



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CENTRO DE CIÊNCIAS INTEGRADAS-CCI
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

LEVY RODRIGUES DE SOUSA

**VERIFICAÇÃO DA LINEARIDADE E EFEITO MATRIZ DO HERBICIDA
AMETRINA EM MILHO (*Zea mays L.*) E POSTERIOR APLICAÇÃO EM
AMOSTRAS REAIS UTILIZANDO O MÉTODO *QuEChERS*-CG-EM.**

ARAGUAÍNA-TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S725v Sousa, Levy Rodrigues.

Verificação da Linearidade e Efeito Matriz do Herbicida Ametrina em Milho (*Zea mays* L.) e Posterior Aplicação em Amostras Reais Utilizando o Método QuEChERS-CG-EM.. / Levy Rodrigues Sousa. – Araguaína, TO, 2023.

52 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Química, 2023.

Orientador: Daniel Barbosa Alcântara

1. Defensivos Agrícolas. 2. Agricultura. 3. Alimentos. 4. Preparo de amostras. I. Título

CDD 540

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

LEVY RODRIGUES DE SOUSA

**VERIFICAÇÃO DA LINEARIDADE E EFEITO MATRIZ DO HERBICIDA
AMETRINA EM MILHO (*Zea mays L.*) E POSTERIOR APLICAÇÃO EM
AMOSTRAS REAIS UTILIZANDO O MÉTODO QuEChERS-CG-EM.**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Colegiado do Curso de
Licenciatura em Química da Universidade
Federal do Norte do Tocantins como
requisito para obtenção do grau de
licenciatura em química.**

**Orientador: Prof. Dr. Daniel Barbosa
Alcântara.**

Aprovado em: 14 / 12 / 2023

**BANCA
EXAMINADORA:**

Documento assinado digitalmente
 **DANIEL BARBOSA ALCANTARA**
Data: 21/12/2023 10:07:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Daniel Barbosa Alcântara (Orientador)

(Universidade Federal do Norte do Tocantins)

Documento assinado digitalmente
 **EDENILSON DOS SANTOS NICULAU**
Data: 21/12/2023 17:18:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Edenilson dos Santos Niculau

(Universidade Federal do Norte do Tocantins)

Documento assinado digitalmente
 **MARCOS WILSON VICENTE DE ASSIS**
Data: 22/12/2023 20:07:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Marcos Wilson Vicente de Assis

(Universidade Federal do Norte do Tocantins)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e à Nossa Senhora de Aparecida pelas bênçãos recebidas e por me iluminarem com toda sabedoria e discernimento nesses cinco anos e também por estarem sempre presentes em todos os desafios que enfrentei, me proporcionando saúde, coragem e muita força.

À minha família, em especial à minha mãe Helenaide Rodrigues e a meu pai Francisco Filho (Chiquim) pelo amor, carinho, apoio moral, financeiro e tudo que sempre fazem por mim. Sem sombra de dúvidas foi um dos maiores motivos para eu não desistir nessa jornada acadêmica.

À minha tia Lira pelo apoio de moradia e seus afins que fez total diferença na minha jornada acadêmica.

À minha prima Stefânia Martins pelo apoio e colaboração com os documentos necessários para a realização da matrícula. Aos meus amigos César Ferreira e Reinaldo Pereira que não mediram esforços para me ajudar desde a realização da matrícula até às coletas das amostras na etapa final, em todo meu percurso acadêmico eles estiveram presentes.

A todos os meus colegas que estiveram comigo durante esses anos de graduação, em especial Bianca Gomes Santos e Brenda dos Santos Barbosa que foram essenciais ao longo da minha formação, todos os momentos de estudo foram importantes para que eu chegasse até aqui.

Ao meu colega Luís Felipe Guimarães pela valiosa contribuição nesse trabalho.

A todo o corpo docente e técnicos (Gildeth e Gilberto) do colegiado de química da UFNT pelos valiosos aprendizados que tive nesse campus, em especial ao meu orientador Prof. Dr. Daniel Barbosa Alcântara por me aceitar como orientando e por todo apoio prestado a mim nesse trabalho. Estendo a vocês minha enorme gratidão por toda dedicação e amparo.

À Universidade Federal do Norte do Tocantins pelo espaço, materiais e oportunidade de me permitir adquirir um curso superior e aos colaboradores pelo seu significativo trabalho prestado.

Agradeço a coordenação do LabCrom pela cessão do espaço laboratorial para condução da pesquisa; o Laboratório de Análise de Traços da Universidade Federal do Ceará (LAT-UFC) pela doação dos reagentes do *QuEChERS* e padrão analítico.

“Não fui eu que ordenei a você?
SEJA FORTE E CORAJOSO!
Não se apavore nem desanime,
pois o Senhor, o teu Deus,
estará com você por onde você for”.

JOSUÉ 1:9

RESUMO

Há anos os métodos analíticos para determinação de defensivos agrícolas em alimentos vêm sendo desenvolvidos e validados com rapidez com o intuito de otimizar os métodos tradicionais que por sinal apresentavam morosidade, alto custo e elevado volume de solvente. A complexidade das propriedades dos alimentos dificulta a quantificação de defensivos agrícolas, sendo assim necessário um eficiente preparo de amostra antes de serem analisados no equipamento (Cromatografia a Gás acoplado à Espectrometria de Massas) para que remova o máximo possível de interferentes da amostra. O preparo de amostras utilizando o método *QuEChERS* apresenta versatilidade e robustez pois ele permite suas execuções em diversos laboratórios, sua praticidade e confiança se concretizou, a prova são as centenas de citações em vários trabalhos científicos desde seu desenvolvimento. O resultado fica ainda mais satisfatório quando é aliado a Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). A eficácia desse método de extração e detecção para investigação de defensivos agrícolas em alimentos é importante tanto para o segmento biótico quanto para o abiótico do planeta. Diante disso, esse trabalho averiguou alguns parâmetros analíticos de validação como a linearidade que contou com o coeficiente de correlação próximo a 0,99 para curvas de calibração preparadas em solvente puro e no extrato da própria matriz e efeito matriz em mais de 400% e seguidamente aplicou em amostras reais, no qual não se verificou presença de ametrina e nenhum outro pesticidas nas amostras investigadas. O Limite de Detecção e Limite de Quantificação foram de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ e $100 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para ambas as curvas (no solvente e na matriz do milho). Fica como perspectiva futura o estudo de recuperação pois devido ao curto espaço de tempo e alguns imprevistos durante a condução da pesquisa não foi possível ser verificada. Ao ser realizada uma avaliação qualitativa utilizando o método de varredura (modo Scan) e por comparação dos espectros obtidos com os da biblioteca NIST foi detectado alguns contaminantes orgânicos com similaridade entre os espectros de massas de 32,5% e 23,8% respectivamente para o Dibutyl Phthalate e Oximetazoline.

Palavras-Chave: Defensivos agrícolas, Alimentos, Agricultura e Preparo de amostras.

ABSTRACT

For years, analytical methods for determining agricultural pesticides in food have been rapidly developed and validated to optimize traditional methods, which were characterized by slowness, high cost, and a large volume of solvent. The complexity of food properties complicates the quantification of agricultural pesticides, necessitating efficient sample preparation before analysis to remove as many interferents as possible. The *QuEChERS* method demonstrates versatility and robustness, allowing for its execution in various laboratories. Its practicality and reliability have been evidenced by numerous citations in scientific papers since its development. The results are even more satisfactory when coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The effectiveness of this extraction and detection method for investigating agricultural pesticides in food is important for both the biotic and abiotic segments of the planet. In this context, this study investigated some analytical validation parameters, such as linearity, which exhibited a correlation coefficient close to 0.99 for calibration curves prepared in pure solvent and in the extract of the matrix itself. The matrix effect was over 400%, and the method was subsequently applied to real samples, revealing no presence of ametryn or any other pesticides in the investigated samples. The limits of detection (LODs) and quantification (LOQs) were $30 \mu\text{g L}^{-1}$ and $100 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively, for both curves (in solvent and in the corn matrix). Future perspectives include the study of recovery, as it was not possible to verify it due to the short time frame and unforeseen events during the research. A qualitative evaluation using the scanning method and comparing the obtained spectra with the NIST library revealed the presence of some organic contaminants, with mass spectrum similarities of 32.5% and 23.8% for Dibutyl Phthalate and Oxymetazoline, respectively.

Key words: Crop Protections, Food, Agriculture and Sample Preparation.

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 09 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 11 |
| 2.1 | Pesticidas..... | 11 |
| 2.2 | Importância da cultura do milho..... | 16 |
| 2.3 | Método <i>QuEChERS</i> | 18 |
| 2.4 | Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas..... | 21 |
| 2.4.1 | Aplicações do método para analisar pesticidas em alimentos..... | 22 |
| 2.5 | Validação de métodos analíticos..... | 24 |
| 2.5.1 | Seletividade..... | 25 |
| 2.5.2 | Efeito Matriz..... | 26 |
| 2.5.3 | Linearidade..... | 26 |
| 2.5.4 | Sensibilidade..... | 27 |
| 2.5.5 | Precisão..... | 28 |
| 2.5.6 | Exatidão..... | 29 |
| 3 | OBJETIVOS..... | 30 |
| 3.1 | Objetivo geral..... | 30 |
| 3.2 | Objetivos específicos..... | 30 |
| 4 | PARTE EXPERIMENTAL..... | 31 |
| 4.1 | Preparo da solução estoque para análise em CG-EM..... | 31 |
| 4.2 | Preparo das soluções padrões para obtenção da curva analítica no solvente e na matriz..... | 31 |
| 4.3 | Amostragem..... | 31 |
| 4.4 | Condições Cromatográficas..... | 32 |
| 4.5 | Metodologia de extração e limpeza pelo método <i>QuEChERS</i> | 33 |
| 4.6 | Efeito Matriz..... | 35 |
| 4.7 | Parâmetros de validação do método CG-EM..... | 35 |
| 4.7.1 | Seletividade..... | 36 |
| 4.7.2 | Linearidade..... | 36 |
| 4.7.3 | Exatidão..... | 36 |
| 4.7.4 | Precisão..... | 37 |
| 4.7.5 | Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 38 |
| 5.1 Análises qualitativas dos compostos encontrados nas amostras de milho..... | 42 |
| 6 CONCLUSÕES | 46 |
| REFERÊNCIAS | 47 |

1. INTRODUÇÃO

Agricultura é uma prática econômica que consiste na produção de alimentos que ao decorrer da história da humanidade cultivou terras férteis de vales de rios e otimizou suas técnicas e procedimentos que aprimoraram os solos tornando-os mais produtivos. Com o aumento populacional cada vez mais crescente, surgimento das indústrias e fortalecimento das cidades, a agricultura tornou-se um setor dependente de inovações nos insumos agrícolas, estabelecendo uma interrelação com os demais setores (LIMA; SILVA; IWATA, 2019).

Sendo assim, para garantir alimento e atender a demanda social se faz necessário o uso de defensivos agrícolas que no qual teve início nos Estados Unidos (EUA) na década de 50 com a “Revolução Verde”, esse ponta pé inicial fez uso de larga escala de agroquímicos com o intuito de modernizar e aumentar a produtividade na agricultura. Uma década depois o Brasil inicia com essa prática e desde então o nosso país é um dos que ocupa as primeiras posições dos maiores consumidores de pesticidas do mundo (SILVA; KRAMER, 2023).

No ano de 2021 o Brasil teve o maior número de registro de pesticidas desde a série histórica iniciada em 2000 pelo Ministério da Agricultura, foram 14% a mais que em 2020, totalizando 562 pesticidas liberados sendo 33 inéditos (SALATI, 2022). Apesar dos benefícios e vantagens, há também o lado negativo, pois o uso intensivo e equivocado gera problemas ambientais, agravando-se então no sistema biótico e abiótico do planeta como solo, corpos d'água, ar, animais e humanos, provocando danos irreversíveis (DUTRA; SOUZA, 2022).

No Brasil há três órgãos competentes que regulamentam, fiscalizam e estabelecem limites máximo de resíduos (LMR) a respeito dos agroquímicos que são: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

O milho é um commodities que se destaca em posições privilegiadas entre as produções agropecuárias do Brasil. O cereal além de diversificar a culinária humana contém parcela majoritária nas rações para bovinos, aves e outros animais (EMBRAPA, 2021). A Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (2023) afirma que as exportações do cereal em out/23 alcançaram 8,45 milhões de toneladas, contra 8,76 milhões atingidas no mês anterior, e 6,79 milhões

ocorridas no mesmo período do ano passado. Entre jan-out/23, as exportações somaram 42,4 milhões de toneladas, contra 31 milhões ocorridas no mesmo período do ano anterior, acréscimo de 36,8%. Esse incremento se deu devido a demanda por proteína animal e o avanço do etanol de milho. Até a semana de 11/11 45,8% da área do milho da primeira safra tinha sido semeada, contra 53,9% no mesmo período do ano anterior.

Portanto, com o uso crescente de pesticidas no Brasil e esse grão ter tanta utilidade e importância, o trabalho objetivou averiguar alguns parâmetros de validação utilizando o herbicida ametrina, pois a cultura do milho é uma das autorizadas pela ANVISA para aplicação deste defensivo, e, posteriormente, aplicar em amostras reais obtidas na cidade de Araguaína (estado do Tocantins), utilizando como método de preparo de amostras o *QuEChERS* e a Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) como sistema de detecção e quantificação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pesticidas

De acordo com Peres e Moreira (2003) pesticida corresponde a toda e qualquer substância que é utilizada para controlar, prevenir e/ou destruir pragas, incluindo vetores que prejudicam a saúde ambiental e humana e são capazes de provocar danos nas plantações, processamento, estocagem, transporte e distribuição de alimento, madeira, seus derivados e em produtos agrícolas.

