1,73  $\mu$ Pts para SDME. A qualidade dos ecossistemas é a categoria que menos impacto sofre com a aplicação destes métodos, estando os valores a variar entre os 0,03 (SDME) e os 0,70 (QuEChERS com d-SPE)  $\mu$ Pts. Nas alterações climáticas os valores dos primeiros dois métodos são perto de 7 vezes superiores à SDME que tem como valor de impacto 1,41  $\mu$ Pts. Na quarta categoria, os recursos, é onde se observa a maior diferença, os QuEChERS com d-SPE têm 16,96  $\mu$ Pts de impacto ambiental, 17,58  $\mu$ Pts para o QuEChERS com DPX e a SDME obteve 1,34  $\mu$ Pts sendo para os dois primeiros métodos a categoria de dano que apresenta maior valor.

Para os dois métodos estudados na determinação de pesticidas organoclorados em compotas, obteve-se através da análise de ciclo de vida um impacto ambiental de 841,04  $\mu$ Pts para os QuEChERS com d-SPE e 804,79  $\mu$ Pts para a SDME. A etapa de preparação de amostra representa 5% e 0,5% respetivamente, sendo os seus valores de 40,76  $\mu$ Pts e 4,51  $\mu$ Pts, como se observa na Figura 28, querendo isto dizer que no primeiro método tem um impacto muito superior que o segundo.

Nas categorias de dano apresentadas nas Figuras 29 e 30, verifica-se que a categoria que com maior impacto para os QuEChERS com SPE são os recursos, o que vai ao encontro à interpretação retirada para as outras matrizes relativamente ao elevado número de reagentes utilizados. Para a SDME a maior percentagem vai para a saúde humana com 38%, tal como se verifica para as outras matrizes, mas com o valor em pontos muito baixo.

Tendo em conta os resultados, é indiscutível a importância da análise cromatográfica. Em todos os métodos das diferentes matrizes verificou-se que esta era a etapa com maior pontuação na avaliação de ciclo de vida. Para tentar melhorar estes métodos é de fácil perceção que a melhor forma para isso, seria modificar esta etapa para que os seus consumos energéticos baixassem e assim, diminuir o seu impacto global e, por conseguinte, nas diferentes categorias de dano.

Outros estudos teriam de ser realizados para tentar técnicas alternativas de análise, substituindo a análise cromatográfica por outra mais eficiente e com menores consumos de energia.

Outra alternativa, menos drástica comparativamente com a anterior, é tentar substituir alguns dos equipamentos utilizados por outros com menor consumo energético, diminuindo dessa forma o impacto ambiental. Estas duas sugestões pressupõem um elevado investimento financeiro o que faz desencorajar o seu estudo.

Uma forma menos incisiva de explorar esta etapa poderia passar por tentar modificar o método cromatográfico, encurtando o tempo de corrida, desta forma os equipamentos iriam funcionar tempos mais reduzidos e até mesmo avaliar a possibilidade de diminuir as temperaturas que são atingidas durante essas leituras, visto que quanto maior a temperatura, maior a energia consumida.

Outra forma de otimização dos métodos poderia passar por melhorar a etapa da preparação, contudo, tendo em conta o peso que esta tem na pontuação global, qualquer alteração não seria significativa.



#### 4. Conclusão

Esta dissertação de mestrado teve como finalidade avaliar o impacto ambiental de diferentes métodos analíticos utilizados para a determinação de pesticidas organoclorados em alimentos e solos, através de ACV.

Todos os métodos foram divididos em duas etapas principais, a preparação das amostras e a análise cromatográfica. Desta forma identificou-se melhor qual das etapas tinha maior impacto ambiental. Verificou-se que para todos os procedimentos, etapa a análise cromatográfica tinha um impacto muito superior à etapa de preparação de amostra. O impacto global dos métodos expresso em pontos variou entre 804,79 e os 841,04  $\mu$ Pts. Em todos eles, a análise tem um impacto de 800,29  $\mu$ Pts, tendo em conta este valor, facilmente se conclui que a percentagem da análise cromatográfica no valor global varia dos 94% (QuEChERS com d-SPE) aos 99% (SDME), valores muito altos que indicam que a melhor forma de otimização dos métodos passa por melhorar a eficiência desta etapa.

