

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Cleusa Fatima Zanchin

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM
BERINJELA EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS**

Santa Maria, RS
2022

Cleusa Fatima Zanchin

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA
EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**, área de concentração Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria, RS
2022

Zanchin, Cleusa Fatima
DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA
EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS / Cleusa Fatima
Zanchin.- 2022.
130 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientador: Osmar Damian Prestes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2022

1. QuEChERS 2. Berinjela 3. Biosorvente 4. Preparo de
amostras 5. UHPLC-MS/MS I. Zanella, Renato II. Damian
Prestes, Osmar III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

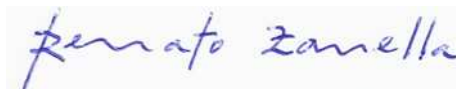
Declaro, CLEUSA FATIMA ZANCHIN, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Cleusa Fatima Zanchin

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA
EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**, área de concentração Química Analítica.

Aprovada em 05 de setembro de 2022:



Renato Zanella, Dr. (UFSM)
(Orientador)



Carla Sirtori, Dra. (UFRGS)



Magali Kemmerich, Dra. (UNIPAMPA)

Santa Maria, RS

2022

Dedico ao meus pais, que sempre foram meus exemplos máximo de superação. Eles que não tiveram acesso à educação, nem fizeram faculdade, mas me ensinaram muito sobre a vida e sobre persistir no que eu sonhasse.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella agradeço o apoio, a partilha do saber, as valiosas contribuições para o trabalho e pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP). Obrigado por todas as oportunidades proporcionadas, por sempre estar disposto a ajudar e pelos seus ensinamentos que me fizeram crescer profissionalmente e como pessoa.

Aos demais professores do LARP, Martha e Osmar, que não mediram esforços para me auxiliarem durante essa trajetória.

Aos meus pais Generino e Marília por todas as lições de amor, dedicação, compreensão e pelo incentivo em todos os momentos da minha vida. Vocês são meus exemplos de vida, amor e honestidade. Espero que um dia possa ser pelo menos metade do que vocês são.

Aos meus irmãos Tarcísio, Cláudia e Carmem, obrigado por fazerem parte da minha vida, pela amizade, carinho, força, companheirismo, por tudo o que fizeram e fazem por mim. Não importa a que distância, vocês sempre estão comigo.

Aos meus sobrinhos Gian Lucca, Yuri, Poliana, Kauani, Enzo Gabriel e Paola por alegrarem os meus dias e trazerem mais cor a minha vida.

Ao Tiago, pelo amor e carinho, pela paciência e compreensão nos momentos de minha ausência. Por cada momento que vivo ao seu lado e porque todos eles são repletos de amor e cumplicidade.

Agradeço aos meus amigos e colegas do LARP por toda ajuda, amizade, apoio e carinho, e pelo convívio e momentos de descontração.

A minha amiga Karina, pela amizade de anos e pelo incentivo durante toda essa caminhada. A minha amiga Eduarda e sua família, por toda a amizade, cuidado e apoio de sempre. Vocês são luz na minha vida. Aos meus demais amigos, que apesar de estarem tão longe nunca saem dos meus pensamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da UFSM, que auxiliaram na minha formação acadêmica, e aos secretários do PPGQ, Ademir e Miguel, sempre muito prestativos e atenciosos.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade e pelo ensino gratuito e de qualidade.

Agradeço a Deus pela vida, por me iluminar, e ser meu refúgio, minha fortaleza e confiança.

RESUMO

DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS

AUTORA: Cleusa Fatima Zanchin
ORIENTADOR: Prof. Dr. Renato Zanella

A utilização intensiva de agrotóxicos na agricultura, principalmente herbicidas, inseticidas e fungicidas, visa o controle de pragas e doenças para aumento da produção. Por outro lado, os consumidores destes produtos podem ser expostos aos resíduos dos agrotóxicos contidos nos alimentos, devendo ser observados os limites máximos de resíduos (LMRs) estabelecidos pela legislação. Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos amplos e modernos, que possibilitem o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos, é de grande importância. Neste trabalho, desenvolveu-se e validou-se um procedimento de análise baseado no preparo de amostras pelo método QuEChERS para a determinação multirresíduo de 111 agrotóxicos em berinjela por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Após a escolha das melhores condições da etapa de extração, baseada no método QuEChERS original, avaliou-se a capacidade de limpeza do extrato com diferentes sorventes na etapa de extração em fase sólida dispersiva (d-SPE). O sorvente produzido a partir de nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT-CS), um biosorvente eficiente e de baixo custo, apresentou os melhores resultados de exatidão, obtidos através de ensaios de recuperação. O método proposto foi validado, apresentando linearidade adequada para todos os compostos, com coeficientes de determinação maiores que 0,990. As análises por UHPLC-MS/MS apresentaram alta seletividade, sensibilidade e detectabilidade. Os limites de quantificação do método, considerando os níveis que apresentaram recuperação entre 70 e 120%, com RSD \leq 20%, variaram entre 0,005 e 0,025 mg kg⁻¹, abaixo dos LMRs estabelecidos para berinjela, pela ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius. O método proposto foi aplicado em 26 amostras comerciais de berinjela e foram encontrados resíduos de 27 agrotóxicos, sendo que nove deles são proibidos no Brasil para a cultura. Os resultados demonstraram que o método proposto é eficiente e pode ser empregado na rotina para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em berinjela.

Palavras-chave: Berinjela. Agrotóxicos. Preparo de amostra. CNT-CS. QuEChERS. UHPLC-MS/MS.