O termo pesticida inclui nematicidas (combate a nematoides), fumigantes (combate às bactérias do solo), avicidas (combate a aves), herbicidas (combate às plantas invasoras), fungicidas (combate a fungos), moluscicidas (combate aos moluscos), acaricidas (combate aos ácaros), algicidas (combate a algas), inseticidas (controle de insetos) além de regularidades de crescimento, desfoliantes (combate às folhas indesejadas) e dissecantes (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

A ANVISA recomenda consumir alimentos da época, ou seja, da safra atual, pois em média costumam adquirir menor carga de pesticidas. A inviabilidade da obtenção de alimentos orgânicos não pode ser pretexto para reduzir o consumo de verduras, frutas e legumes realizado pelo sistema convencional de cultivo (ANVISA, 2020).

O registro de pesticidas no Brasil é realizado de acordo com a Lei nº 7.802/89 e com o Decreto nº 4.074/02. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a Lei 7.802/89 conhecida como “Lei dos Agrotóxicos” dispõe sobre pesquisa, experimentação, produção, embalagem, rotulagem, transporte, armazenamento, comercialização, propaganda comercial, utilização, exportação, importação, destino final das embalagens e resíduos, classificação, controle, inspeção, fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, entre outras providências (MAPA, 2017).

Esse decreto, que regulamenta a respectiva lei, estabelece competências aos órgãos envolvidos no registro, que são eles: Ministério do Meio Ambiente, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), ANVISA, Ministério da Saúde e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA).

Porém, no dia 08 de outubro de 2021 o Diário Oficial da União (DOU) publicou o Decreto nº 10.833/21 que atualiza o decreto de 2002 e atende sobretudo o avanço no conhecimento científico e a necessidade de harmonização com critérios e diretrizes reconhecidos por outros países que são referências quando se tratam desse assunto. Uma das vantagens advindas desse decreto foi a racionalização do trabalho de análise de defensivos agrícolas que continua sendo realizado pelos três órgãos retro citados.

O intuito é evitar o retrabalho entre os órgãos, propondo obrigações em consonância com a competência de cada um proporcionando maior efetividade nos serviços prestados. Outro ponto relevante é o enfrentamento dos problemas relacionados ao prazo para análises de pedidos de registros que atualmente é regulamentado em 120 dias e esse prazo não compatibiliza com a complexibilidade e especificidade inerente ao processo e isso resulta em ações judiciais contra os órgãos responsáveis. A ANVISA destaca alguns prazos médios que são adotados em outros países como:

EUA (2,6 anos), Japão (3,3 anos), União Europeia (4 anos), Chile (2,6 anos) e Argentina (1,7 anos). Outro aspecto importante é a previsão de treinamento obrigatório dos aplicadores de defensivos agrícolas que no qual receberão certificados e serão cadastrados para serem acompanhados em sua atividade profissional. Para a ANVISA essa determinação trará resultados positivos para a proteção da saúde do trabalhador rural, residentes próximos e também para a saúde dos consumidores (ANVISA, 2021).

Além dessas competências a ANVISA avalia e classifica, toxicologicamente, os pesticidas, seus componentes e afins. Os resultados dos estudos e cálculos que classificam os pesticidas para estabelecer sua classificação toxicológica é consistida pelo Índice de Ingestão Diária Aceitável (IDA) de cada ingrediente ativo (IA) (ANVISA, 2020).

Em relação à toxicidade, um resíduo é considerado como tóxico quando substâncias reconhecidamente nocivas estão presentes em seu lixiviado, ou ainda, quando contem em sua composição substâncias em concentrações comprovadas como letal ao homem ou o resíduo apresentar Dose Letal – DL₅₀ para ratos menor que 50 mg.Kg⁻¹ ou Concentração Letal – CL₅₀ de inalação para ratos menor que 2 mg.L⁻¹ ou uma DL₅₀ dérmica para coelhos menor que 200 mg Kg⁻¹. Esses parâmetros representam um princípio ativo que está relacionado

com a morte de 50% da população submetida aos testes, depois da ingestão ou contato com o produto em um intervalo de 24 – 48 horas (FLOHR *et al*, 2005).

A agricultura evolucionária apresenta novas técnicas de equipamentos e aumento do número de pesquisas agronômicas, uma variedade de insumos, como fertilizantes e pesticidas. Também trouxe mudanças nos modos de trabalho, nas cargas e riscos relacionados às novas atividades que mais adiante passaram a cogitar na saúde, principalmente do trabalhador rural. No meio ambiente o uso exorbitante de pesticidas tem ocasionado comprometimentos à contaminação da água, solo e também dos seres vivos, levando à extinção de espécies de menor amplitude ecológica (STOPPELLI; MAGALHÃES, 2005).

A Anvisa publicou no Diário Oficial da União, a reclassificação toxicológica dos pesticidas já registrados no Brasil. Essa medida decorre devido do novo marco regulatório do setor que foi atualizado e os critérios se tornaram mais claros a respeito de avaliação e classificação toxicológica de pesticidas no país (ANVISA, 2022).

A reclassificação foi necessária, pois o Brasil passou a adotar os parâmetros de classificação toxicológica de pesticidas com base nos padrões do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals – GHS). Assim sendo, o Brasil passou a ter regras adequadas com as de países da Ásia, União Europeia, entre outros, fortalecendo a comercialização de produtos nacionais no exterior (ANVISA, 2022). Depois da avaliação da Anvisa, os números da reclassificação toxicológica dos pesticidas ficaram conforme a tabela 1 (ANVISA, 2022).

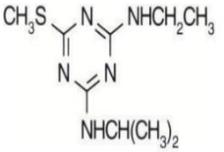
Tabela 1 – Classificação toxicológica dos pesticidas em função da toxicidade aguda oral (DL₅₀).

| Categoria Toxicológica | Toxicidade | DL₅₀ / (mg/Kg p.c.) | Faixa Colorida |
|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| 1 | Extremamente Tóxico | ≤ 5 | Vermelha |
| 2 | Altamente Tóxico | Entre 5 e 50 | Vermelha |
| 3 | Moderadamente Tóxico | Entre 50 e 300 | Amarela |
| 4 | Pouco Tóxico | Entre 300 e 2000 | Azul |
| 5 | Improvável de Causar Dano Agudo | Entre 2000 e 5000 | Azul |
| Não Classificado | Produto Não Classificado | > 5000 | Verde |

Fonte: ANVISA (2022), modificado pelo autor.

Este trabalho tem como foco a investigação do pesticida ametrina, considerando suas propriedades físico-químicas, grupo químico relacionado, classificação toxicológica, a praga alvo que combate e o Índice de Ingestão Diária Aceitável (IDA). Esses dados estão resumidos nas Tabelas 2 e 3, sendo a Tabela 3 dedicada às propriedades físico-químicas e ao organismo-alvo e a Tabela 2 fornecendo outras informações a respeito deste insumo agrícola.

Tabela 2 – Informações a respeito do pesticida ametrina.

| NOME COMUM | FÓRMULA BRUTA | FÓRMULA ESTRUTURAL | GRUPO QUÍMICO | CLASSE | CULTURA | LMR (mg/kg) | IDA (mg/kg c.p) | CLASSIFICAÇÃO TOXICOLÓGICA | APLICAÇÃO |
|--------------------|---|---|---------------|-----------|---------|-------------|-----------------|----------------------------|--|
| Ametrina (Ametryn) | C ₉ H ₁₇ N ₅ S |  | Triazina | Herbicida | Milho | 0,04 | 0,072 | III | Pré e pós emergência e é baseado na inibição fotossintética das plantas invasoras. |

Fonte: PPBD, 2023.

Tabela 3- Propriedades físico-químicas do herbicida em estudo e grupo químico.

| PONTO DE FUSÃO °C | PONTO DE EBULIÇÃO °C | DENSIDADE (g ml ⁻¹) | MASSA MOLECULAR | ORGANISMO-ALVO |
|-------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------|----------------|
| 87,7 | 337 | 1,18 | 227,12 | Erva Daninhas |

Fonte: PPDB, 2023.

2.2 Importância da cultura do milho

O milho é uma gramínea e pertence à espécie (*Zea mays L.*) e à família Poaceae; esta cultura é mundialmente consumida e é uma das mais produzida em nosso planeta. Há registros do cultivo do milho datados de mais de 5.000 anos a.C., esses registros foram encontrados na região litoral do México. A cultura do milho serviu por anos os povos da região, principalmente grupos importantes como os Maias e Astecas e até outros grupos indígenas de toda a América (INOUE, 2021).

Segundo O Globo (2023) sua expansão para as demais partes do mundo ocorreu no período de colonização do continente americano com as conhecidas “grandes navegações” feitas entre o século XV e XVII. Foi com a chegada de Cristóvão Colombo que o milho seguiu em direção à Europa e lá teve papel importante, tanto pela alimentação das populações mais humildes quanto para ração animal. Há relatos de que o milho chegou ao Brasil bem antes do “descobrimento” porque o cereal já fazia parte dos povos indígenas, principalmente dos guaranis. Os portugueses chegaram com outras formas de consumo e os produtos à base de milho passou a fazer parte de seu sustento.

Nos dias de hoje existem centenas de espécies de milho com os mais variados formatos de grãos e texturas. Ele também é conhecido por outros nomes como: elote, jojoto, maíz, choclo e corn e pode alcançar em média 2,5 metros de altura (GLOBO RURAL, 2022). A República Federativa do Brasil ocupa a terceira posição de maior produtor mundial, ultrapassado apenas pelos Estados Unidos e China.

No Brasil o cereal representa um importante commodities agrícola e é cultivado em várias regiões da Federação e em diferentes sistemas de produção. Dependendo da região sua produção ocorre em uma ou duas épocas do ano ou safras agrícolas, que são: a 1ª safra ou safra de verão que é realizado em todos os estados na época tradicional durante o período chuvoso, na região sul inicia-se no final de agosto e vai até os meses de outubro/novembro; e a 2ª safra, ou “safrinha” que ocorre principalmente entre janeiro e maio, indo até meados de abril de acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2012).

É importante levar em consideração as condições climáticas e características do solo durante as épocas de plantio, pois elas são significantes na sua

produção. A radiação solar, a umidade do solo, precipitação pluviométrica, variações de temperaturas determinam o alcance de ótimos níveis para que a capacidade genética do milho se expresse o máximo. Os estados que mais se destacam como maiores produtores são: Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e Paraná. A produção desse cereal está cada vez mais aumentando devido sua alta demanda nacional e internacional, pois tem múltiplas utilidades como alimentação humana, ração animal e adicionalmente para produção de etanol (EMBRAPA, 2012).

O Tocantins se destaca como uma fronteira agrícola com expansão significativa em área plantada e produção de grãos. A produção do milho tem se destacado nos últimos anos, a estimativa é de 2,26 milhões de toneladas na safra de 2022/23, 15% a mais em comparação à safra 2021/22 e o estado vem ganhando êxito cada vez mais na cultura, sobretudo na segunda safra (safrinha), a área semeada esse ano alcançou 400 mil hectares, 14% a mais que o ano anterior segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2023; Tocantins. Secretaria da Comunicação, 2023). Sua ascensão no ramo se deve a escolha correta da época de plantio e das cultivares (espécies de plantas melhoradas geneticamente) utilizadas em cada região (EMBRAPA, 2016).

As vendas internacionais de milho em janeiro deste ano atingiram o recorde de 6,17 milhões de toneladas, um volume 126% maior que no mesmo período do ano anterior, quando o país exportou 2,73 milhões do cereal (CONAB, 2023). A CONAB afirma que a demanda teve como principal origem os importadores da China, que abriram seus mercados para o cereal no final de 2022, foram negociados aproximadamente 1,16 milhão de toneladas, seu maior embarque foi em dezembro. Segundo a CONAB (2023) esse desempenho também aconteceu em virtude da boa safra de inverno no país, que disponibilizou seu embarque.

Por ser uma das maiores produções mundiais e a busca por alcançar a demanda populacional, o sistema de produção de milho requer o uso de pesticidas que, sem o conhecimento prévio do seu descarte no ambiente, pode trazer riscos sérios de contaminação em águas superficiais e subterrâneas, comprometendo assim, a qualidade da água para a geração atual e futura. Nesse contexto, o pesticida investigado no presente trabalho é o AMETRINA, recomendado pela ANVISA para aplicação em plantas infestantes na cultura do milho e que segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, 2011) a

quantidade indicada para impedir a proliferação de algumas plantas infestantes no milho é de 3 a 4 L/ha.

2.3 Método *QuEChERS*

Há décadas o aprimoramento de métodos analíticos tendo em vista a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos vem crescendo. Métodos apresentados por outros autores no século XX eram característicos por ser necessário utilizar alto volume de solventes, alto custo econômico e demora em suas diversas etapas. Com o intuito de substituir esses tradicionais métodos, Anastassiades *et al.* em 2003 apresentou um procedimento que revolucionou o modo de preparo de amostra para então extrair pesticidas em alimentos (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

O método é conhecido como *QuEChERS* (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) que quer dizer: rápido, fácil, econômico, eficaz, robusto, seguro. O objetivo é atender as demandas estabelecidas por leis internacionais de LMR (Limites Máximos de Resíduos) e foi idealizado para ser analisado por Cromatografia Líquida e/ou a Gás acopladas à Espectrometria de Massas em Série (CG-MS/MS e CL-MS/MS) (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

O método é constituído por três etapas, que são elas: extração, partição e limpeza. Onde a extração é feita com acetonitrila (ACN), logo depois vem a etapa de partição que é adicionado sais (ex.: sulfato de magnésio $MgSO_4$ e sulfato de sódio $NaSO_4$), um novo método de limpeza chamado de *Extração em Fase Sólida Dispersiva* (*Dispersive Solid Phase Extraction, D-SPE*) foi proposto junto com o método *QuEChERS*.