Relativamente à etapa preparação de amostra, conclui-se que para todas as matrizes o método com menor impacto ambiental é a extração de gota suspensa com 4,51  $\mu$ Pts. Este resultado deve-se à diminuta quantidade de reagentes utilizados comparativamente aos outros métodos. Nos QuEChERS com d-SPE e QuEChERS com DPX os procedimentos variam um pouco de acordo com a matriz, fazendo variar o valor de impacto ambiental, apesar dessa variação ser muito reduzida. Para os QuEChERS com d-SPE os valores de impacto foram 39, 42  $\mu$ Pts para morangos, 38,42  $\mu$ Pts para solos e 40,76  $\mu$ Pts nas compotas. Para os QuEChERS com DPX o impacto ambiental da preparação de amostra foi 39,42  $\mu$ Pts na matriz de morangos e 38,42  $\mu$ Pts nos solos. Os valores obtidos variam pouco entre eles pois a diferença no procedimento dos métodos é pequena. Na SDME o valor obtido foi de 4,51  $\mu$ Pts para todas as matrizes porque o seu procedimento nunca variou entre matrizes.

Nas categorias de dano concluiu-se que para todos os métodos a categoria que menos impacto sofre é a qualidade dos ecossistemas. Nas restantes categorias verifica-se a mesma tendência entre matrizes, para os QuEChERS com d-SPE e QuEChERS com DPX a categoria que sofre maior impacto ambiental são os recursos e na SDME é a saúde humana.

Com este trabalho concluímos que, sendo a análise cromatográfica a causa principal do grande impacto no ambiente, é esta etapa aquela que deverá ser aperfeiçoada no sentido de reduzir o grande gasto energético.

## Bibliografia

- [1] California Department of Pesticide Regulation, "What is a pesticide?," *Pestic. Info*, p. 2.
- [2] J. Tano, "Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides," 2011.
- [3] S. Regional and E. Forestry, "Pesticide Development," vol. 10, 2007.
- [4] Robert Zubrin, "The Truth About DDT and Silent Spring," 2012. [Online]. Available: <http://www.thenewatlantis.com/publications/the-truth-about-ddt-and-silent-spring>. [Accessed: 03-May-2017].
- [5] W. Zhang, F. Jiang, and J. Ou, "Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus," *Proc. Int. Acad. Ecol. Environ. Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 125–144, 2011.
- [6] J. Fenik, M. Tankiewicz, and M. Biziuk, "Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 6, pp. 814–826, 2011.
- [7] P. Amaro, "A CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA DOS PESTICIDAS EM 2011 EM PORTUGAL," *Rev. Ciências Agrárias*, vol. 35, no. 9, pp. 100–117, 2012.
- [8] H. F. Nobrega, "Pesticidas: Classificação, Propriedades, Toxicidade, Problemas e Soluções," 2014. [Online]. Available: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:D3DydosZPG0J:www.webartigos.com/artigos/pesticidas-classificacao-propriedades-toxicidade-problemas-e-solucoes/121404/+&cd=1&hl=pt-PT&ct=clnk&gl=pt>. [Accessed: 07-May-2017].
- [9] R. F. de M. Melo, L. T. de L. Brito, V. G. Petreire, F. Angelotti, and A. A. Miguel, *Pesticidas e seus impactos no ambiente*. .
- [10] "Organophosphate Toxicity: Practice Essentials, Background, Pathophysiology," 2017. [Online]. Available: <http://emedicine.medscape.com/article/167726-overview>. [Accessed: 02-Oct-2017].
- [11] T. R. Fukuto, "Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides," *Environ. Health Perspect.*, vol. 87, pp. 245–254, 1990.
- [12] L. Donati and E. Funari, "Review of leaching characteristics of triazines and their degradation products," 1993.
- [13] "PREPARO DE AMOSTRAS," *Sci. Chromatogr.*, vol. 6, no. 3, pp. 175–185, 2014.
- [14] Beyond Pesticides, "SYNTHETIC PYRETHROIDS."
- [15] M. Cunha, "DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM SEDIMENTOS DOS PRINCIPAIS RIOS DO PANTANAL MATO-GROSSENSE POR CG/EM," UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO, 2003.
- [16] "TOXICOLOGICAL PROFILE FOR PYRETHRINS AND PYRETHROIDS," 2003.
- [17] C. Maurice, "ORGANOCHLORINE RESIDUES IN MEAT: WHAT IS THE SITUATION IN CANADA?," *C. News Dec*, pp. 8–12, 2013.
- [18] "ChemSpider | Search and share chemistry." [Online]. Available: <http://www.chemspider.com/>. [Accessed: 17-Sep-2017].
- [19] Secretariat of the Stockholm Convention Clearing House, "The POPs." [Online].