ABSTRACT

MULTIRESIDE DETERMINATION OF PESTICIDES IN EGGPLANT USING QuEChERS AND UHPLC-MS/MS METHOD

AUTHOR: Cleusa Fatima Zanchin

ADVISOR: Prof. Dr. Renato Zanella

The intensive use of pesticides in agriculture, especially herbicides, insecticides and fungicides, aims to control pests and diseases in order to increase production. On the other hand, consumers of these products can be exposed to pesticide residues in food, and the maximum residue limits (MRLs) established by legislation must be observed. Therefore, the development of broad and modern analytical methods that allow the monitoring of pesticide residues in food is of great importance. In this work, an analytical procedure based on sample preparation by the QuEChERS method was developed and validated for the multiresidue determination of 111 pesticides in eggplant by ultra-high performance liquid chromatography coupled to serial mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). After choosing the best extraction step conditions based on the original QuEChERS method, we evaluated the extract cleaning ability with different sorbents in the dispersive solid phase extraction (d-SPE) step. The sorbent produced from carbon nanotubes stabilized on chitosan sponge (CNT-CS), an efficient and low cost biosorbent, showed the best accuracy results, obtained through recovery tests. The proposed method was validated, showing adequate linearity for all compounds, with determination coefficients greater than 0.990. The UHPLC-MS/MS analyses showed high selectivity, sensitivity and detectability. The quantification limits of the method, considering the levels that presented recovery between 70 and 120%, with RSD \leq 20%, ranged between 0.005 and 0.025 mg kg⁻¹, below the MRLs established for eggplant, by ANVISA, European Union and Codex Alimentarius. The proposed method was applied to 26 commercial eggplant samples and residues of 27 pesticides were found, nine of them are prohibited in Brazil for this crop. The results showed that the proposed method is efficient and can be used in routine analyses for multiresidue determination of pesticides in eggplant.

Keywords: Eggplant. Pesticides. Sample preparation. CNT-CS. QuEChERS. UHPLC-MS/MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Cultivares de berinjela com frutos de diferentes cores, formatos e tamanhos.	24
Figura 2 – Método QuEChERS, original, acetato e citrato.	45
Figura 3 – Nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.	48
Figura 4 – Mapa do do Rio Grande do Sul com a localidade das amostras de berinjela avaliadas no presente estudo.....	63
Figura 5 – Etapa da adição do Padrão Interno (PI) e do Padrão de Controle (PC)...	66
Figura 6 - Cromatograma de íons totais obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma solução padrão 10 µg L ⁻¹ preparada na matriz de berinjela.	81
Figura 7 - Efeito matriz resultante para cada versão do método QuEChERS testado (T1: original, T2: acetato e T3: citrato).	85
Figura 8 – Comparação visual dos extratos obtidos pelas diferentes diluições do método	87
Figura 9 – Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (entre 70-120% e RSD ≤20%), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através de diferentes diluições.....	88
Figura 10 - Efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados, obtidos.....	89
Figura 11– Cromatograma de íon total (TIC) obtido por UHPLC-MS/MS, para os compostos oxamil e tiametoxam preparados em extrato de berinjela (10 µg L ⁻¹) e diluídos em água ultrapura em proporções A: 2x, B: 3x, C: 5x, D: 10x e E: 20x.	90
Figura 12 – Extratos obtidos após utilização de diferentes sorventes na etapa de limpeza, em ordem visual de remoção dos pigmentos.....	92
Figura 13 – Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (70-120% e RSD ≤20%), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através da limpeza de extrato por diversos sorventes.	93
Figura 14 – Resultado do efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes utilizados.	94
Figura 15 - Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (entre 70-120% e RSD ≤20%), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através da limpeza de extrato empregando quitosana – FURG, quitosana comercial de casca de	

caranguejo e casca de caramão e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.	96
Figura 16 - Resultado do efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando quitosana – FURG, quitosana comercial de casca de caranguejo e casca de caramão e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.	96
Figura 17 - Cromatogramas obtidos a partir de injeções no sistema GC-MS/MS no modo <i>full scan</i> , do extrato “branco” de berinjela a) sem a etapa de limpeza (vermelho) e extratos obtidos após a etapa de limpeza utilizando os sorventes: b) quitosana de casca de caranguejo (verde escuro), c) quitosana – FURG (amarelo), d) nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS (azul) e e) quitosana de casca de caranguejo) (verde claro).	98
Figura 18 – Procedimento de extração e limpeza de extrato otimizado para determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela por UHPLC-MS/MS.	99
Figura 19 - Cromatograma de íon total do composto imidacloroprido, obtidos para (a) solução analítica no extrato da matriz (em vermelho) na concentração de 10 µg L ⁻¹ , (b) “branco” da amostra berinjela (em lilás) e (c) o branco dos reagentes (em marrom), obtido por UHPLC-MS/MS.	101
Figura 20 – Gráfico representativo do efeito matriz ao comparar as curvas em solvente (acetonitrila) e na matriz (berinjela), para os compostos imazalil e piridabem.	102
Figura 21 – Cromatograma comparativo entre a amostra A11 contaminada com resíduo de tiametoxam (0,121 mg kg ⁻¹) e o seu LOQ (0,01 mg kg ⁻¹).	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela TBCA de composição da berinjela, com casca, crua por 100 g de parte comestível.	26
Tabela 2 - Ingredientes ativos mais comercializados no Brasil, entre os anos de 2009 a 2020, por tonelada.	29
Tabela 3 - Classificação em função da toxicidade aguda dos agrotóxicos, categorias e cores nas faixas do rótulo dos produtos.	31
Tabela 4 - Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de berinjela – Limite Máximo de Resíduo (LMR), mg kg ⁻¹ estabelecidos de acordo com a ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius.	34
Tabela 5 – Revisão dos métodos de preparo de amostra e condições cromatográficas empregadas na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela e outras matrizes de origem vegetal.	39
Tabela 6 - Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos por cromatografia.	53
Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.	58
Tabela 8 – Amostras de berinjela avaliadas no presente estudo e sua localidade. ..	64
Tabela 9 - Gradiente de fase móvel utilizado na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela por UHPLC-MS/MS.	67
Tabela 10 – Condições cromatográficas do sistema UHPLC-MS/MS.	67
Tabela 11 - Testes realizados para análise dos compostos selecionados para análise de resíduos de agrotóxico em berinjela.	71
Tabela 12 – Parâmetros de métodos analíticos avaliados na validação do método, com respectivas formas de aplicação, equações (quando aplicável) e critérios de aceitação.	75
Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLC-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t _R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produto, e energias de colisão (EC) utilizados.	77
Tabela 14 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (T1: original, T2: acetato e T3: citrato), para 111 agrotóxicos avaliados.	82