A ACN usada na primeira etapa como solvente possibilita a extração de menor quantidade de coextrativos lipofílicos provenientes da amostra como pigmentos, ceras e gorduras, ela também favorece a extração de grande faixa de pesticidas com diferentes polaridades e quando adiciona ácido, permite recuperações convincentes de pesticidas com problemas de estabilidade; ela pode ser utilizada sem problema algum na análise por CG-MS/MS e é mais adequada a CL-MS/MS do que acetona e acetato de etila (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

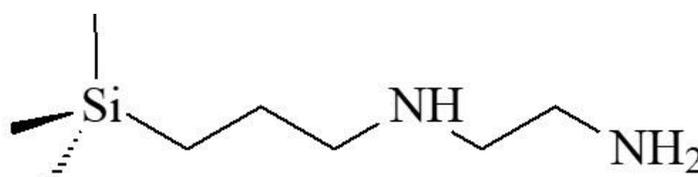
A etapa de partição é feita adicionando sais para promover o efeito *salting out* e dependendo da natureza do solvente que é de extrema importância, obtém-

se favoráveis percentuais de recuperação de analitos polares e diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa do próprio alimento, bem como a quantidade de água deste. A aplicação de sais secantes como cloreto de sódio (NaCl), tem o propósito de melhorar a recuperação de pesticidas polares.

O $MgSO_4$ (anidro) foi escolhido para compor o método *QuEChERS* pela sua capacidade de remover água quando comparado a outros sais, além de reduzir o volume de fase aquosa, sua hidratação gera uma reação exotérmica, podendo chegar a temperaturas de 40 e 45 °C na amostra durante as etapas extração/partição, favorecendo então a extração principalmente de compostos apolares. Na extração com ACN, é bastante útil a adição de sais pois apresenta baixo custo, facilidade e rapidez além da vantagem de não diluir o extrato da amostra e proporcionar a separação de fases orgânicas e aquosa (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

De acordo com os mesmos autores uma das etapas constituintes do *QuEChERS* é a D-SPE, que possibilita que a limpeza e a redução de água residual, conhecida como *clean up*, sejam efetuadas de uma maneira simultânea e rápida, favorecendo assim a precipitação de coextrativos polares. O sorvente PSA (*primary, secondary amine*) retém as interferências da matriz e depois da agitação manual e centrifugação, o extrato estará pronto para ser injetado no sistema cromatográfico. PSA possui uma estrutura bidentada e um elevado efeito quelante, por conta dos grupos amino primário secundário. Portanto, a retenção de ácidos graxos livres e outros compostos polares presentes na matriz é muito intenso. Segue adiante, a figura 01:

Figura 01: Estrutura do PSA (N-propiletlenodiaminossilano):



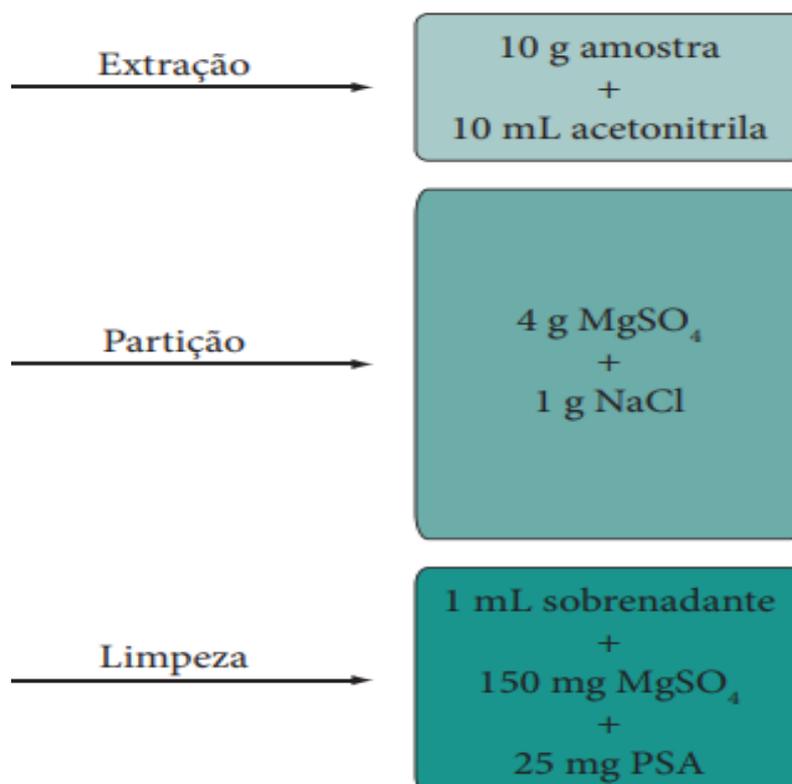
Fonte: Autor, 2023.

A etapa de limpeza garante uma maior vida útil para insertores e para coluna cromatográfica, diminui a contaminação do sistema cromatográfico,

minimiza o efeito matriz além de promover confiabilidade e robustez aos resultados obtidos. Se os componentes não voláteis da matriz ficarem aderidos no sistema de injeção e na coluna cromatográfica, as respostas do sistema podem alterar e a manutenção técnica do equipamento ficar mais frequente (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

Sendo assim, pode-se observar o método original apresentado por Anastassiades *et al.* (2003), de acordo com a (figura 02) a seguir:

Figura 02: Método *QuEChERS* original.



Fonte: PRESTES; ADAIME; ZANELLA, (2011).

Durante o desenvolvimento da primeira versão do método *QuEChERS*, somente 25 pesticidas foram avaliados comumente por CG-MS/MS. Apesar da versão original ter obtido resultados satisfatórios para amostras de diferentes tipos, algumas aplicações mostraram que determinados compostos indicaram problemas de estabilidade e/ou recuperação de com acordo com o pH da matriz (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

As frutas e os vegetais são identificados com pH natural que varia entre 2,5 e 6,5. Contudo, o ajuste do pH também está relacionado com a presença de coextrativos na fase orgânica, uma vez que se analisa uma maior presença de ácidos graxos e gorduras quando a extração é efetuada em meio ácido. O pH é essencial tanto nos compostos sensíveis à degradação em meio alcalino, quanto para compostos sensíveis em meio ácido.

Assim sendo, é recomendado uma faixa de pH entre 4 e 5 para que seja proporcionada boas recuperações (70 - 120%) para pesticidas sensíveis em meio ácido e também garantir a estabilidade para aqueles que se encontram em meio alcalino. O acetato de sódio e o ácido acético estão contidos naturalmente em vários vegetais e frutas, a utilização deste tampão evita que eventuais reagentes sejam usados e interferências não favoráveis venham a ocorrer.

O tamponamento dos extratos com pH 4-5 com ácido acético (pKa= 4,75) e acetato de sódio (NaAc) tem sido adotado (Prestes *et al*, 2009), também, Anastassiades *et al.* (2003) recomendaram o método *QuEChERS* citrato, este emprega uma mistura de citrato de sódio dihidratado e hidrogenocitrato sesquihidratado como consequentes pelo efeito tamponante (pH 5,0 – 5,5). Esse método foi oficializado como referência na União Europeia. Outra modificação muito importante foi a adição de C₁₈, juntamente com amina primária secundária (PSA) na etapa de limpeza (D-SPE) para viabilizar uma limpeza mais efetiva de determinadas matrizes, principalmente as que contêm gorduras em sua composição.

A combinação do método *QuEChERS* com limpeza à baixa temperatura, com o intuito de reduzir os coextrativos lipídicos, também foi empregado. Mas, a adição de C₁₈ na etapa de D-SPE se destaca por ser mais fácil e rápida, além de promover uma remoção igualmente dos lipídios (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011).

2.4 Cromatografia a Gás acoplada à espectrometria de massas

A cromatografia nada mais é que um método físico-químico de análise amplamente aplicado tanto na separação de compostos químicos quanto na identificação e quantificação das espécies separadas. Ou seja, se faz análise qualitativa e quantitativa. A palavra cromatografia é oriunda das seguintes palavras gregas: *chroma* (cor) e *grafein* (escrita). É uma técnica analítica de

separação que quando se une a técnicas hifenadas (termo que se refere a acoplamento de duas ou mais técnicas analíticas com o intuito de otimizar técnicas convencionais) torna-se importante na investigação de compostos químicos (Nascimento *et al*, 2018). Os componentes que são utilizados na separação são distribuídos em duas fases denominadas: fase estacionária e fase móvel que tem destino definido (MOTA, 2022).

Sendo uma das primeiras técnicas a ser acopladas a Cromatografia a Gás, a Espectrometria de Massas (CG-EM) ainda hoje é a mais empregada nas análises. Esta técnica é parcialmente simples, em virtude que as propriedades de funcionamento do cromatógrafo a gás têm capacidades compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas. Atualmente, cerca de toda cromatografia a gás é a base de colunas capilares, com fase estacionária associada quimicamente às paredes da coluna para que não haja perdas. Colunas estas podem ser diretamente unidas à maior parte das fontes de íons por meio de um anel de compressão (AMORIM, 2019).

2.4.1 Aplicações do método para analisar pesticidas em alimentos

Um trabalho realizado por Facco (2017) utilizando o método *QuEChERS* modificado, aplicando como etapa de limpeza o congelamento e o sorvente EMR-Lipid no milho, avaliou 45 defensivos agrícolas em níveis de concentração distintos e obteve percentuais de recuperação de 69,1 a 120,4% e RSD \leq 20,6%. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método foram de 3 a 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e de 10 a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. Foram aplicados em grãos de milho inteiros e quebrados, farinha de milho e uma de pipoca com intuito de aferir seu desempenho. Dentre as amostras analisadas, somente uma apresentou carbendazim e fipronil em concentração inferior ao LQ do método estabelecido. Segundo o autor o método proposto se mostrou eficiente para a determinação de resíduos dos agrotóxicos em amostras de milho podendo ser aplicado em análises de rotina.

Uczay (2019) empregou o método *QuEChERS* para a determinação de avermectinas: abamectina, benzoato de emamectina, eprinomectina, ivermectina e doramectina em amostras de soja, feijão e milho. Na etapa de limpeza foram avaliados cinco diferentes sorventes: C₁₈+SPA, Florisil, Sílica, Supel, QuE Z-Sep+ e EMR-Lipid, em sua forma ativada e não ativada. Com a

etapa de limpeza utilizando EMR-Lipid, foram obtidos os limites de detecção de 1,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para abamectina, doramectina, benzoato de emamectina e ivermectina, e de 2,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para eprinomectina. Exatidão e precisão avaliados nos níveis 4, 8, 20, 40 e 80 $\mu\text{g kg}^{-1}$ expuseram resultados satisfatórios.

Os resultados aplicados na soja referente ao EMR-Lipid ativado e Florisil, os cinco compostos exibiram recuperações entre 70-120% para a maioria, com RSD <20%. A aplicação de C18+PSA apresentaram recuperações mais baixas, 69% para abamectina, 63% ivermectina e 64% para doramectina. Para Z-Sep+ foram satisfatórios os resultados, excetuando a eprinomectina que a recuperação foi em média 67%. No caso da sílica as recuperações foram acima de 70% para todos os compostos.

Para o feijão, os sorventes C18+PSA, EMR-Lipid, Sílica e Florisil atingiram algumas recuperações médias inferiores a 70% e acima de 120%. O C18+PSA teve 64% de recuperação na emamectina, O EMR-Lipid alcançou todas as recuperações superior a 70% com a ivermectina e a doramectina acima de 120%, sendo 122 e 123%, respectivamente. A Sílica atingiu 131% para a ivermectina e o Florisil 66% para a emamectina e RSD superior a 30% para a eprinomectina. O Z-Sep+ foi o único sorvente que alcançou recuperações entre 70-120%.

Todos os cinco sorventes analisados alcançou recuperações significativas para o milho. O desvio padrão foi convincente para todos os analitos, exceto para eprinomectina, ao aplicar C18+PSA onde foi adquirido um desvio maior que 20%. Quanto ao analito emamectina, a utilização do Florisil e C18+PSA reproduziram as menores recuperações, sendo respectivamente 79 e 73%. Para a abamectina, o C-Sep+ atingiu a menor recuperação (86%).

Outro trabalho executado por Castricini *et al* (2021) decidiram determinar resíduos de bifentrina em banana também empregando o método *QuEChERS* e conseguiram porcentagens de recuperação 88,16%, 103,4% e 89,32% na casca, na polpa e em casca + polpa, respectivamente. As soluções padrão estoque de bifentrina (92,2% m/m) – FMC do Brasil, foram preparadas em acetonitrila na concentração de 500 mg L^{-1} e armazenadas a 4 °C. A partir das soluções estoque, foi preparada a solução de trabalho contendo o piretroide na concentração de 50 mg L^{-1} . A etapa de fortificação nada mais é que a adição de uma concentração conhecida de bifentrina à amostra, para posteriormente

recuperar o analito e para essa etapa foram usadas bananas oriundas de cultivo sem pesticidas e sem ensacamento dos cachos. As amostras divididas em casca, polpa e casca + polpa foram fortificadas com bifentrina na concentração de 5 mg L⁻¹ e colocadas em repouso por um tempo de 3 horas para propiciar a interação da bifentrina com a matriz e a evaporação do solvente.