- Available: <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/tabid/673/Default.aspx>. [Accessed: 06-May-2017].
- [20] K. Jaga and C. Dharmani, "Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues.," *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, vol. 16, no. 1, pp. 7–20, 2003.
- [21] "EU Pesticides database - European Commission." [Online]. Available: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>. [Accessed: 13-Aug-2017].
- [22] "REGULATION (EC) NO 396/2005 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL," *Off. J. Eur. Union*, 2005.
- [23] "Maximum Residue Levels - European Commission." [Online]. Available: [https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max\\_residue\\_levels\\_en](https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max_residue_levels_en). [Accessed: 13-Aug-2017].
- [24] "EUR-Lex - 32017R0983 - EN - EUR-Lex." [Online]. Available: [http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1500041943989&uri=CELEX:32017R0983#ntr\\*1-L\\_2017148EN.01002901-E0001](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1500041943989&uri=CELEX:32017R0983#ntr*1-L_2017148EN.01002901-E0001). [Accessed: 23-Sep-2017].
- [25] C. Srinivas Rao, V. Venkateswarlu, T. Surender, M. Eddleston, and N. A. Buckley, "Pesticide poisoning in south India: opportunities for prevention and improved medical management.," *Trop. Med. Int. Health*, vol. 10, no. 6, pp. 581–8, Jun. 2005.
- [26] M. Wong, "Organochlorine Pesticide Toxicity: Practice Essentials, Background, Pathophysiology," 2015. [Online]. Available: <http://emedicine.medscape.com/article/815051-overview#a3>. [Accessed: 22-Aug-2017].
- [27] "Chapter IV. Guidelines for Toxicity Tests IV C 2. Acute Oral Toxicity Tests."
- [28] "DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane)." [Online]. Available: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/carbaryl-dicrotophos/ddt-ext.html>. [Accessed: 22-Aug-2017].
- [29] "EXTOXNET PIP - HEPTACHLOR." [Online]. Available: <http://extoxnet.orst.edu/pips/heptachl.htm>. [Accessed: 22-Aug-2017].
- [30] "EXTOXNET PIP - METHOXYCHLOR." [Online]. Available: <http://extoxnet.orst.edu/pips/methoxyc.htm>. [Accessed: 22-Aug-2017].
- [31] "Aldrin/Dieldrin."
- [32] Atsdr, "TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ENDRIN," 1996.
- [33] S. Ejaz, W. Akram, C. W. Lim, J. J. Lee, and I. Hussain, "Endocrine disrupting pesticides: a leading cause of cancer among rural people in Pakistan.," *Exp. Oncol.*, vol. 26, no. 2, pp. 98–105, Jun. 2004.
- [34] K. Subramaniam and J. Solomon, "Organochlorine pesticides BHC and DDE in human blood in and around Madurai, India," *Indian J. Clin. Biochem.*, vol. 21, no. 2, pp. 169–172, Sep. 2006.
- [35] "Chlorinated Hydrocarbon Compounds (Toxicity) - Toxicology - Veterinary Manual." [Online]. Available: <http://www.msdsvetmanual.com/toxicology/insecticide-and-acaricide-organic-toxicity/chlorinated-hydrocarbon-compounds-toxicity>. [Accessed: 24-Sep-2017].