Tabela 15 - Comparação do efeito matriz (%), por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (T1: original, T2: acetato e T3: citrato), para os 111 agrotóxicos avaliados.	84
Tabela 16 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (T4: original e T5: citrato) sem etapa de limpeza, para 111 agrotóxicos avaliados.	86
Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).	105
Tabela 18- Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de berinjela empregando o método desenvolvido neste trabalho.	113
Tabela 19 – Resultados da análise das amostras reais de berinjela, em relação a concentração encontrada, limite de quantificação do método (LOQ) e o limite máximo de resíduos (LMR) permitidos pela ANVISA, UE e Codex Alimentarius.	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Associação de Químicos Analíticos Oficiais, do inglês <i>Association of Official Analytical Chemists</i>
BPA	Boas Práticas Agrícolas
C18	Octadecilsilano
CEN	Comite Europeu de Normalização, do inglês <i>European Committee for Standardization</i>
CNT-CS	Nanotubos de carbono em esponja de quitosana, do inglês <i>carbon nanotube stabilization in chitosan sponge</i>
CV	Coeficiente de variação
d.p.	Diâmetro de partícula
DL ₅₀	Dose Letal para 50% dos organismos testes
DOQ-CGCRE	Documento orientativo da Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro
d-SPE	Extração em fase sólida dispersiva, do inglês <i>dispersive solid phase extraction</i>
EC	Energia de colisão
ECD	Deteção por captura de elétrons, do inglês <i>electron capture detection</i>
EM	Efeito matriz
ESI	Ionização por eletronebulização, do inglês <i>electrospray ionization</i>
EUA	Estados Unidos da América
eV	Elétrons <i>volt</i>
FA	Fortificação na amostra
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization</i>
FPD	Deteção fotométrica de chama, do inglês <i>flame photometric detection</i>
FTD	Detector termiônico de chama, do inglês <i>flame thermionic detector</i> ;
FURG	Universidade Federal do Rio Grande

GC	Cromatografia gasosa, do inglês <i>gas chromatography</i>
GCB	Carbono grafitizado, do inglês <i>graphitized carbon black</i>
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês <i>Gas chromatography coupled to mass spectrometry</i>
GC-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês <i>gas chromatography coupled to tandem mMass spectrometry</i>
HBL	Sorvente polimérico de balanço hidrofílico-lipofílico, do inglês <i>hydrophilic-lipophilic-balance</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>high performance liquid chromatography</i>
IA	Ingrediente ativo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
kDa	Kilodalton
Koc	Constante de sorção normalizado para o teor de carbono orgânico;
LARP	Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas
LC	Cromatografia líquida, do inglês <i>liquid chromatography</i>
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês <i>liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry</i>
LMR	Limite máximo de resíduos
LOD	Limite de detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
log Kow	Coefficiente de partição octanol-água
LOQ	Limite de quantificação, do inglês <i>limite of quantification</i>
<i>m/z</i>	Razão massa carga
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MeOH	Metanol
MS	Espectrometria de massas, do inglês <i>mass spectrometry</i>
MS/MS	Espectrometria de massas em série, do inglês <i>tandem mass spectrometry</i>
N ₂	Nitrogênio
OMS	Organização Mundial da Saúde

ONU	Organização das Nações Unidas, do inglês <i>United Nations Organization</i>
PA	Padrão na amostra
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PC	Padrão de controle
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Padrão interno
pKa	Constante de dissociação ácida
ppb	Partes por bilhão
PSA	Amina primária secundária, do inglês <i>primary secondary amine</i>
Q1	Primeiro quadrupolo
Q2	Segundo quadrupolo ou cela de colisão
Q3	Terceiro quadrupolo
QqLIT	Triplo quadrupolo-linear íon trap, do inglês <i>triple quadrupole-linear ion trap</i>
QuEChERS	Rápido, fácil, econômico, robusto e seguro, acrônimo do inglês <i>quick, easy, cheap, effective, rugged and safe</i>
r ²	Coeficiente determinação
RAE	Equivalente de Atividade de Retinol, do inglês <i>Retinol Activity Equivalent</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rec	Recuperação
rpm	Rotações por minuto
RS	Rio Grande do Sul
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês <i>relative standard deviation</i>
SANTE	Saúde e Proteção do Consumidor, do francês <i>Santé et protection des consommateurs</i>
SIM	Monitoramento de íon selecionado, do inglês <i>selected ion monitoring</i>
SPE	Extração em fase sólida, do inglês <i>solid phase extraction</i>
SRM	Monitoramento de reações selecionadas, do inglês <i>selected reaction monitoring</i>
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TIC	Cromatograma de íons totais

TID	Detector de ionização termiônica, do inglês <i>thermionic ionization detector</i>
TPP	Trifenilfosfato
TQ	Triplo quadrupolo
t_R	Tempo de retenção
UE	União Europeia, do inglês <i>European Union</i>
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência, do inglês <i>ultra-high performance liquid chromatography</i>
UHPLC-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra-alta performance com espectrometria de massa em tandem, do inglês <i>ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry</i>
UV	Ultravioleta
V	<i>Volts</i>
v/v	Razão volume volume
VC	Voltagem do cone
WHO	Organização Mundial da Saúde, do inglês <i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVOS	20
1.1.1 Objetivos Específicos	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 BERINJELA.....	21
2.1.1 Produção.....	22
2.1.2 Composição nutricional e usos alimentares e fitoterápicos	25
2.1.3 Sistemas e dificuldades no cultivo e problemas fitossanitários	27
2.2 AGROTÓXICOS.....	28
2.2.1 Classificação dos agrotóxicos	30
2.2.2 Monitoramento dos resíduos de agrotóxicos em alimentos	31
2.3 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA	37
2.3.1 Método QuEChERS	43
2.3.2 Modificações na etapa de limpeza no método QuEChERS	45
2.3.2.1 Nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT–CS) como opção de sorvente na etapa de d-SPE	46
2.4 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS.....	49
2.4.1 Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS)	50
2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	52
3 MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	54
3.2 REAGENTES, SOLVENTES E DEMAIS MATERIAIS	55
3.3 COMPOSTOS SELECIONADOS E PREPARO DE SOLUÇÕES ANALÍTICAS	57
3.4 AMOSTRAS DE BERINJELA.....	63