Outra análise feita por Amaral (2023) desenvolveu e validou um método analítico para a determinação multirresíduo de pesticidas em amostras comerciais de batata aplicando o método *QuEChERS*. Neste trabalho o autor empregou para a limpeza a técnica de extração de fase sólida dispersiva (d-SPE) usando como sorvente o C18. Foi validado o método para 82 compostos e os resultados corroboraram que o método teve resposta linear no intervalo de 0,5 a 20 µg kg⁻¹. A precisão e exatidão foram examinadas nos níveis de fortificação 10, 25 e 50 micro gramas kg⁻¹. (n=7), em ensaios de repetitividade e de precisão intermediária, exibindo recuperações entre 70-120%, com RSD ≤ 20% para a maior parte dos pesticidas e níveis. O limite de quantificação foi de 10 µg kg⁻¹ para a maioria dos defensivos agrícolas.

2.5 Validação de métodos analíticos

A avaliação metodológica analítica também conhecida como validação é um fator primordial para garantir a confiabilidade e qualidade das medições químicas de um determinado método analítico. Isso acontece devido a necessidade de uniformizar parâmetros aplicados com o objetivo de expressar que um método de ensaio, segundo suas circunstâncias em que é submetido, tenha peculiaridades necessárias para certificar a obtenção de resultados com a qualidade imposta (MENDES, 2004).

Um certo método é posto como validado se seus atributos estiverem concordando com os pré-requisitos propostos por órgãos reguladores. A finalidade da validação se propõe em expressar que o método é apropriado ao seu propósito. A validação deve ser contemplada quando executa adaptações em métodos já validados ou desenvolvidos, uso de diferentes equipamentos ou inclusão de técnicas (BRITO *et al*, 2003).

Segundo o guia para cumprimento da resolução – RDC nº 166 de 24 de julho de 2017 da Anvisa publicada no Diário Oficial da União, a validação analítica tem o intuito de fornecer evidências documentais de que o método

desenvolvido ou adaptado é adequado para o uso pretendido. Contudo, é preciso testar alguns parâmetros do método analítico, conforme estabelecido na RESOLUÇÃO (ANVISA, 2017).

Para o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade (INMETRO) é essencial que os laboratórios se permitam de critérios, objetivos e meios para constatar, através da validação, que os métodos de ensaio que aplicam encaminhem a resultados adequados e confiáveis à qualidade pretendida (INMETRO, 2020). No Brasil existem agências credenciadas para aferir a competência dos laboratórios de ensaio e concedem manuais e guias para o mecanismo de validação que são: ANVISA e o INMETRO.

Os parâmetros de desempenho devem estar devidamente descritos no procedimento e relatório de validação e tem de incluir quando aplicável: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) (INMETRO, 2020).

2.5.1 Seletividade

A seletividade de uma técnica instrumental de separação é a competência de identificar, de maneira inequívoca, o analito em exame na existência de componentes que são capazes de interferir com a sua determinação em uma amostra complexa (RIBANI *et al*, 2004).

Se uma determinada técnica realiza dados para vários compostos, porém difere a resposta do analito da de outras, é denominado seletividade (INMETRO, 2003). A seletividade assegura que o pico de resposta seja exclusivamente do analito de interesse, pois se a seletividade não for garantida, todos os demais parâmetros de desempenho analítico estarão seriamente comprometidos (ALCÂNTARA, 2018).

As estratégias usadas para expressar a seletividade vão depender da finalidade desejada da análise. Geralmente, a verificação da seletividade do modo analítico tem de ser realizada a partir da comparação entre os sinais (resposta instrumental) oriundos da leitura da amostra processada e do analito de interesse, em solução orgânica ou aquosa (MAPA, 2011).

2.5.2 Efeito matriz

Aplicavelmente, o efeito matriz é um estudo de seletividade que se dedica analisar possíveis interferências causadas pelas substâncias que constituem a matriz amostral produzindo, basicamente, fenômenos de diminuição ou ampliação do sinal instrumental (MAPA, 2011), visto que a existência de compostos não monitorados e que coeluem da matriz podem afetar a detecção dos analitos (CASSIANO *et al*, 2009).

O meio adotado para análise do efeito matriz depende da disponibilidade do analito, da matriz sem o analito e de amostras de referência nas concentrações de interesse (INMETRO, 2020). Para Pinho (2009) é essencial quantificar exatamente resíduos de defensivos agrícolas em amostras, sendo preciso o desenvolvimento de técnicas para contornar o problema da alta recuperação de determinados pesticidas, porém, nenhum deles pode ser considerado universal, embora haja várias técnicas na literatura. Sendo assim, não é possível eliminar por completo o efeito de matriz na quantificação de qualquer pesticida nos diversos tipos de matrizes.

2.5.3 Linearidade

A linearidade pode ser descrita como a capacidade que a técnica tem de oferecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em questão, dentro de um intervalo especificado (MAPA, 2011). Essa resposta analítica é correlacionada ao método determinado, podendo ser absorvância, área do pico, volume utilizado de agente titulante, entre outros (ANVISA, 2017). É importante ressaltar que, se uma estabelecida resposta não varia de acordo a concentração do analito, ela não é conveniente.

Esse critério é considerado por meio de uma relação matemática entre o sinal e a concentração do composto químico em análise. Essa relação é manifestada como uma equação de reta denominada curva de calibração/analítica, adquirida a partir de sinais medidos para distintas concentrações já conhecida da espécie química (BRITO *et al*, 2003).

A qualidade da linearidade e de uma curva analítica é examinada a partir da inspeção visual do gráfico da reta de calibração e do gráfico de resíduos produzidos pela regressão linear. Os pontos experimentais deverão estar

aproximados e aleatoriamente distribuídos ao redor da reta ajustada (Mapa, 2011).

De acordo com o Conselho Regional de Química (CRQ) – IV REGIÃO (2016) a linearidade é adquirida por meio da padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser definido na amostra real. Segue adiante a equação da reta que relaciona as duas incógnitas: $y = a + bx$.

Sendo:

y = resposta medida (absorbância, área do pico, volume utilizado de agente titulante);

x = concentração;

a = interseção com o eixo y (coeficiente linear);

b = inclinação da curva analítica (coeficiente angular);

Normalmente, são precisos vários níveis de concentração, no mínimo cinco pontos para então construir a curva de calibração. A quantidade de replicatas em cada nível de concentração tem de ser o mais próximo possível daquele empregado cotidianamente no laboratório.

2.5.4 Sensibilidade

A sensibilidade de um método é designada pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), pois é necessário ter conhecimento do menor valor de concentração do analito que pode ser detectado e quantificado (Ribeiro *et al*, 2008). Para Brito *et al* (2003) é a capacidade que a técnica tem de diferenciar, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas, estando, portanto, relacionada ao coeficiente angular do gráfico analítico, esse critério demonstra que o procedimento analítico é capaz de produzir variação no valor da propriedade em monitoramento, ocasionada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito.

Segundo Barros (2002) Limite de Detecção (LD) é a menor concentração do analito em uma análise, que pode ser detectada, porém, não precisamente quantificada, submetidas a certas condições experimentais. Enquanto Limite de Quantificação (LQ) da técnica analítica é a menor concentração que pode ser

quantificada com precisão e exatidão admissível, sob determinadas condições experimentais.

Em geral, são efetuadas sucessivas diluições até se encontrar a menor concentração ou menor valor de propriedade que pode ser distinto do branco e essa abordagem só deve ser empregada em procedimentos analíticos que apresentem ruído de linha de base. A relação sinal-ruído é designada pela comparação dos sinais medidos de amostras com baixas concentrações conhecidas do analito e dos ruídos dos brancos de amostras, determinando-se a concentração mínima em que o composto de interesse pode ser detectado com confiança. Uma relação sinal-ruído de 2:1 ou até mesmo 3:1 é tolerável para a estimativa do LD. Portanto, é fundamental salientar que a região do ruído do branco tem de ser a mesma do sinal medido (INMETRO, 2020).

Para o CRQ (2016) o LQ para um método analítico pode variar de acordo com o tipo da amostra, mas normalmente corresponde em uma relação sinal/ruído de 10:1.

Segundo Brito *et al* (2003) em técnicas sensíveis, como é o caso dos cromatógrafos acoplado à espectrometria de massas, o composto de interesse passa por várias etapas desde que é injetado até chegar ao detector, uma breve diferença na concentração do analito ocasiona grandes variações no valor da resposta analítica medida, podendo gerar elevados valores de desvio padrão.

2.5.5 Precisão

A precisão de um método analítico é o grau de concordância em decorrência de medidas independentes em torno de um valor central, executadas diversas vezes em uma amostra sob condições pré-estabelecidas. Ela é apresentada em termos de desvio padrão (Barros, 2002). Ainda de acordo com Brito *et al* (2003) geralmente, é representado em termos do coeficiente de variação (CV) de inúmeras medidas conforme com a equação a seguir:

$$\frac{CV}{\%} = \frac{S}{M} \times 100$$

Equação (1)

Sendo que:

S = desvio padrão das várias medidas;

M = média das várias medidas;

Para Ribani *et al* (2004) são toleráveis CV de até 20% dependendo da complexibilidade da amostra. Uma das maneiras de estipular a precisão é através do método da repetitividade (ALCÂNTARA, 2018).

A repetitividade informa a precisão nas mesmas condições de operação (analista, reagentes, equipamentos, mesmas condições ambientais e dia) em pequeno intervalo de tempo. É também chamada de precisão intra-ensaio e pode ser analisada com no mínimo nove determinações dentro do intervalo de três diferentes concentrações e três replicatas cada (BRITO *et al*, 2003).

2.5.6 Exatidão

A exatidão do método analítico é a conformidade entre o valor estimado pelo procedimento analítico e o valor de referência aceito do analito (BARROS, 2002). Ela é sempre apresentada dentro de determinados limites, a um certo nível de confiança, se apresenta sempre relacionada a valores de precisão. Estes tais limites podem ser estreitos em altos níveis de concentração e mais amplos em níveis de traços (RIBANI *et al*, 2004).

Segundo Brito *et al* (2003) a avaliação da exatidão de uma técnica analítica baseia-se em quatro principais métodos que são o uso de material de referência certificado (MRC), a comparação entre o procedimento proposto com um de referência, na utilização de ensaios de recuperação na matriz e por meio da construção de uma curva analítica pelo método da adição padrão.

Este citado ensaio tem por finalidade corrigir o resultado suscetível aos erros sistemáticos advindos de todas as etapas da corrida analítica até a realização da leitura do resultado instrumental (MAPA, 2011).

De acordo com a ANVISA (2014) a intermitência tolerável de recuperação para análise de resíduos, normalmente são entre 70-120%, com precisão de até mais ou menos 20%. Porém segundo Ribani *et al*, (2004) esse valor pode mudar para um intervalo de 50-120% com precisão mais ou menos de 15% dependendo da complexibilidade analítica da matriz, e quando se trabalha a níveis de traços esse valor pode ser aceito.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a linearidade, efeito matriz e, posteriormente, analisar amostras reais de milho provenientes das proximidades da cidade de Araguaína-TO quanto à presença do herbicida ametrina, utilizando a técnica de CG-EM e empregando o método *QuEChERS*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os parâmetros de validação linearidade e efeito matriz para o ametrina em milho;

Aplicar em amostras reais para possível análise quantitativa do composto alvo;

Analisar qualitativamente a contaminação por eventuais contaminantes orgânicos nas amostras;

4 PARTE EXPERIMENTAL

As práticas realizadas neste trabalho foram executadas no laboratório de cromatografia (LabCrom) e demais laboratórios do curso de licenciatura em química da Universidade Federal do Norte do Tocantins na cidade de Araguaína - TO.

4.1 Preparo da solução estoque para análise em CG-EM

A solução padrão estoque consistiu de uma solução de Ametrina na concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ em metanol cedida pelo Laboratório de Análise de Traços da Universidade Federal do Ceará (UFC), onde a partir desta, foi obtida a solução estoque mais diluída de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e depois a de $1 \mu\text{g L}^{-1}$, ambos em metanol grau cromatográfico.

4.2 Preparo das soluções padrão para obtenção da curva analítica no solvente e na matriz

Foi construída a princípio a curva analítica no solvente para depois comparar com a curva analítica na matriz e averiguar eventuais componentes da amostra que provavelmente possam interferir no sinal alusivo ao herbicida detectado no estudo. Foi estabelecido que nesse trabalho seria aplicado as concentrações em triplicata de 100, 150, 250, 500 e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, pois esta faixa permitiu obter uma linearidade adequada, respeitando-se a faixa linear do método, partindo-se do LQ do instrumento e resultando em cinco níveis de concentração conforme a legislação sugere.

4.3 Amostragem

Com a finalidade de concretizar um estudo quantitativo e qualitativo do herbicida ametrina no milho, foram adquiridas comercialmente espigas de milho *in natura* em três locais distintos das dependências do município de Araguaína-TO e uma do Goiás, sendo a primeira proveniente da feira municipal (amostra 01), a segunda de um supermercado (Amostra 02), a terceira do estado de Goiás (Amostra 03) e a quarta de uma Fazenda Agrícola próximo à Araguaína (Amostra 04). Foram adquiridas cinco espigas de cada local de amostragem, que foram transportadas para o laboratório onde as mesmas foram raladas,

homogeneizadas e armazenadas em recipientes previamente limpos, para posterior processamento, como mostra a figura 03:

Figura 03: Espigas de milho raladas e homogeneizadas para os procedimentos do método *QuEChERS*.