- [36] R. Jayaraj, P. Megha, and P. Sreedev, "Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment.," *Interdiscip. Toxicol.*, vol. 9, no. 3–4, pp. 90–100, Dec. 2016.
- [37] M. S. Wolff, P. G. Toniolo, E. W. Lee, M. Rivera, and N. Dubin, "Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer.," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 85, no. 8, pp. 648–52, Apr. 1993.
- [38] V. Pardío *et al.*, "Human health risk of dietary intake of organochlorine pesticide residues in bovine meat and tissues from Veracruz, MÃ©xico," *FOOD Chem.*, vol. 135, pp. 1873–1893, 2012.
- [39] I. Jardim, "Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas," 2010.
- [40] E. Thurman and M. Mills, *Solid-Phase extraction*, vol. 53. 2013.
- [41] M. J. Telepchak, T. F. August, and G. Chaney, *Forensic and Clinical Applications of Solid Phase Extraction*. 2004.
- [42] N. Simpson, *Solid-phase extraction - Principles, Techniques and Applications*, vol. 45, no. 10. 1991.
- [43] Sigma-Aldrich, "Guide to Solid Phase Extraction."
- [44] D. W. W. D. E. Raynie, "Understanding and Improving Solid-Phase Extraction," 2014.
- [45] J. Pawliszyn, J. M. Bayona, H. L. Lord, X. C. Le, and L. Mondello, *Comprehensive sampling and sample preparation : analytical techniques for scientists*. Elsevier, 2012.
- [46] S. S.-A. C. Bulletin 923, "Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization o," 1998.
- [47] L. D. Alexandrou, M. J. S. Spencer, P. D. Morrison, B. J. Meehan, and O. A. H. Jones, "Micro versus macro solid phase extraction for monitoring water contaminants: A preliminary study using trihalomethanes," *Sci. Total Environ.*, vol. 512–513, no. August, pp. 210–214, 2015.
- [48] W.-H. Chung, S.-H. Tzing, and W.-H. Ding, "Optimization of dispersive micro solid-phase extraction for the rapid determination of benzophenone-type ultraviolet absorbers in aqueous samples," *J. Chromatogr. A*, pp. 1411–17, 2015.
- [49] T. Khezeli and A. Daneshfar, "Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 89, pp. 99–118, 2017.
- [50] A. King, J. Readman, and J. Zhou, "THE APPLICATION OF SOLID-PHASE MICRO-EXTRACTION (SPME) TO THE ANALYSIS OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs)," 2001.
- [51] A. R. S.A. Barker, C. R. Long, and J. Short, *Chromatogr.* 1989.
- [52] E. M. Kristenson, L. Ramos, and U. a T. Brinkman, "Recent advances in matrix solid-phase dispersion," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 25, no. 2, pp. 96–111, 2006.
- [53] S. A. Barker, "Matrix solid-phase dispersion," *Compr. Sampl. Sample Prep.*, vol. 2, pp. 299–310, 2012.

- [54] C. Ferrer, M. J. Gómez, J. F. García-Reyes, I. Ferrer, E. M. Thurman, and A. R. Fernández-Alba, "Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1069, no. 2, pp. 183–194, 2005.
- [55] CVUA Stuttgart, "QuEChERS," 2011. [Online]. Available: <http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=2&nav2o=1&nav3o=0>. [Accessed: 15-Jun-2017].
- [56] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck, "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and 'dispersive solid-phase extraction' for the determination of pesticide residues in produce.," *J. AOAC Int.*, vol. 86, no. 2, pp. 412–31, 2003.
- [57] J. Kowalski and J. Cochran, "QuEChERS: A Primer." [Online]. Available: <https://www.sepscience.com/Techniques/Sample-Prep/Articles/865-/QuEChERS-A-Primer>. [Accessed: 15-Jun-2017].
- [58] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, and C. Delerue-Matos, "Analysing organochlorine pesticides in strawberry jams using GC-ECD, GC-MS/MS and QuEChERS sample preparation," *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 29, no. 7, pp. 1074–1084, 2012.
- [59] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, and C. Delerue-Matos, "Comparison of disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction in the QuEChERS method for analysis of pesticides in strawberries," *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 52, no. 10, pp. 1–7, 2014.
- [60] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, and C. Delerue-Matos, "Organochlorine pesticide residues in strawberries from integrated pest management and organic farming," *J Agric Food Chem*, vol. 59, no. 14, pp. 7582–7591, 2011.
- [61] L. Correia-Sá, V. C. Fernandes, M. Carvalho, C. Calhau, V. M. F. Domingues, and C. Delerue-Matos, "Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter," *J. Sep. Sci.*, vol. 35, no. 12, pp. 1521–1530, 2012.
- [62] J. Vera *et al.*, "QuEChERS and soil analysis. An Overview.," *Sample Prep.*, vol. 1, 2013.
- [63] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, and C. Delerue-Matos, "Organochlorine pesticide residues in strawberries from integrated pest management and organic farming.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 14, pp. 7582–91, 2011.
- [64] V. C. Fernandes, V. Subramanian, N. Mateus, V. F. Domingues, and C. Delerue-Matos, "The development and optimization of a modified single-drop microextraction method for organochlorine pesticides determination by gas chromatography-tandem mass spectrometry," *Microchim. Acta*, vol. 178, no. 1–2, pp. 195–202, 2012.
- [65] V. C. Fernandes, V. F. Domingues, N. Mateus, and C. Delerue-Matos, "Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction," *J. Sep. Sci.*, vol. 36, no. 2, pp. 376–382, 2013.
- [66] W. Pormsila, D. Jityongchai, and W. Tesphon, "a Modified Quechers Extraction for the Determination of Dexametasone," *Eur. Sci. J.*, vol. 10, no. 33, pp. 1857–