3.5 PREPARO E UTILIZAÇÃO DO PADRÃO INTERNO (PI) E PADRÃO DE CONTROLE (PC).....	64
3.6 CONDIÇÕES CROMATOGRAFICAS DO SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA.....	66
3.6.1 Escolha da fase móvel	66
3.6.2 Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS	67
3.7 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QUECHERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA UTILIZANDO UHPLC-MS/MS.....	68
3.7.1 Testes iniciais	68
3.7.2 Avaliação de diluições dos extratos obtidos após realização da etapa de extração e o efeito matriz relacionado	69
3.7.3 Avaliação do uso de sorventes na etapa de limpeza	70
3.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA.....	74
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA	77
4.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA.....	82
4.2.1 Avaliação do método de preparo de amostras	82
4.2.2 Avaliação das diferentes diluições do extrato e o efeito matriz relacionado	87
4.2.3 Avaliação dos sorventes utilizados na etapa de limpeza do extrato	91
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO.....	99
4.3.1 Seletividade	100
4.3.2 Linearidade	101
4.3.3 Efeito Matriz	102
4.3.4 Limite de detecção e de quantificação	103

4.3.5 Exatidão e Precisão.....	104
4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO VALIDADO EM AMOSTRAS COMERCIAIS.....	110
5 CONCLUSÕES	115
REFERÊNCIAS.....	116

1 INTRODUÇÃO

Com o rápido crescimento populacional, a demanda mundial de alimentos também aumentou e, potencialmente, a necessidade do uso de agrotóxicos (KO *et al.*, 2014). A utilização de agrotóxicos de diferentes classes (herbicidas, inseticidas, fungicidas, acaricidas, entre outros) na agricultura apresenta benefícios econômicos, uma vez que asseguram o controle de pragas e doenças, ao mesmo tempo aumentando e protegendo a qualidade da produção. Por outro lado, os consumidores podem ser expostos a estes compostos através do consumo de alimentos contaminados (LEHOTAY *et al.*, 2005). Mesmo quando aplicados segundo as boas práticas agrícolas (BPA), alguns agrotóxicos podem permanecer nas culturas em concentrações residuais (MACHADO *et al.*, 2017). Assim, a presença de resíduos de agrotóxicos deve ser determinada, não devendo ultrapassar os níveis máximos estabelecidos por regulamentos nacionais e internacionais, para que se mantenha a segurança de consumo. No Brasil, existe o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), que tem como objetivo avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos. Esse controle é realizado baseado em limites máximos de resíduos (LMRs), que são estabelecidos por órgãos competentes, como a Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA). Do mesmo modo, existem o Codex Alimentarius e a União Europeia, entre outros, que também estabelecem limites máximos de resíduos. Se um resíduo excede o LMR para a cultura, existe alguma irregularidade. Produtos não autorizados também podem ser encontrados nas amostras quando é realizado algum tipo de monitoramento.

A berinjela tem despertado a atenção dos agricultores brasileiros em função do seu baixo custo de produção, rusticidade da planta e aumento da demanda no mercado. O consumo dessa olerícola vem aumentando nos últimos anos, após evidências científicas demonstrarem seu efeito medicinal e fitoterápico, sobretudo relacionado à prevenção e ao tratamento do diabetes e de problemas cardiovasculares (REIS *et al.*, 2011). Apesar de ser relativamente resistente, existe a necessidade do controle químico, uma vez que a cultura é constantemente atacada por pragas e doenças, ocasionando perdas da produção (EMBRAPA, 2022). Segundo a ANVISA (2020), para garantir o rendimento de suas lavouras, quase todo o setor produtivo considera imprescindível a utilização dos agrotóxicos. Por outro lado, os consumidores cobram cada vez mais a responsabilidade dos órgãos competentes na

análise e no monitoramento dos níveis de segurança desses produtos em alimentos (BARKAI-GOLAN, 2001). Porém, não existe uma legislação mais rigorosa e específica para o controle e monitoramento de resíduos de agrotóxicos em berinjela e devido ao constante uso de agrotóxicos nas produções agrícolas, é de suma importância o monitoramento dos níveis de segurança desses produtos neste alimentos.

Para esta finalidade, é indispensável a realização de uma etapa de preparo da amostra, para a obtenção de resultados confiáveis, visto a complexidade das matrizes, as diferentes propriedades químicas dos compostos e as baixas concentrações dos analitos. O método QuEChERS (do inglês para *Quick, Qasy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), proposto por Anastassiades e colaboradores (2003), tem sido muito utilizado para a determinação de resíduos em matrizes alimentares, devido altos percentuais de recuperação dos compostos, pela facilidade de execução, por utilizar menor quantidade de solvente orgânico, entre outras características (PRESTES *et al.*, 2009). Associadas ao preparo de amostras, é muito pertinente a utilização de técnicas de análises adequadas. O emprego da cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC) aliada à espectrometria de massas em série (MS/MS) possibilita análises com maior resolução, em menor tempo, atingindo limites mais baixos na determinação de resíduos de agrotóxicos (MALDANER; JARDIM, 2012).

1.1 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivos avaliar as diferentes versões do método QuEChERS (original, acetato, citrato) para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em berinjela utilizando o sistema UHPLC-MS/MS para as análises.

1.1.1 Objetivos Específicos

- I. Avaliar a eficiência de diferentes sorventes na etapa de limpeza dos extratos obtidos pelos métodos QuEChERS avaliados;
- II. Validar o método desenvolvido de forma a atender os parâmetros da legislação brasileira para determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela;
- III. Aplicar o método desenvolvido na determinação de agrotóxicos em amostras comerciais de berinjela provenientes de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BERINJELA

A produção de hortaliças é considerada um sistema altamente intensivo, com uso contínuo do solo, onde vários ciclos culturais podem se desenvolver em sequência na cultura, utilizando todas as estações do ano. Na prática da olericultura, geralmente o investimento é alto por área, em termos econômicos e físicos, permitindo obter elevada produtividade e rentabilidade (FILGUEIRA, 2008).

Entre as culturas hortícolas, tem-se a berinjela. Originária nas regiões tropicais do Oriente, foi introduzida no Brasil no século XVI pelos portugueses. Os árabes, os orientais (principalmente os japoneses) e seus descendentes são os maiores produtores e consumidores desta hortaliça (RIBEIRO *et al.*, 1998).