Fonte: Autor, 2023.

4.4 Condições Cromatográficas

A metodologia cromatográfica foi desenvolvida no sistema CG-EM / Agilent Technologies (modelo 7890B do CG e 5977 do EM). O gás de arraste empregado foi o gás hélio (99,99%) na vazão de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$, coluna capilar HP5-MS da Agilent com dimensões de $30\text{m} \times 0,25 \text{ mm d.i.}$ (diâmetro interno) e $0,25 \mu\text{m}$ de espessura de filme da fase estacionária composição 5% fenil e 95% polimetilsiloxano. O injetor operou no modo *splitless* (sem divisão de fluxo). O espectrômetro de massas operou no modo de ionização por impacto de elétron (IE) a 70 eV, com fonte de íons a $230 \text{ }^\circ\text{C}$ e linha de transferência de $250 \text{ }^\circ\text{C}$ no modo *Full Scan* (SCAN) e *SIM*, averiguando o íon $m/z=227$ equivalente ao fragmento de quantificação do herbicida ametrina e o íon de confirmação $m/z=44$.

A princípio injetou-se $1,0 \mu\text{L}$ da amostra com a temperatura do injetor mantida a $250 \text{ }^\circ\text{C}$ com a seguinte programação de temperatura: temperatura inicial $50 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 0 minuto, seguindo com aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$ até 250 e perdurando por 1 minuto, elevando-se a temperatura com aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C/min}$ até 300

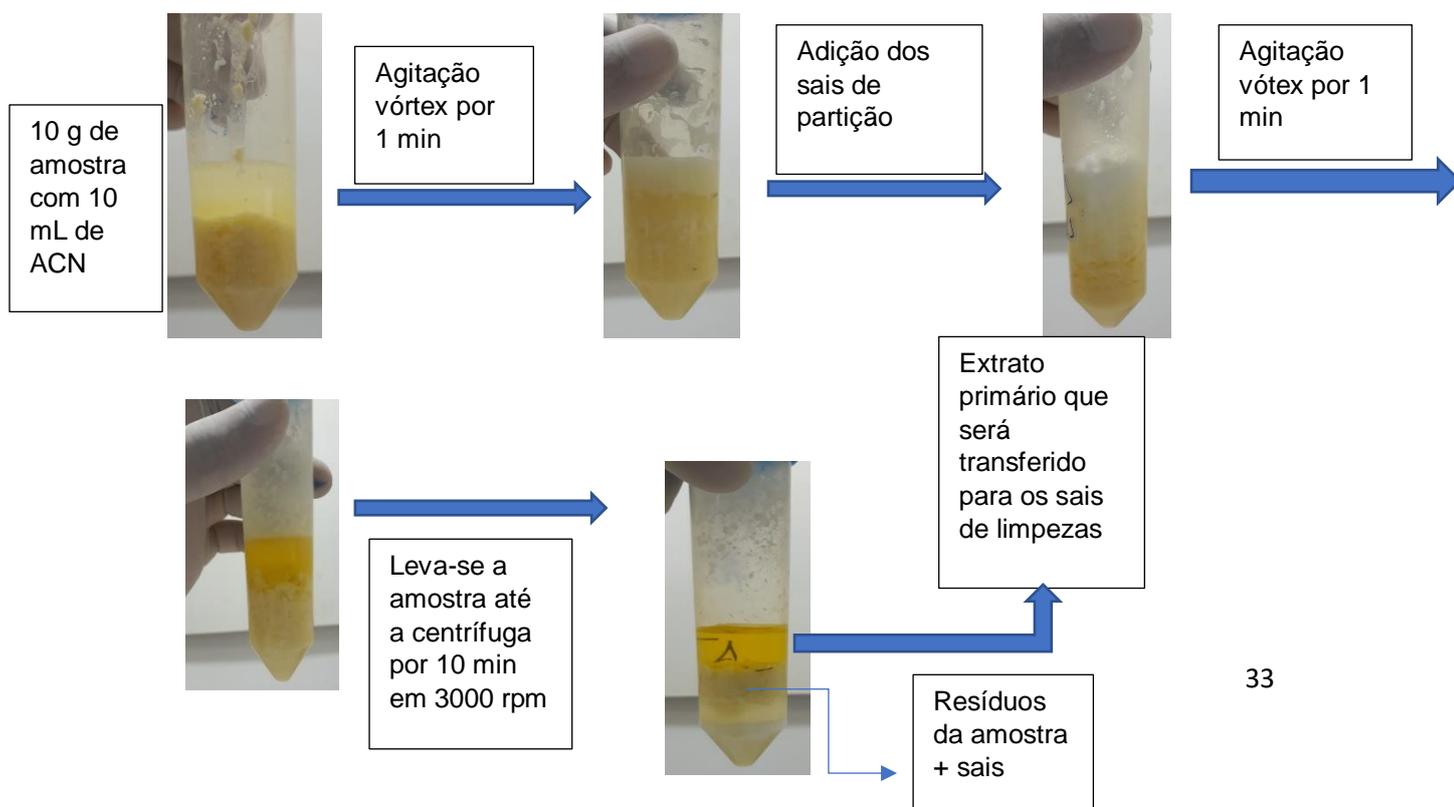
°C persistindo por 1 minuto, equivalendo a um tempo de corrida de 14,5 minutos. Condições estas adquiridas conforme os estudos de ALCÂNTARA *et al* (2018).

4.5 Metodologia de extração e limpeza pelo método *QuEChERS*

O método *QuEChERS* pormenorizado por Anastassiades *et al* (2003), foi usado como mecanismo de preparo de amostra por ser extremamente competente e funcional na extração de resíduos de pesticidas em matrizes de alimentos.

A princípio 10 g de amostra de milho preliminarmente tratada foi pesada propriamente em um tubo Falcon 50 mL, onde foi adicionado 10 mL de acetonitrila concordante com a proporção retratada pelo método (1 mL de acetonitrila para 1 g de amostra), posteriormente submetida a agitação por 1 minuto no dispositivo vórtex. Depois da agitação, adicionou-se uma mistura de sais possuindo 4,0 g de sulfato de magnésio anidro, 1 g de cloreto de sódio, 1 g de citrato de sódio tribásico e 0,5 g de hidrogenocitrato de sódio sesquihidratado que foram antecipadamente pesados, seguido de agitação por mais 1 minuto no vórtex. A seguir, foi levada à centrifugação submetidas por 10 minutos na velocidade de 3000 rpm para a então obtenção do extrato. Segue abaixo o processo em esquema:

Figura 04: Processo em fotos da metodologia para extração da amostra pelo método *QuEChERS*.



Após esses procedimentos obtém-se o extrato primário e continuamente à etapa de extração, uma alíquota de 1 mL do sobrenadante (fase líquida) foi transferida para um tubo de Falcon 15 mL, possuindo os sais de limpeza, que foram: 150 mg de sulfato de magnésio anidro, 150 mg de amina primária secundária (PSA) e 50 mg de carbono grafitizado (GCB). Sem demora, agitou-se por 1 minuto em agitador vórtex para então promover a dispersão dos sorventes no extrato primário da matriz e levou-se até a centrífuga por onde ficou 10 minutos na velocidade de 3000 rpm, obtendo-se, portanto, o extrato pós etapa de limpeza e logo após transferida ao vial para análise cromatográfica. Segue adiante o processo em esquema:

Figura 05: Processo em fotos da etapa de limpeza.

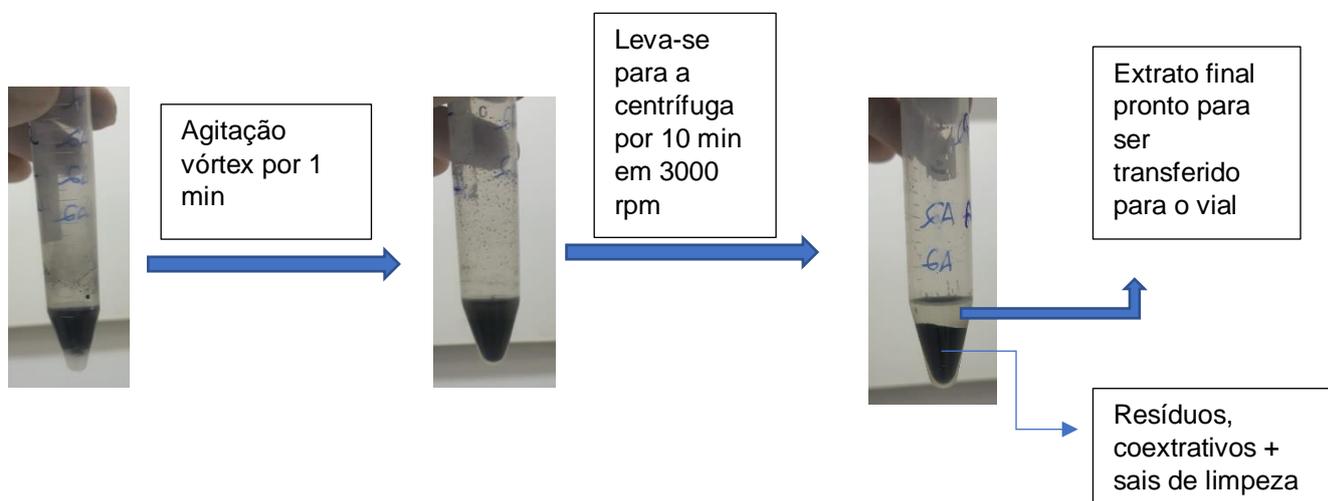


Figura 06: Instrumento CG-EM utilizado no estudo.



Fonte: Autor, 2023.

4.6 Efeito Matriz

Quanto a avaliação de uma eventual existência de efeito matriz no extrato de milho no estudo por CG-EM, foi julgada por meio da comparação dos coeficientes angulares resultantes pela curva analítica no solvente e na matriz, segundo a equação 2. Não considerando a interferência dos componentes da matriz na análise do analito caso o valor obtido fique dentro do intervalo de -20 e +20 % (Ribane, 2004):

$$EM/\% = \frac{(b_m - b_s) \times 100}{b_s} \quad (2)$$

Onde:

b_m = coeficiente angular da curva na matriz;

b_s = coeficiente angular da curva no solvente;

EM/% = Efeito Matriz dado em porcentagem;

4.7 Parâmetros de validação do método CG-EM

Para a então realização das análises de validação foram utilizadas as amostras do milho intitulada como Amostra 1, onde a mesma foi transportada do ponto comercial até o laboratório para efetuar os devidos procedimentos.

A validação do método de análise contornou o estudo dos parâmetros: seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão, conforme a legislação sugere. Seguindo o Guia de validação e controle de qualidade analítica MAPA (2011).

4.7.1 Seletividade

Para garantir a seletividade do método em estudo, empregou-se os principais fragmentos do espectro de massas, referente aos íons de quantificação ($m/z = 227$) e confirmação ($m/z = 44$) do analito para adquirir os seus cromatogramas de Monitoramento Seletivo de Íons (SIM). Ademais, verificou-se a similaridade do espectro de massa de cada composto com o espectro disponível na biblioteca *NIST* no instrumento para as análises qualitativas.

4.7.2 Linearidade

Para verificar a linearidade preparou-se curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz da amostra. Para um adequado ajuste linear da faixa de concentração empregada foi julgada a aproximação do coeficiente de determinação (R^2) com 1. Quando transcende a concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ a curva deixa de ser linear. Já a curva da matriz foi de 100 a $1500 \mu\text{g L}^{-1}$, o LQ se estabeleceu em $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.7.3 Exatidão

Uma das formas de se verificar a exatidão é por meio do estudo de recuperação, onde a amostra é dopada com o analito de interesse em pelo menos três níveis de concentração (baixo, médio e alto) com no mínimo cinco replicatas. Neste estudo foi adotado os níveis $100 \mu\text{g L}^{-1}$, $750 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1500 \mu\text{g L}^{-1}$. A amostra passa pelas devidas etapas de processamento e análise cromatográfica e, posteriormente, por meio de cálculos verifica a porcentagem de recuperação em cada nível de concentração. Essa etapa do trabalho não foi

possível ser concluída, pois as atividades cromatográficas da universidade local tiveram que pausar por causa da espera pelo gás de arraste que chegou em meados do mês de julho/2023. Logo, os testes experimentais de validação iniciaram-se em agosto do ano corrente.

Além disso, é importante notar que as matrizes alimentares são tipicamente complexas, demandando métodos de preparo de amostra que incorporem eficientes etapas de limpeza. Nesse contexto, destaca-se o emprego do método *QuEChERS* utilizado neste trabalho, embora seja necessário um tempo mais significativo para sua realização. Portanto, devido ao curto espaço de tempo decidiu-se que essa etapa seria realizada em estudos futuros, dando-se preferência à aplicação do método em amostras reais.

4.7.4 Precisão

A precisão foi obtida utilizando-se o método da repetitividade, calculando-se o coeficiente de variação (CV) das áreas obtidas após três injeções dos padrões analíticos para obtenção das curvas no solvente e na matriz no sistema cromatográfico.

4.7.5 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os citados limites foram estimados por meio de consecutivas injeções das soluções padrão, partindo-se da menor para maior concentração até resultar em uma relação sinal/ruído de 3 para o LD e 10 para o LQ, respectivamente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Um exemplo da obtenção do cromatograma do ametrina no modo *SIM*, para a concentração de $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ preparado com o extrato da matriz está ilustrado na figura 07, que foi obtido monitorando-se seus principais fragmentos do espectro de massas ($m/z = 227$ e $m/z = 44$), ilustrado na figura 08, após analisar o padrão analítico de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ em solvente no modo *SCAN*. Para obter as curvas de calibração tanto no solvente quanto na matriz, todos os níveis de concentração foram analisados utilizando-se o modo *SIM*.