- 7881, 2014.
- [67] Y. Chammui, "Single-drop microextraction for extraction of some phenolic contents leached from bottle water samples," *Int. Food Res. J.*, vol. 23, no. 4, pp. 1609–1613, 2016.
- [68] M. A. Jeannot and F. F. Cantwell, "Solvent Microextraction into a Single Drop," *Anal. Chem.*, vol. 68, no. 13, pp. 2236–2240, Jan. 1996.
- [69] M. Rutkowska, K. Dubalska, P. Konieczka, and J. Namieśnik, "Microextraction techniques used in the procedures for determining organomercury and organotin compounds in environmental samples," *Molecules*, vol. 19, no. 6, pp. 7581–7609, 2014.
- [70] Liu and Lee, "Continuous-flow microextraction exceeding 1000-fold concentration of dilute analytes," *Anal. Chem.*, vol. 72, no. 18, pp. 4462–7, Sep. 2000.
- [71] G. Matsadiq, H.-L. Hu, H.-B. Ren, Y.-W. Zhou, L. Liu, and J. Cheng, "Quantification of multi-residue levels in peach juices, pulps and peels using dispersive liquid-liquid microextraction based on floating organic droplet coupled with gas chromatography-electron capture detection.," *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 879, no. 22, pp. 2113–8, Jul. 2011.
- [72] A. R. Barron, "Principles of Gas Chromatography," pp. 1–12, 2014.
- [73] G. A. Eiceman, "INSTRUMENTATION OF GAS CHROMATOGRAPHY."
- [74] Macherey-Nagel, "Gas Chromatography - Application Guide/Technical Handbook."
- [75] "Quadrupoles and Ion Traps."
- [76] Medicine Complete, "Ions trap." [Online]. Available: [https://www.medicinescomplete.com/mc/clarke/2010/Clkmass\\_spectrometryF007\\_default.png](https://www.medicinescomplete.com/mc/clarke/2010/Clkmass_spectrometryF007_default.png). [Accessed: 02-Oct-2017].
- [77] "DETECTORS Electron Capture Detector -ECD."
- [78] "340 Electron Capture Detector (ECD)," 2001.
- [79] Advanced Industrial Chem, "Characterization of a Non-radioactive Electron Capture Detector Based on the Dielectric Barrier Discharge Plasma."
- [80] D. Harvey, "Electron Capture Detector | Image and Video Exchange Forum," 2013. [Online]. Available: <http://community.asdlib.org/imageandvideoexchangeforum/2013/08/01/electron-capture-detector/>. [Accessed: 09-Aug-2017].
- [81] M. Paz *et al.*, "Application of the QuEChERS method for the determination of organochlorine pesticide residues in Brazilian fruit pulps by GC-ECD," *J. Environ. Sci. Heal. Part B*, vol. 0, no. 0, pp. 1–11, 2016.
- [82] E. Cielik, A. Sadowska-Rociek, J. M. Molina Ruiz, and M. Surma-Zadora, "Evaluation of QuEChERS method for the determination of organochlorine pesticide residues in selected groups of fruits," 2011.
- [83] Z. Sharif, Y. B. C. Man, N. S. A. Hamid, and C. C. Keat, "Determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in fruit and vegetables using solid phase extraction clean-up cartridges," *J. Chromatogr. A*, vol. 1127, no. 1–2, pp. 254–261, Sep. 2006.