Pertencente à família *Solanaceae*, dentre as quais se destacam a batata, o pimentão e o tomate, a berinjela é botanicamente classificada como *Solanum melongena* L., sendo uma das hortaliças mais rústicas desta família. As plantas pertencentes a essa espécie exibem um porte arbustivo, com caule semi-lenhoso e ereto e atingem altura entre 100 e 180 cm (MAROUELLI *et al.*, 2014). Com característica perene, a berinjela apresenta as ramificações nas laterais bem desenvolvidas. O sistema radicular pode atingir profundidades maiores que 100 cm, embora a maioria das raízes se concentrem mais na superfície. Apresenta flores hermafroditas, ocorrendo autofecundação, sendo baixa a incidência de polinização cruzada. O fruto é uma baga carnosa, com formato ovalado ou oblongo, ligeiramente alongado, com coloração roxo-azulada, quase negra ou branca (EMBRAPA, 2022).

É considerada uma olerícola de múltiplas colheitas, devido ao seu hábito de crescimento indeterminado (KRYSCZUN, 2018). De clima tropical e subtropical, desenvolve-se melhor em regiões de clima quente, principalmente nos estágios iniciais de desenvolvimento. Os períodos de longos frios prejudicam o seu desenvolvimento, atrasando o crescimento, a floração e a frutificação da planta (RIBEIRO *et al.*, 1998).

Encontram-se no mercado brasileiro cerca de vinte cultivares de berinjela, entre híbridos e cultivares de polinização aberta. Estas cultivares diferem entre si em produtividade, formato, coloração, brilho de frutos e resistência a doenças. Os híbridos são mais plantados, devido principalmente ao alto vigor, maior produtividade,

uniformidade das plantas e frutos e maior adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (EMBRAPA, 2022).

2.1.1 Produção

Devido ao crescente consumo de alimentos saudáveis, vegetarianismo e, até mesmo, o preparo das refeições em casa, a quantidade de produtos de origem vegetal comercializada vem aumentando continuamente. Entre os anos de 2000 a 2018, houve um aumento de 50% na produção mundial de verduras, frutas e legumes. Em 2018, ano do último levantamento realizado e divulgado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), foram produzidas um total de 868 milhões de toneladas de frutas e 1.089 milhões de toneladas de legumes, com aumento significativo na produção na Ásia, especialmente no Leste Asiático, onde a China é de longe o maior produtor (FAOSTAT, 2022).

O Brasil produz cerca de 20 milhões de toneladas de hortaliças anualmente, sendo que quase a totalidade desse volume é destinada ao consumo interno de mercado (EMATER-DF, 2022). Cada dia mais os produtores estão investindo e modernizando tecnologias para a obtenção de maior produtividade, sem perder a qualidade dos produtos.

A berinjela tem despertado a atenção dos agricultores brasileiros em função do seu baixo custo de produção, rusticidade da planta e aumento da demanda no mercado. De acordo com a cultivar e as condições de cultivo, como clima, adubação e doenças, pode-se iniciar a colheita 60 dias após o transplante das mudas e perdurar por 90 dias ou mais (CECÍLIO FILHO, 2009), com uma ou duas colheitas semanais, onde a produtividade pode chegar até 100 toneladas por hectare (FILGUEIRA, 2003).

Apesar de ser uma cultura amplamente difundida e consumida pelos brasileiros, o mapeamento da produção de berinjela é ainda pouco explorado em estatísticas institucionais, o que prejudica a análise do avanço dessa cultura.

A produção mundial de berinjela e área plantada tem crescido de forma acelerada. O ano de 2018 foi o último ano abrangido pelo levantamento da FAO, que indica um total de 54.077.210 toneladas de berinjela cultivadas em mais de 1.864.555 hectares. Dessa forma, a produtividade média da cultura a nível mundial é de 29,00 t/ha (FAOSTAT, 2022). Já o dados do último levantamento feito e disponibilizado pelo

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), através do Censo Agropecuário de 2017 para a cultura da berinjela, indica que a produção nacional dessa orelícola é estimada em 72 mil toneladas ao ano, e a região Sudeste é responsável por 73% da produção brasileira. O principal estado brasileiro produtor é São Paulo, responsável por aproximadamente 39% da produção nacional, seguido pelo Rio de Janeiro (15,5%) e Minas Gerais (14,5%). A produção no estado do Rio Grande do Sul equivale a somente 1,7% da produção total brasileira, estima-se que 511 estabelecimentos produzam 1.200 toneladas de berinjela anualmente no estado (IBGE, 2017).

Apesar da inexistência de dados nacionais consistentes, existe uma perspectiva de crescimento na produção e área plantada de berinjela. Alguns fatores podem acentuar o crescimento na produção, como a utilização de híbridos com melhor desempenho, produtividade e resistência a doenças, em comparação a cultivares tradicionais. Com um manejo apropriado, cultivares híbridas adequadas, e até o uso de sistema de cultivo protegido, reduzindo os impactos do clima e de pragas sobre o desenvolvimento das plantas e frutos, é possível alcançar uma produtividade média de até 15 kg por planta (AVIZ *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2021).

A comercialização das berinjelas no mercado brasileiro ocorre, principalmente, na forma *in natura*. O consumo desta hortaliça se dá após algum tipo de tratamento térmico, como fervura em água, assadas, refogadas ou fritas. O processamento e comércio acontece, sobretudo, em pequenas empresas ou agroindústrias que transformam o produto em conservas, pastas, picles fermentados, berinjelas secas ou farinhas (EMBRAPA, 2022).

Embora a preferência de produção e consumo da berinjela seja por frutos de coloração roxo-escura e de formato mais alongado, o mercado brasileiro começa a introduzir uma diversidade de frutos de diferentes colorações, formatos e tamanhos. Como evidenciado na Figura 1, é possível encontrar variedades de formato ovalado, cilíndrico, alongado, semi-achatado e arredondado, com colorações rosas, roxo-escuras, quase pretas, roxo-claras, brancas, verdes e mescladas (zebrinas) (MAROUELLI *et al.*, 2014).

Figura 1 - Cultivares de berinjela com frutos de diferentes cores, formatos e tamanhos.



Fonte: Marouelli *et al.* (2014).