Figura 07: Cromatograma com os parâmetros finais do padrão ametrina a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ em metanol adquirido por CG-EM, modo *SCAN* de monitoramento.

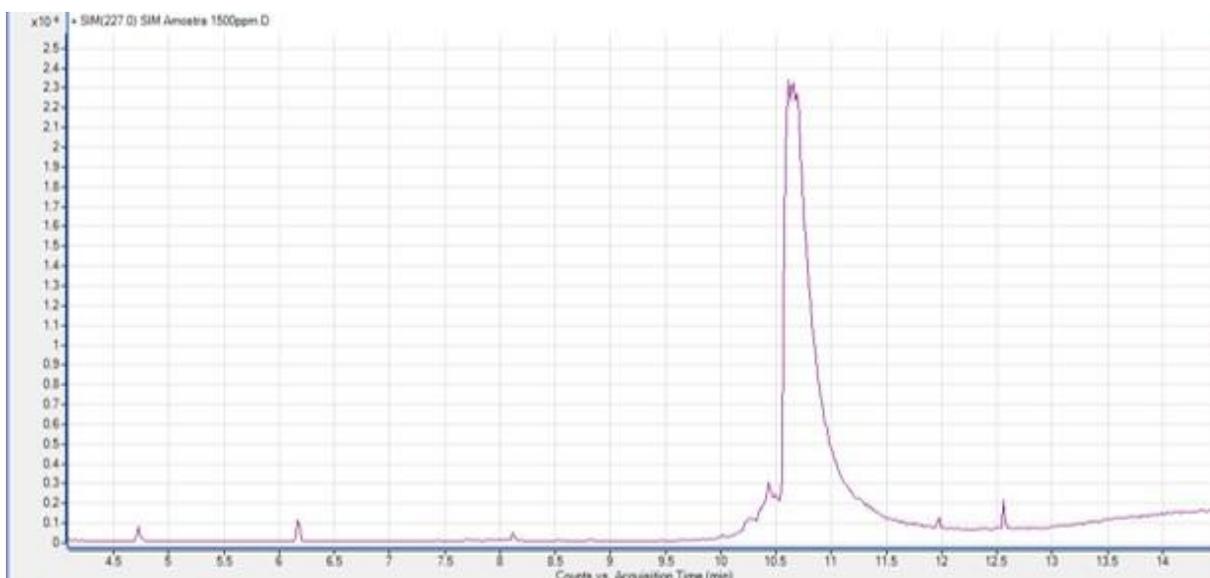
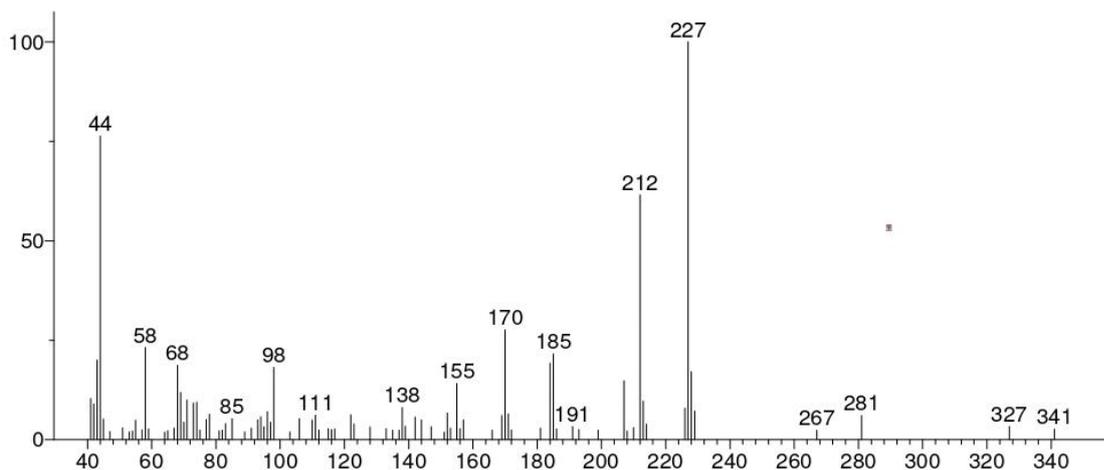


Figura 08: Espectro de massas do ametrina após análise no modo *SCAN* da solução padrão de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ em solvente.



(Text File) Scan 627 (10.518 min): Mix ACD1 - 3ppm.D\data.ms

Como é possível observar na figura 09, a curva no solvente foi da faixa de 100 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ pois foi até essa concentração que se obteve uma boa correlação de linearidade entre os eixos x e y, resultando em cinco níveis de concentração, conforme a legislação sugere, partindo-se do limite de quantificação que foi de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ mostrando o quanto o método é sensível a ponto de detectar baixas concentrações. Quando ultrapassa a concentração de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ a curva começa a perder linearidade, sendo observada por valores cada vez menores do R^2 . O LD manteve-se em cerca de 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. O coeficiente de determinação se apresenta R^2 : 0,9963, já o coeficiente de correlação ficou r: 0,99, mostrando está dentro das exigências da legislação.

Figura 09: Curva analítica no solvente para o Ametrina.

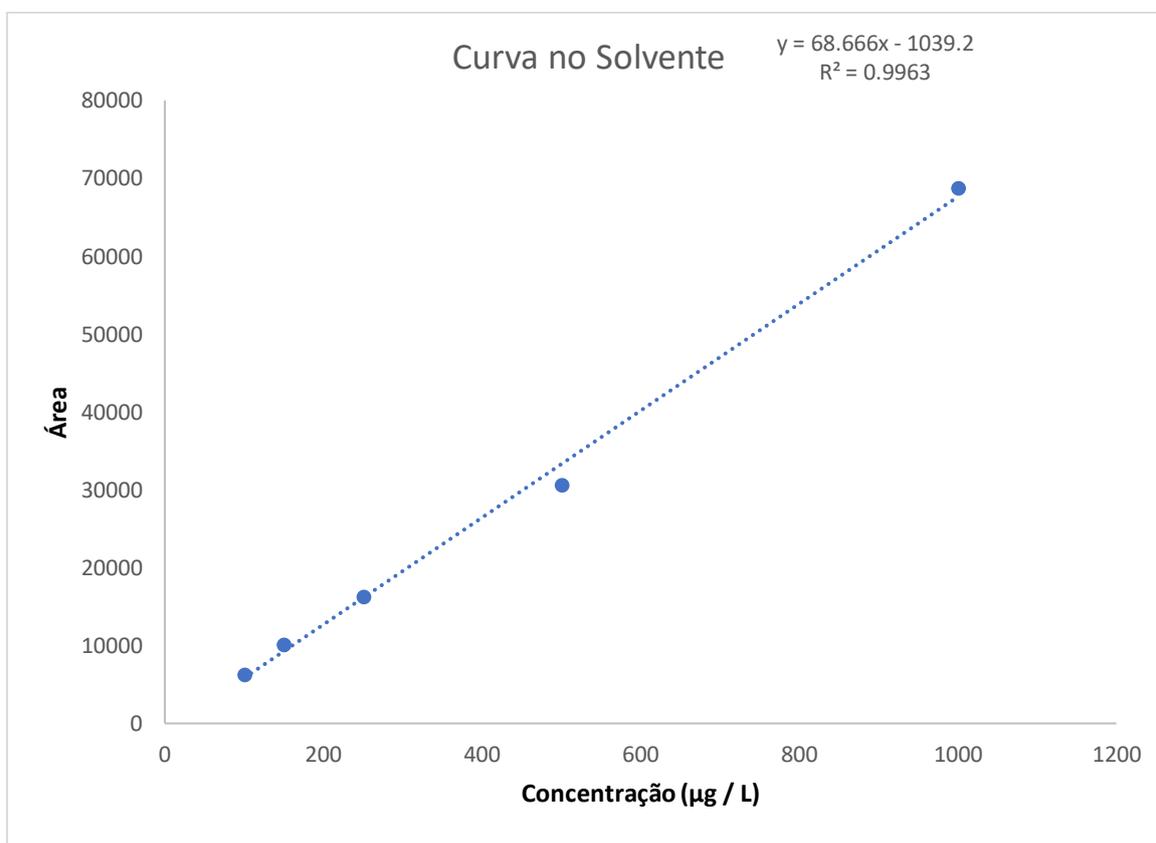
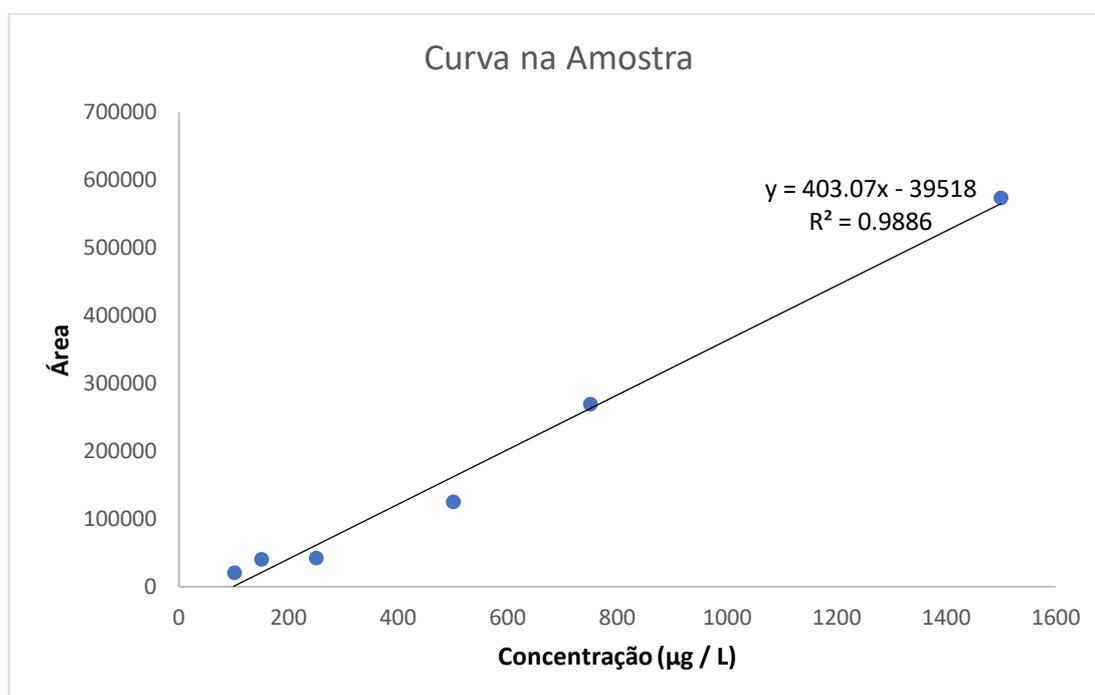


Figura 10: Curva analítica na matriz da solução Ametrina.



Já a curva na matriz a faixa linear manteve-se de 100 a 1500 µg L⁻¹, com LQ estimado em 100 µg L⁻¹ e LD em 30 µg L⁻¹. O coeficiente de determinação na curva da matriz obtido foi R²: 0,9886 e o coeficiente de correlação adquirido foi r: 0,99 também se mostra dentro das normas legislativas.

Mediante ao cálculo presenciou-se a existência do efeito matriz superior a 400%, ficando excedido da faixa recomendada pela legislação (-20 a 20%), fora dessa faixa, deve-se utilizar a curva analítica no extrato da matriz, afim de evitar erros em uma possível análise quantitativa (BALBINOT, 2022). Esse valor superestimado decorre por causa da complexidade da amostra, justamente por ser uma matriz de alimento e isso ocasiona sinais resultantes mais elevados. Segundo Pinho *et al* (2009) amostras complexas apresentam sublime teores coextrativos, e mais, a substância perpassa por várias etapas desde que é injetada até o detector e por ventura pode provocar variações/alterações do sinal analítico medido.

Ainda, o efeito matriz positivo pode ser justificado por interações do analito e componentes da amostra no interior do *liner*, uma vez que, após injeção a amostra é vaporizada no injetor aquecido. Esse procedimento é o mais vulnerável ao efeito matriz porque em condições de altas temperaturas os sítios

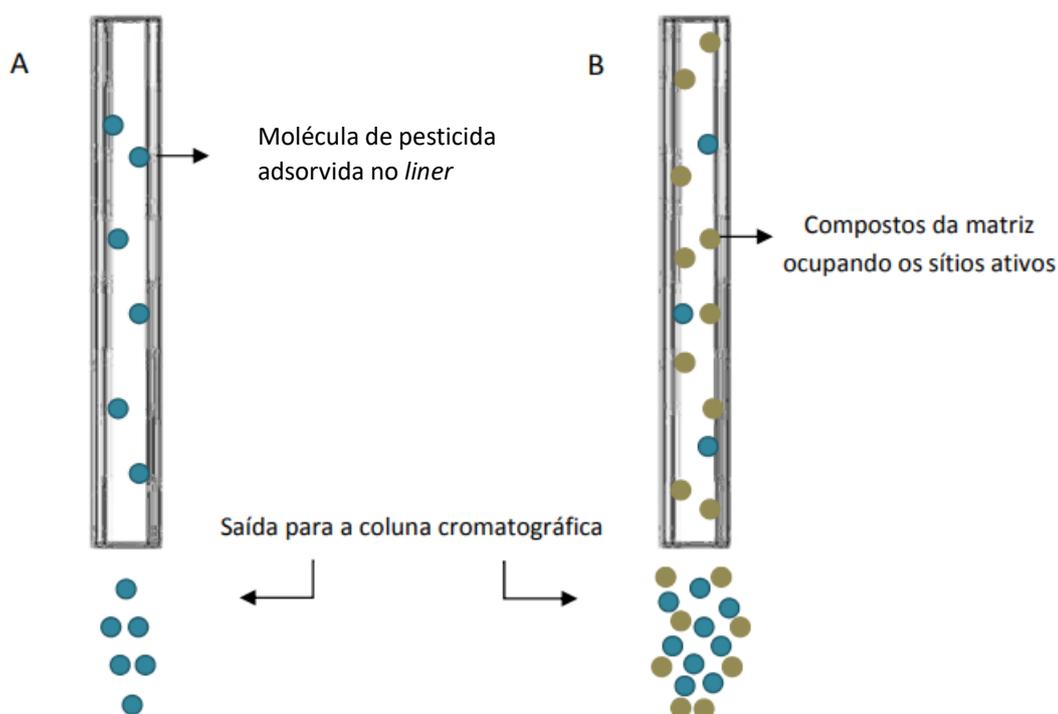
ativos no *liner* (tubo de vidro insertor) formados por grupos silanóis livres e metais presentes podem favorecer adsorção dos analitos e até mesmo catalisar processos de degradação térmica de defensivos agrícolas (PINHO *et al*, 2009).