- [84] X. C. Wang, B. Shu, S. Li, Z. G. Yang, and B. Qiu, "QuEChERS followed by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet method for organochlorine pesticides analysis in fish," *Talanta*, vol. 162, no. September 2016, pp. 90–97, 2017.
- [85] Y. Farina, M. P. Abdullah, N. Bibi, and W. M. A. W. M. Khalik, "Determination of pesticide residues in leafy vegetables at parts per billion levels by a chemometric study using GC-ECD in Cameron Highlands, Malaysia," *Food Chem.*, vol. 224, pp. 55–61, 2017.
- [86] I. Simon, M. Miclean, O. Cadar, and L. Senila, "Determination of the organochlorine pesticide residues contents in grapes by SBSE-TD-GC-ECD analysis," *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.*, vol. 61, no. 3TOM2, pp. 431–440, 2016.
- [87] N. M. Al-Shamary, M. A. Al-Ghouti, I. Al-Shaikh, S. H. Al-Meer, and T. A. Ahmad, "Evaluation of pesticide residues of organochlorine in vegetables and fruits in Qatar: statistical analysis," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 188, no. 3, p. 198, 2016.
- [88] M. Barriada-Pereira, M. J. González-Castro, S. Muniategui-Lorenzo, P. López-Mahía, D. Prada-Rodríguez, and E. Fernández-Fernández, "Determination of organochlorine pesticides in horticultural samples by microwave assisted extraction followed by GC-ECD," *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, vol. 85, no. 4–5, pp. 325–333, 2005.
- [89] C. Blasco *et al.*, "Assessment of Pesticide Residues in Honey Samples from Portugal and Spain," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 27, pp. 8132–8138, 2003.
- [90] A. Donkor, P. Osei-Fosu, S. Nyarko, R. Kingsford-Adaboh, B. Dubey, and I. Asante, "Validation of QuEChERS method for the determination of 36 pesticide residues in fruits and vegetables from Ghana, using gas chromatography with electron capture and pulsed flame photometric detectors," *J. Environ. Sci. Heal. Part B-Pesticides Food Contam. Agric. Wastes*, vol. 50, no. 8, pp. 560–570, 2015.
- [91] I. Hilber, P. Mäder, R. Schulin, and G. S. Wyss, "Survey of organochlorine pesticides in horticultural soils and there grown Cucurbitaceae," *Chemosphere*, vol. 73, no. 6, pp. 954–961, 2008.
- [92] G. Qin, K. Zou, Y. Li, Y. Chen, F. He, and G. Ding, "Pesticide residue determination in vegetables from western China applying gas chromatography with mass spectrometry," *Biomed. Chromatogr.*, vol. 30, no. 9, pp. 1430–1440, 2016.
- [93] S. Shuling, M. Xiaodong, and L. Chongjiu, "Rapid multiresidue determination method for 100 pesticides in vegetables by one injection using gas chromatography/mass spectrometry with selective ion storage technology," *Anal. Lett.*, vol. 40, no. 1, pp. 183–197, 2007.
- [94] S. Yenisoy-Karakaş, "Validation and uncertainty assessment of rapid extraction and clean-up methods for the determination of 16 organochlorine pesticide residues in vegetables," *Anal. Chim. Acta*, vol. 571, no. 2, pp. 298–307, 2006.
- [95] J. R. Barton, D. Dalley, and V. S. Patel, "LIFE CYCLE ASSESSMENT FOR WASTE MANAGEMENT," 1996.
- [96] B corporation, "B Resource Guide: Conducting a Life Cycle Assessment (LCA),"

2008.

- [97] F. Martins, S. Machado, T. Albergaria, and C. Delerue-Matos, "LCA applied to nano scale zero valent iron synthesis," *Int. J. Life Cycle Assess.*, vol. 22, no. 5, pp. 707–714, 2017.
- [98] N. C. Mendes, C. Bueno, A. R. Ometto, N. C. Mendes, C. Bueno, and A. R. Ometto, "Avaliação de Impacto do Ciclo de Vida: revisão dos principais métodos," *Production*, vol. 26, no. 1, pp. 160–175, Mar. 2016.
- [99] S. Humbert, A. De Schryver, X. Bengoa, M. Margni, and O. Jolliet, "IMPACT 2002+: User Guide," 2012.
- [100] "ESI mass spectrometry—why we use it for oligonucleotide quality control." [Online]. Available: <http://www.idtdna.com/pages/decoded/decoded-articles/handling-oligos/decoded/2017/01/31/esi-mass-spectrometry-why-we-use-it-for-oligonucleotide-quality-control>. [Accessed: 26-Sep-2017].