As berinjelas do tipo italiano, apresentam polpa adocicada e com poucas sementes, com frutos de formato arredondados e coloração púrpura ou rosa. As cultivares do tipo japonês ou asiática, apresentam os frutos finos e bem alongados, nas cores verde ou roxa, são cultivadas em estufas e são plantadas, principalmente, no estado de São Paulo, assim como as de coloração branca, que são raras no mercado brasileiro. Também podem ser encontradas no mercado as berinjelas *babies* e *mini*, onde os frutos são colhidos precocemente e processados na forma de conservas (MAROUELLI *et al.*, 2014).

Das diversas variedades de cultivares existentes para plantio no Brasil, o híbrido *Ciça* é mais cultivado. De acordo com a Embrapa (2007), um dos motivos é que esse híbrido é derivado do cruzamento entre espécies resistentes à doenças causadas por fungos e que causam grandes prejuízos à produção da berinjela. Por ser mais rústico, o esse cultivar diminui o custo de produção, já que necessita de um menor controle das pragas e doenças e em regiões onde não ocorre geadas, pode ser plantada e cultivada durante o ano todo.

2.1.2 Composição nutricional e usos alimentares e fitoterápicos

Quando comparada com outras hortaliças, a berinjela possui valor nutricional substancialmente inferior, com baixos teores de vitaminas, ferro e fósforo. No entanto, diversos autores classificam essa hortaliça como um alimento funcional, já que o seu fruto é rico em fibras, contribuindo para dietas alimentares que estimulam os movimentos intestinais (FILGUEIRA, 2003), ajudando no controle dos níveis plasmáticos de colesterol, emagrecimento e importante na dislipidemia (ROSA *et al.*, 2011).

O seu fruto contém alto teor de água, sendo rico em sais minerais (cálcio, fósforo, potássio e magnésio), vitaminas (A, tiamina, riboflavina e C), compostos fenólicos e saponinas, proteínas e carboidratos. Além de possuir poucas calorias, proporciona uma sensação de saciedade, sendo ideal para pratos vegetarianos. A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), apresenta o perfil de informações sobre a composição centesimal da berinjela (*Solanum melongena L.*), com casca, crua, como observado na Tabela 1.

Percebe-se nos últimos anos, um aumento significativo no consumo desta hortaliça, depois que evidências científicas apontarem seus efeitos terapêuticos e medicinais, relacionados principalmente ao tratamento e prevenção do diabetes e de problemas cardíacos (AKANITAPICHAHAT *et al.*, 2010).

Pesquisas mostram que os polifenóis da berinjela, principalmente aqueles presentes na casca, possuem grande capacidade de reduzir a absorção intestinal de glicose, reduzir a degeneração celular devido ao seu potencial antioxidante e impedindo as complicações do diabetes (KWON *et al.*, 2008). Também, a presença das antocianinas na casca, substâncias que possuem grande capacidade terapêutica no tratamento dos altos níveis de gordura na corrente sanguínea (hiperlipidemia ou dislipidemia) e auxiliam na prevenção de doenças cardiovasculares, através da inibição da peroxidação lipídica (BASUNY *et al.*, 2012). Em uma revisão da literatura, incluindo 25 artigos sobre berinjela, Gonçalves e colaboradores (2006) chegaram à conclusão de que essa olerícola, quando consumida na forma de suco com a casca, contribui para a atenuação da dislipidemia, principalmente a hipercolesterolemia (taxas elevadas de colesterol no sangue). Para compreender a redução do colesterol plasmático, alguns pesquisadores sugerem que ocorre uma ligação dos sais biliares

com algum componente específico da berinjela, como a niacina, inibindo a absorção intestinal do colesterol (JORGE *et al.*, 1998).

Tabela 1 – Tabela TBCA de composição da berinjela, com casca, crua por 100 g de parte comestível.

Composição		Teor
Umidade	(%)	93,9
Energia	(kcal)	18
Proteína	(g)	1,01
Lipídios	(g)	0,13
Colesterol	(mg)	*NA
Carboidrato total	(g)	4,57
Fibra Alimentar	(g)	2,69
Cinzas	(g)	0,42
Cálcio	(g)	12,4
Ácidos Graxos saturados	(g)	0,02
Magnésio	(mg)	15,3
Fósforo	(mg)	20,1
Ferro	(mg)	0,24
Sódio	(mg)	traços
Potássio	(mg)	201
Cobre	(mg)	0,06
Zinco	(mg)	0,12
Selênio	(mg)	0,10
Vitamina C	(mg)	3,01
Vitamina E	(mg)	0,22
Vitamina A (RAE)	(µg)	12,1
Vitamina D	(µg)	0,00
Tiamina	(mg)	0,04
Riboflavina	(mg)	0,05
Equivalente de folato	(µg)	17,4

Fonte: Adaptado de TBCA (2022). Legenda: *NA – não aplicável; RAE: Equivalente de Atividade de Retinol (do inglês *Retinol Activity Equivalent*)

As saponinas, também encontradas na berinjela, contribuem para a redução do colesterol total. Segundo Simões e colaboradores (2007), essas substâncias formam um complexo com o colesterol, aumentando sua excreção, uma vez que aumenta a eliminação fecal dos ácidos biliares, e a maior utilização de colesterol para a síntese dessas substâncias.

2.1.3 Sistemas e dificuldades no cultivo e problemas fitossanitários

Em território brasileiro, o cultivo de berinjela é tipicamente realizado em campo aberto, usando irrigação por sistemas de sulco, gotejamento ou aspersão. Preferencialmente, o sistema por aspersão é o mais utilizado, devido à berinjela ser menos suscetível às doenças da parte aérea da planta, quando comparada as outras espécies da mesma família (MAROUELLI *et al.*, 2014). Já o cultivo protegido, que é menos desenvolvido, propicia colheitas em períodos de menor oferta no mercado, já que pode ser implementado em locais e épocas desfavoráveis ao desenvolvimento dessa hortaliça (EMBRAPA, 2022).

Para o desenvolvimento, produtividade e sanidade das plantas e frutos de berinjela produzidos, é necessário realizar várias etapas de manejo do solo e da planta, que vão da sementeira até a colheita, como irrigação, tutoramento, adubação e controle fitossanitário (MAROUELLI *et al.*, 2014).