De acordo com o mesmo autor, quando os analitos são introduzidos no sistema cromatográfico por meio de soluções padrão em solvente puro, os sítios ativos do *liner* estão dispostos para reter os analitos, de maneira que menor quantidade dos pesticidas seja transportada para coluna cromatográfica e posteriormente para o detector (figura 09 a).

Quando as soluções padrão são preparadas no extrato da matriz, acontece uma competição por espaço nos sítios ativos do *liner* entre os analitos e os componentes da amostra, viabilizando que maior quantidade de pesticida seja transferida para coluna cromatográfica e seguidamente detectados (figura 09 b).

Figura 11: Fenômeno de adsorção de pesticidas nos sítios ativos do *liner*.

A) Pesticidas injetados na ausência dos componentes da matriz. B) Pesticidas injetados na presença do extrato da matriz.



Fonte: BARBOSA, 2013.

PINHO *et al* (2009) ressalta também que nas primeiras análises efetuadas com uma coluna cromatográfica nenhum ou pouco efeito matriz é verificado, mas, quando a coluna passa por sucessivas injeções consequentemente contamina a coluna cromatográfica e o efeito matriz se destaca gradativamente.

5.1 Análises qualitativas dos compostos encontrados nas amostras de milho

Após as análises cromatográficas não se detectou o herbicida ametrina em nenhuma das amostras impossibilitando a quantificação. Ao ser realizado uma análise qualitativa para verificar uma possível contaminação por outros contaminantes orgânicos, observou-se na (Amostra 01) a presença do composto *DIBUTYL PHTHALATE* que conforme Muscogiuri e Colao (2017) é um contaminante orgânico proveniente do plástico e é encontrado nos mais diversos produtos como tintas, brinquedos, cosméticos, alimentos e a fins.

Devido à baixa similaridade percentual entre os espectros comparados da amostra e o da biblioteca NIST no instrumento, não se pode afirmar com certeza que é o composto, necessitando de maiores investigações. As figuras 12 e 13 apresentam o cromatograma e o espectro de massas do *Dibutyl Phthalate* encontrado na amostra, respectivamente. Na segunda amostra detectou-se um composto denominado pela biblioteca NIST como *OXYMETAZOLINE* que é um descongestionador nasal. Devido à baixa similaridade percentual também não se pode assegurar a certeza da presença deste composto, necessitando de estudos específicos para avaliação desta substância. A figura 14 ilustra o cromatograma da matriz e pico extraído e na 15 o espectro de massas.

Figura 12: Cromatograma do extrato da amostra 1 obtido no modo SCAN de monitoramento CG-EM.

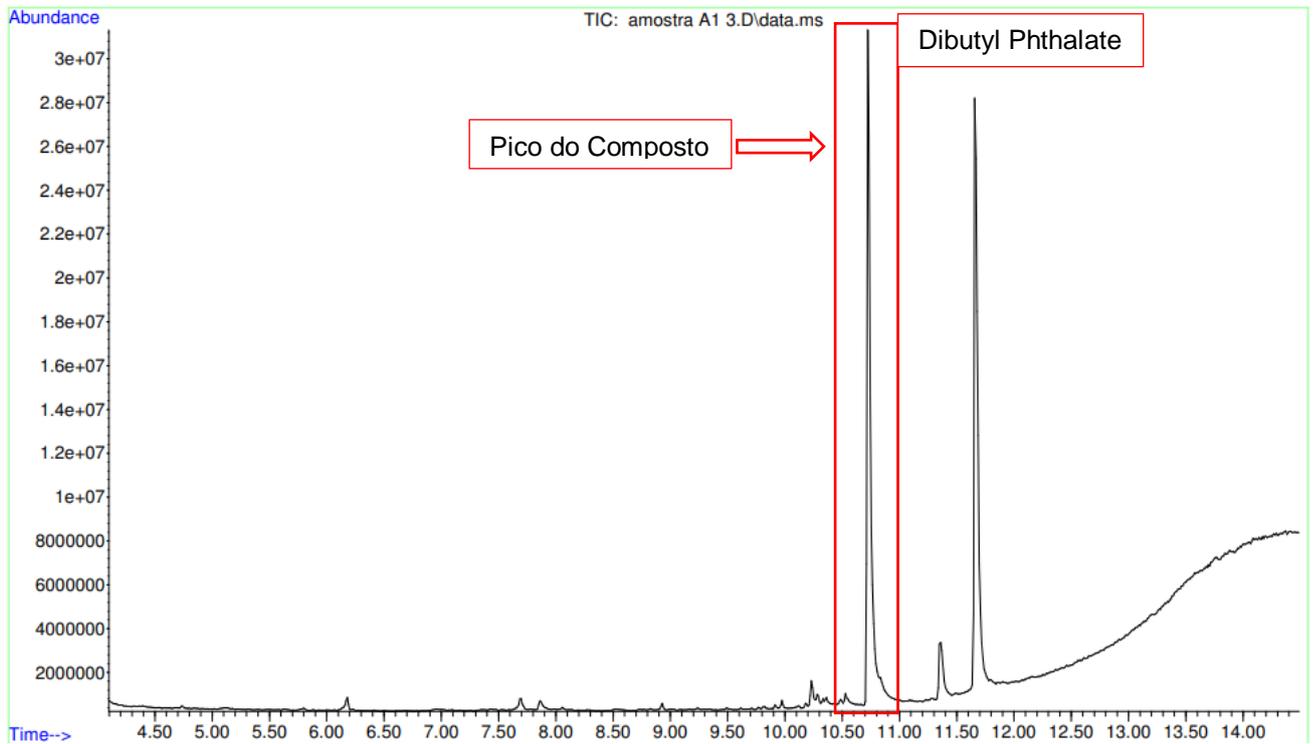


Figura 13: Espectro de massas para o *Dibutyl Phthalate* obtido após análise da amostra.

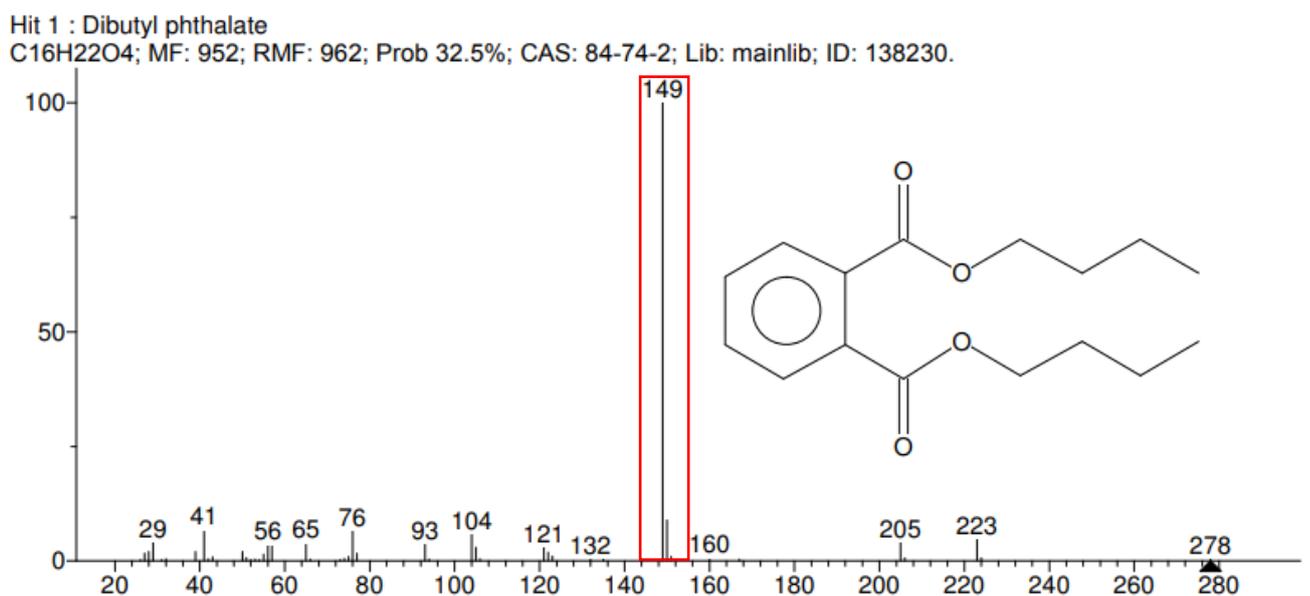


Figura 14: Cromatograma do extrato da amostra 2 obtido no modo TIC de monitoramento CG-EM.

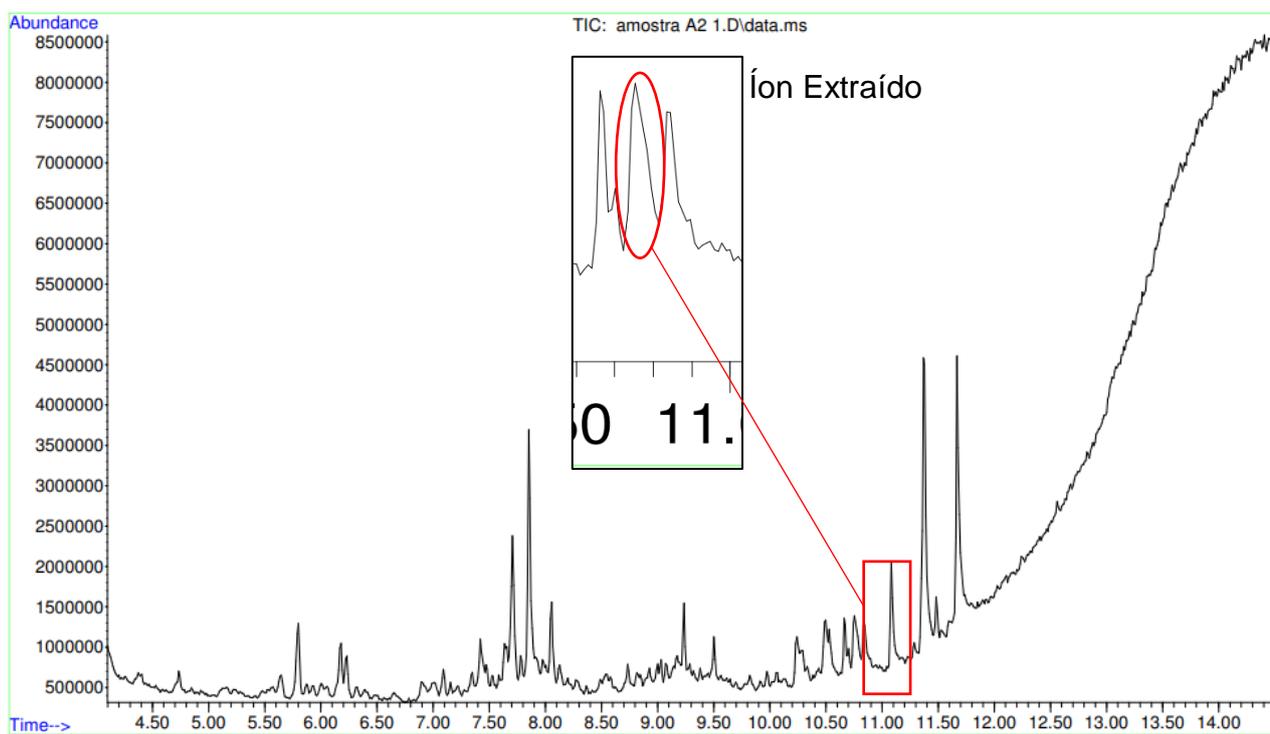
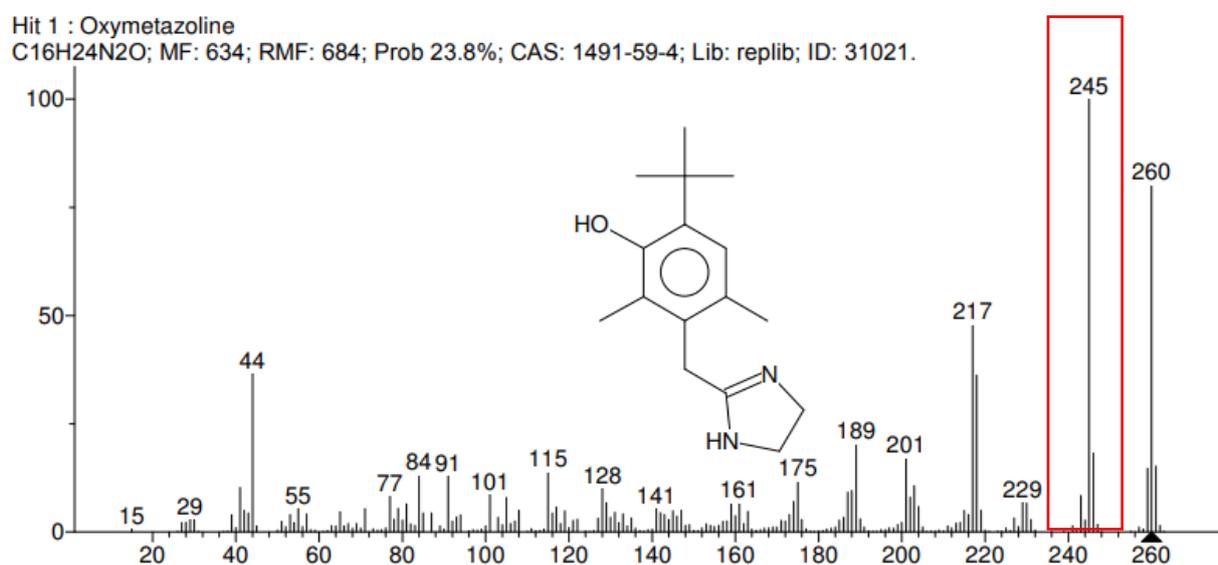


Figura 15: Espectro de massas para o *oxymetazoline* obtido após análise da amostra.