## Anexos

### Anexo A1

Para calcular a energia gasta por cada equipamento é necessário saber a potência do mesmo e o tempo de utilização. O exemplo de cálculo seguinte mostra a energia consumida pela centrifugadora.

$$P = 240W$$

$$t = 5 \text{ min}$$

$$E = P * t * 60 \Leftrightarrow E = 240 * 5 * 60 \Leftrightarrow E = 18000 J$$

### Anexo A2

Os dados utilizados para os QuEChERS com d-SPE na matriz de morangos encontram-se na Tabela 11.

Tabela A2.11 – Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de morangos.

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	839,32	800,28	39,04
<i>Saúde Humana</i>	μPt	280,92	270,30	10,62
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,97	6,26	0,70
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	313,01	302,41	10,60
<i>Recursos</i>	μPt	238,42	221,31	17,12

Os dados utilizados para os QuEChERS com DPX na matriz de morangos encontram-se na Tabela 12.

Tabela A2.12 - Dados dos QuEChERS com DPX utilizados na matriz de morangos.

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	839,70	800,28	39,42
<i>Saúde Humana</i>	μPt	280,73	270,30	10,43
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,94	6,26	0,68
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	312,98	302,41	10,57
<i>Recursos</i>	μPt	239,05	221,31	17,74

Os dados utilizados para a extração de gota suspensa na matriz de morangos encontram-se na Tabela 13.

Tabela A2.13 - Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de morangos.

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	804,79	800,28	4,51
<i>Saúde Humana</i>	μPt	272,03	270,30	1,73
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,29	6,26	0,03
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	303,82	302,41	1,41
<i>Recursos</i>	μPt	222,64	221,31	1,34

### Anexo A3

Os dados utilizados para os QuEChERS com d-SPE em solos encontram-se na Tabela 14.

Tabela A3.14 - Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de solos

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	838,70	800,28	38,42
<i>Saúde Humana</i>	μPt	280,73	270,30	10,43
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,96	6,26	0,70
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	312,75	302,41	10,34
<i>Recursos</i>	μPt	238,27	221,31	16,96

Os dados utilizados para os QuEChERS com DPX na matriz de solos encontram-se na Tabela 15.

Tabela A3.15 - Dados dos QuEChERS com DPX utilizados na matriz de solos.

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	839,00	800,28	38,72
<i>Saúde Humana</i>	μPt	280,52	270,30	10,22
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,93	6,26	0,67
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	312,66	302,41	10,25
<i>Recursos</i>	μPt	238,89	221,31	17,58

Os dados utilizados para a extração de gota suspensa em solos encontram-se na Tabela 16.

*Tabela A3.16 - Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de solos.*

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	804,79	800,28	4,51
<i>Saúde Humana</i>	μPt	272,03	270,30	1,73
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,29	6,26	0,03
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	303,82	302,41	1,41
<i>Recursos</i>	μPt	222,64	221,31	1,34

#### Anexo A4

Os dados utilizados para os QuEChERS com d-SPE em compotas encontram-se na Tabela 17.

*Tabela A4.17 - Dados dos QuEChERS com d-SPE utilizados na matriz de compotas.*

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	841,04	800,28	40,76
<i>Saúde Humana</i>	μPt	281,53	270,30	11,23
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,92	6,26	0,66
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	313,74	302,41	11,32
<i>Recursos</i>	μPt	238,85	221,31	17,55

Os dados utilizados para a extração de gota suspensa em compotas encontram-se na Tabela 18.

*Tabela A4.18 – Dados da extração de gota suspensa utilizados na matriz de compotas.*

<b>Categoria de danos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Totalt</b>	<b>GC</b>	<b>Prep Amostra</b>
<i>Totalt</i>	μPt	804,79	800,28	4,51
<i>Saúde Humana</i>	μPt	272,03	270,30	1,73
<i>Qualidade do Ecossistema</i>	μPt	6,29	6,26	0,03
<i>Alterações Climáticas</i>	μPt	303,82	302,41	1,41
<i>Recursos</i>	μPt	222,64	221,31	1,34