Apesar de diversos cuidados de manejo de produção da cultura e utilização de novas tecnologias, os problemas fitossanitários caracterizam um grande entrave a produção e perda da produtividade na cultura dessa olerícola. No cultivo realizado em campo aberto ou protegido, várias pragas e doenças podem acometer as plantações, como ácaros, insetos, doenças bacterianas e fúngicas, além de plantas daninhas (AZEVEDO *et al.*, 2006).

Estudos mostram que as plantas invasoras são responsáveis por 67% das perdas na produção e até 96% na qualidade de frutos para a cultura de berinjela (ARAMENDIZ-TATIS *et al.*, 2010), pois competem por nutrientes, água e por absorção da luz. Também, são hospedeiras de nematoides, insetos e outros parasitas. O controle dessas plantas invasoras pode ocorrer de forma manual, por capinas ou pela aplicação de herbicidas pré-plantio ou pós-emergência (EMBRAPA, 2007).

As pragas mais comuns associadas ao cultivo da berinjela são os ácaros e os insetos. Em relação aos insetos, são considerados pragas os percevejos sugadores que provocam murchas e apodrecimentos em frutos, as lagartas que se alimentam de folhas e caules, a mosca branca que se alimenta da seiva das plantas e os tripés que se alimentam de frutos no momento em que são formados e são os transmissores de viroses que causam perdas na produção. A pulverização com inseticidas, em diferentes etapas da produção, é indicada para controle dessas pragas (AVIZ *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2021)

Os ácaros são as principais pragas que atacam as berinjelas, infestando as folhas, as hastes e os frutos em formação. Geralmente são encontrados em grandes populações, se proliferam em altas temperaturas, baixa umidade do ar e pelo uso excessivo de inseticidas, que eliminam os insetos que se alimentam desses ácaros parasitas. O controle ocorre através de produtos químicos, através de pulverização com acaricidas (EMBRAPA, 2022).

2.2 AGROTÓXICOS

A agricultura é uma atividade econômica de extrema importância no Brasil e no mundo, incorporando várias tecnologias ao longo do tempo, principalmente com o objetivo de elevar a produtividade das culturas. Por consequência deste modelo agrícola, a dependência por insumos químicos aumenta cada vez mais (MOREIRA *et al.*, 2002). Com o aumento populacional e, conseqüentemente, aumento na demanda por alimentos, a produção agrícola teve que ser adaptada. Inicialmente, o controle e prevenção de pragas era feito através de compostos inorgânicos e orgânicos naturais e a partir da década de 1930 os compostos sintéticos começaram a ser usados para essa finalidade (NUNES *et al.*, 1999).

Historicamente, os agrotóxicos eram usados como armas químicas nas guerras mundiais. Porém, foi a partir da Revolução verde, na década de 1950, que esses compostos foram disponibilizados e ganharam um papel fundamental na produção agrícola (MOREIRA *et al.*, 2002; GERAGE *et al.*, 2017).

Foi na década de 1960, através de programas governamentais que objetivavam modernizar a agricultura e torná-la competitiva para o mercado mundial, que no Brasil começou-se a fazer uso de agrotóxicos em grandes proporções (CAMPANHOLA *et al.*, 2003), tornando-se algo comum na produção agrícola, elevando os índices de produtividade através do controle de pragas. Porém, o impacto ambiental, social e a contaminação dos alimentos por agrotóxicos exige constante monitoramento (SILVA, 2017).

No Brasil, a definição de agrotóxico é dada pela Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, conhecido como Lei dos Agrotóxicos (BRASIL, 1989) e pelo decreto nº 4.074 de 04 de janeiro de 2002 (BRASIL, 2002) que a regulamenta e definem os agrotóxicos e afins. Essas substâncias são definidas como produtos químicos ou

biológicos, usados na produção agrícola e outros ecossistemas, com o intuito de controlar pragas e doenças provocadas por vetores ou regulamento vegetativo.

A *Food and Agriculture Organization* (FAO) ou Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, uma agência da ONU criada em 1945, com o objetivo de auxiliar o combate à fome e má nutrição, e a tornar sustentáveis as atividades agrícolas pelo mundo. A FAO define agrotóxico como qualquer substância ou mistura de substâncias que tenha como objetivo prevenir, destruir ou controlar qualquer tipo de praga, incluindo espécies de plantas ou animais presentes durante a produção, estocagem, transporte, distribuição ou processamento de alimentos ou rações animais (FAO, 2005). As classes de agrotóxicos incluem inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, reguladores de crescimento, fumigantes, nematicidas, dissecantes, entre outros.

O Brasil é considerado o maior consumidor de agrotóxicos mundial desde 2008. Enquanto em outros países a diminuição no uso de agrotóxicos é gradativa, no Brasil ela cresce ano após ano. Entre 2009 e 2020 foram comercializadas 6.087.394,82 de toneladas de agrotóxicos no território nacional, sendo que, dos 428 ingredientes ativos disponíveis, o herbicida glifosato foi o mais vendido, chegando a marca de mais de 2,15 milhões de toneladas nestes 12 anos de levantamento de dados (IBAMA, 2022). Dentre os agrotóxicos autorizados, dez ingredientes ativos (IA) corresponderam por cerca de 63% do total consumido, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Ingredientes ativos mais comercializados no Brasil, entre os anos de 2009 a 2020, por tonelada.

Ranking	Ingrediente ativo (IA)	Vendas (t IA)
1º	Glifosato	2.146.175
2º	2,4-D	478.287
3º	Mancozebe	274.722
4º	Atrazina	271.296
5º	Acefato	234.769
6º	Dicloreto de paraquate	101.726
7º	Clorpirifós	95.465
8º	Imidacloroprido	86.192
9º	Diurom	82.263
10º	Clorotolanil	81.316

Fonte: Adaptação IBAMA (2020). Legenda: IA: ingrediente ativo.

O levantamento feito através dos dados do Painel de Informações sobre a Comercialização de Agrotóxicos e Afins no Brasil (IBAMA, 2022), mostram que muitos dos IA amplamente empregados no Brasil (Tabela 2) são proibidos na União Europeia (UE). A atrazina, que ocupa o quarto lugar no *ranking* de agrotóxico mais vendido no Brasil é proibido na UE desde 2004, assim como o acefato, quinto na lista de comercialização, é proibido desde 2003. Na sexta posição, está o dicloreto de paraquate, que desde 2007 é proibido pela UE, porém só foi proibido no Brasil em 22 de setembro de 2020. Ainda desta lista, o clorpirifós e o imidaclorprido foram proibidos pela UE em 2020 e 2018, respectivamente, porém em território brasileiro é autorizado sua utilização e comercialização (ANVISA, 2022a).