Na amostra 03, não foi observada a presença de nenhum contaminante orgânico durante a análise qualitativa, exceto componentes da própria matriz da amostra.

Na amostra 04 foi aplicada pelo agricultor o herbicida *ROUNDUP* onde seu princípio ativo é o glifosato, porém, este não foi detectado na análise qualitativa. Analisando o rótulo do produto, após 04 horas de aplicação se chover o produto perde sua eficiência apesar de conter um princípio ativo sistêmico (onde é absorvido pela planta se desloca-se pelo interior através do xilema e/ou floema) e conforme relatado pelo agricultor choveu algumas horas após a aplicação.

Outro fator que é importante destacar é que as espigas de milho foram coletadas em uma área mais elevada e como choveu no dia da aplicação o herbicida pode ter escoado para as áreas mais baixas.

Contudo, pode ser considerado poucas amostras para um trabalho dessa natureza, porém, a etapa de aplicação do método em amostras reais não coincidiu com a entre safra do milho, onde a mesma tem seu término no mês de outubro e a aplicação em amostras reais foi realizada no mês de novembro (onde inicia-se o cultivo da soja). Com isso afetou diretamente na disponibilidade do produto.

6. CONCLUSÕES

O método *QuEChERS* se manteve adequado pois por meio dele obteve-se as curvas analíticas com boa linearidade, com valores de 0,99. O efeito matriz se expressou de maneira superestimada (> 400%) devido a matriz ser um alimento e, portanto, ser complexo.

A utilização do carvão ativo na etapa *clean up* viabilizou maior limpeza do extrato para analisar as amostras, preservando o sistema cromatográfico de qualquer dano ocasionado por eventuais interferências.

A etapa de recuperação inclusa no parâmetro de validação (exatidão) fica como perspectiva futura para finalização.

As análises em amostras reais não identificaram ametrina e nenhum outro pesticida e os compostos que se destacaram nas amostras 01 (Dibutyl Phthalate) e 02 (Oximetazoline) apresentaram baixa similaridade dos espectros de massas segundo a biblioteca do instrumento NIST, nas amostras 03 e 4 não se manifestou nenhuma substância significativa.

Portanto, a realização desse trabalho contribuiu para minha formação profissional como também para meu aprendizado, experiência no método e manuseio do instrumento. As eventualidades ocorridas no trabalho é motivo de superação e conquista por concretizar um trabalho com tema importante trazendo informações significativas para os leitores de um contexto tão familiar da sociedade.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Agrotóxicos em alimentos**. Disponível em: [Agrotóxicos em alimentos — Português \(Brasil\) \(www.gov.br\)](#). Acesso em: 12 jan. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para o controle de qualidade para análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos para os laboratórios integrados do PARA**. Brasília, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA NACIONAL. **Agrotóxicos: Confira as informações da ANVISA sobre o Decreto 10.833**. Disponível em: [Agrotóxicos: confira as informações da Anvisa sobre o Decreto 10.833 — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa \(www.gov.br\)](#). Acesso em: 26 nov. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Publicada reclassificação toxicológica de agrotóxicos**. Disponível em: [Publicada reclassificação toxicológica de agrotóxicos — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa \(www.gov.br\)](#). Acesso em: 23 fev. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para tratamento estatístico da validação analítica**. 2017. Disponível em: [85b0e965-d72f-4b7c-bd2e-17de13af1976 \(anvisa.gov.br\)](#). Acesso em: 05 ago. 2023.

ALCÂNTARA, Daniel. **Desenvolvimento e validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos organofosforados em sapoti por CG-EM empregando QuEChERS**. Universidade Federal do Ceará – Fortaleza, 2016.

ALCÂNTARA, Daniel *et al.* **Organophosphorus pesticide in sapodilla (manilkara zapota) fruit Article**. v.29. n.10, p. 2180-2188. 2018.

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

AMARAL, Leonardo. **Determinação multirresíduo de agrotóxicos em casca, polpa e tubérculo de batata empregando o método QuEChERS e UHPLC-MS/MS**. Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: [DIS PPGQUIMICA 2023 AMARAL LEONARDO.pdf \(ufsm.br\)](#). Acesso em: 06 jul. 2023.

AMORIM, Antônia. **Métodos Cromatógrafos**. 1 ed. Fortaleza. Editora da Unidade Estadual do Ceará – EdUECE. 2019.

BALBINOT, Priscila. **Determinação de resíduos de ditiocarbamatos, empregando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, em erva-mate (ilex paraguariensis) produzida na américa do sul**. Universidade Federal de Santa Maria-RS. 2022. Disponível em: [DIS PPGQUÍMICA 2022 BALBINOT PRISCILA.PDF \(ufsm.br\)](#). Acesso em: 06 dez. 2023.

BARROS, Cleide. **Validação de métodos analíticos**. CPTI – Tecnologia e Desenvolvimento – São Paulo, 2002.

BARBOSA, Pablo. **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ABACAXI UTILIZANDO AS TÉCNICAS QUECHERS E CG-EM**. UFC. 2013. Disponível em: [Pablo - Dissertação \(1\).pdf](#). Acesso em: 04 dez. 2023.

BRAIBANTE, Mara; ZAPPE, Janessa. **A química dos agrotóxicos**. Santa Maria- RS. v.34.Nº 1. p.10-15. fevereiro de 2012.

BRITO, Natilene *et al.* **Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão**. UFPR – Br. v.13. 2003. Disponível em: [*Natilene \(ufpr.br\)](#). Acesso em: 05 ago. 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Boletim logístico: exportações de milho atingem recorde de 6,17 milhões de toneladas**. Disponível em: [Conab - BOLETIM LOGÍSTICO: Exportações de milho atingem recorde de 6,17 milhões de toneladas](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Boletim Logístico Setembro/23. Disponível em: [BoletimZLogisticoZ-ZSetembroZ2023.pdf](#). Acesso em: 04 out. 2023.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Boletim Logístico Novembro/23. Disponível em: [BoletimZLogisticoZ-ZNovembroZ2023Z-.pdf](#). Acesso em: 25 nov. 2023.

CASTRINI, A *et al* (2021). **Determinação de resíduo de bifentrina em banana após a colheita e na água de lavagem**. Brazilian Journal Of Food Technology. Disponível em: [SciELO - Brasil - Determinação de resíduo de bifentrina em banana após a colheita e na água de lavagem Determinação de resíduo de bifentrina em banana após a colheita e na água de lavagem](#). Acesso em: 6 jul. 2023. doi.org/10.1590/1981-6723.11820.

CASSIANO, Neila *et al.* **Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas**. Química Nova, v.32, n.4, 2009.

CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA IV REGIÃO: COMISSÃO DE COSMÉTICOS. **Validação de metodologia analítica**. Seminário de validação aplicada a RDC 48/13. 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Expansão Potencial do plantio de 2ª safra do milho no Brasil no sistema de rotação soja-milho considerando o zoneamento de risco climático**. Disponível em: [Bol 63 Charlotte.indd \(embrapa.br\)](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Época de plantio e cultivares de milho safrinha no Tocantins**. Disponível em: [Plantio de milho no Tocantins.pdf](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

FACCO, Janice. **Determinação multirresíduo de agrotóxico em milho empregando método QuEChERS modificado e LC-MS/MS.** Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: [TES PPGQUIMICA 2017 FACCO JANICE.pdf \(ufsm.br\)](#). Acesso em: 06 jul. 2023.

FLOHR, Letícia *et al.* **Classificação de resíduos sólidos industriais com base em testes ecotoxicológicos utilizando Daphnia magna: uma alternativa.** Universidade Federal de Santa Catarina. p.10. maio de 2005.

GLOBO RURAL. **De onde veio o milho? Conheça a origem e benefício do grão.** Disponível em: [De onde veio o milho? Conheça a origem e benefícios do grão - Revista Globo Rural | Agricultura](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

INOUE, Letícia. **Cultura do milho e sua importância na atualidade.** Disponível em: [Cultura do milho e sua importância na atualidade - Agromove](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOC-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos: documento de caráter orientativo.** Coordenação Geral de Acreditação. Revisão 08 – ABR/2020.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOC-CGCRE-008: Orientações sobre validação de métodos analíticos.** Revisão 04, 2003.

LIMA, Antônia; SILVA, Edvânia; IWATA, Bruna. **Agriculturas e agriculturas familiar no Brasil: uma revisão de literatura. Retratos de Assentamentos.** v.22. N.1. 2019.

MENDES, Alexandra. **Implementação e validação de métodos analíticos.** Universidade de Coimbra – Portugal, 2004. Disponível em: [artigo6-AR-libre.pdf \(d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net\)](#). Acesso em: 05 ago. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Guia de validação e controle de qualidade analítica.** Brasília, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Lei 7802-1989 – Lei dos Agrotóxicos.** 2021. Disponível em: [Lei 7802-1989 - Lei dos Agrotóxicos. — Ministério da Agricultura e Pecuária \(www.gov.br\)](#). Acesso em: 05 ago. 2023.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Registro de produto autorizado Ametrina CCAB 500 SC.** Brasília, 2011.

MOTA, Alberto. **Métodos cromatográficos: Separação e identificação de substâncias.** Gama, DF: Uniceplac. p.30. 2022. Disponível em: [Microsoft PowerPoint - Métodos cromatográficos - separação e Identificação de substâncias \(uniceplac.edu.br\)](#). Acesso em: 19 jun. 2023.

MUSCOGIURI, Giovanna; COLAO, Annamaria. **Phtalates: new cardiovascular health disruptors?**. Arch Toxicol (2017) 91:1513–1517. Disponível em: [Ftalatos: novos disruptores da saúde cardiovascular? | Arquivos de Toxicologia \(springer.com\)](https://www.springer.com). Acesso em: 25 nov. 2023.

NASCIMENTO, Ronaldo et al. **Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos**. E-book. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018. 334 p. (Estudos da Pós-Graduação). Disponível em: [2018 liv rfnascimento.pdf](#). Acesso em: 19 jun. 2023.

SALATI, Paula. **Após novo recorde, Brasil encerra 2021 com 562 agrotóxicos liberados, sendo 33 inéditos**. G1. 2022. Disponível em: [Após novo recorde, Brasil encerra 2021 com 562 agrotóxicos liberados, sendo 33 inéditos | Agronegócios | G1 \(globo.com\)](#). Acesso em: 25 nov. 2023.

PERES, F. **Saúde, trabalho e ambiente no meio rural brasileiro**. Ciência & Saúde coletiva, v. 14, n. 6, p. 1995-2004, 2009. PERES, F e MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

PESTICIDE PROPERTIES DATABASE . Ametryn (Ref: G 34162). **University Of Hertfordshire**. 2023. Disponível em: [Ametryn \(Ref: G 34162 \) \(herts.ac.uk\)](#). Acesso em: 24 fev. 2023.

PINHO, Gevany. **Efeito de componentes na matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. Universidade Federal de Viçosa – MG. 2009. Disponível em: [Microsoft Word - Tese final Gevany PINHO 09 - Efeito de componentes da matriz na análise de agrot por CG.doc \(ufv.br\)](#). Acesso em: 06 ago. 2023.

PINHO, Gevany *et al.* **QuEChERS – Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas**. Química Nova. v.32, n. 6, p.1620-1634, 2009.

PRESTES, Osmar; ADAIME, Martha; ZANELLA, Renato. **QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostras para determinação de multirresíduo de pesticidas em alimentos**. Departamento de Química - Universidade Federal de Santa Maria-RS. p.51-64, mar.2011.

PRESTES, Osmar *et al.* **QuEChERS: a modern sample preparation method for pesticide multiresidue determination in food by chromatographic methods coupled to mass spectrometry**. Departamento de Química – Universidade Federal de Santa Maria – RS. Jan.2009.

RIBANI, Marcelo. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. Química Nova, v.27, n.5, 2004.

RIBEIRO, Fabiana *et al.* **Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados**. Química Nova. V.31, n.1, 2008.