2.2.1 Classificação dos agrotóxicos

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o propósito básico de classificar os agrotóxicos, é diferenciar os de maior e de menor periculosidade, tendo em vista a uniformidade das informações descritas nos rótulos dos produtos, que identificam os perigos que esses produtos possam ocasionar (GARCIA *et al.*, 2008).

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com o grau de periculosidade aos seres humanos e de acordo com resultados de testes e estudos realizados em laboratório, com o objetivo de estabelecer toxicidade oral, cutânea e inalatória para 50% dos organismos (DL50). A Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019 da ANVISA, classifica os agrotóxicos em 5 categorias distintas, de acordo com as cores dos rótulos (ANVISA, 2019b), conforme a Tabela 3.

Outra forma de classificação dos agrotóxicos, é de acordo com a finalidade ou modo de ação do IA no organismo alvo. De acordo com De Oliveira e colaboradores (2013), eles podem ser: inseticidas (têm ação letal em insetos), fungicidas (com ação sobre fungos, incluindo ferrugem e bolores), herbicidas (ação de controle às plantas consideradas daninhas ou invasoras), bactericidas (ação de controle em bactérias), acaricidas (ação em ácaros parasitas), desfolhantes (em contato com as plantas, induzem a queda prematura das folhas), fumigantes (ação promovida por meio de gases), rodenticidas/raticidas (ação letal em roedores), nematocidas (ação em nematoides parasitas), entre outros.

Tabela 3 - Classificação em função da toxicidade aguda dos agrotóxicos, categorias e cores nas faixas do rótulo dos produtos.

Categoria	Toxicidade	Descrição	Rótulo
1	Extremamente tóxico	Fatal se ingerido, em contato com a	Vermelho
2	Altamente tóxico	pele ou inalado	
3	Moderadamente tóxico	Causa intoxicação se ingerido, em contato com a pele ou inalado	Amarelo
4	Pouco tóxico	Nocivo se ingerido, em contato com a pele o inalado	Azul
5	Improvável de causar dano agudo	Pode ser perigoso se ingerido, em contato com a pele ou inalado	
6	Não classificado	Sem riscos ou recomendações	Verde

Fonte: Adaptação ANVISA (2019b).

Ainda, os agrotóxicos podem ser classificados pelo modo de ação, como de contato ou sistêmico. Os de contato atuam nas partes externas da planta, embora também possa ser absorvido pelas partes internas. Já os sistêmicos, tem seu modo de ação no interior das folhas e polpas (ANVISA, 2020).

Apesar dos agrotóxicos serem de fácil aplicabilidade e produzem resultados imediatos, o uso intensivo ou de forma incorreta tem provocado grandes impactos negativos ao meio ambiente e, até mesmo, aos alimentos produzidos. Mas quando são aplicados com cuidado e de forma correta, tornam-se grandes aliados na produção agrícola.

2.2.2 Monitoramento dos resíduos de agrotóxicos em alimentos

Desde que os agrotóxicos foram introduzidos na agricultura para o auxílio no controle de pragas e doenças, igualmente existiu a preocupação da presença de resíduos nos alimentos. Mas somente nos últimos anos, com a introdução de novas tecnologias laboratoriais, que permitem a avaliação das características e qualidades dos alimentos que são consumidos pela população, que foi iniciada uma política de monitoramento desses produtos.

No Brasil, existem três órgãos que são responsáveis pela aprovação, monitoramento, avaliação e registro dos agrotóxicos. É de responsabilidade da ANVISA, órgão vinculado ao Ministério da Saúde, a análise de riscos e avaliação toxicológica de resíduos de agrotóxicos. O Ministério do Meio Ambiente, delega a função para o IBAMA, órgão responsável pela avaliação do potencial de periculosidade ambiental desses produtos no país. Já o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), se responsabiliza em avaliar a eficiência e a praticabilidade agronômica.

A concentração máxima que um agrotóxico pode estar presente em um alimento é denominado de Limite Máximo de Resíduo (LMR), sendo expresso em mg kg⁻¹. Esses limites são definidos por instituições internacionais como o Codex Alimentarius e European Commission, já no Brasil é a ANVISA que estabelece esses limites. Os valores de LMR no Brasil são definidos por meio de estudos supervisionados de campo, que partem da utilização de quantidades mínimas de agrotóxicos, a fim de atender a eficiência agrícola necessária. O objetivo é garantir que a quantidade de resíduo no alimento seja a menor possível, desde que represente a Boa Prática Agrícola permitida. Os estudos de campo, realizados em território nacional, são encaminhados à ANVISA pelas empresas requerentes do registro do produto ou da inclusão de culturas agrícolas. Nesses ensaios deverá ser utilizado o agrotóxico que se pretende registrar ou incluir cultura, visando o efetivo controle do problema de pragas ou ervas daninhas. Uma vez aprovada pela ANVISA, a forma de aplicação do agrotóxico (doses, número de aplicações, etc.) será disponibilizada na bula do produto formulado, constituindo a base para as Boas Práticas Agrícolas do agrotóxico comercializado (ANVISA, 2020).

A criação do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), no ano de 2001 pela ANVISA, tem possibilitado o monitoramento dos níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos que chegam à mesa do consumidor brasileiro. Desde sua criação, já foram analisadas mais de 35 mil amostras referentes a 28 matrizes de origem vegetal, buscando identificar, através de análises multiresíduo, os agrotóxicos presentes nos alimentos, sua autorização para a cultura e se estão de acordo com os LMRs permitidos pela ANVISA.

O último relatório apresentado pelo PARA (ANVISA, 2019a), realizado no período 2017-2018, apresenta os dados de análise de 4.616 amostras de 14 diferentes alimentos de origem vegetal, representativos na dieta dos brasileiros,

oriundos de 77 municípios. Entre os alimentos analisados estão: abacaxi, alface, alho, arroz, batata-doce, beterraba, cenoura, chuchu, goiaba, laranja, manga, pimentão, tomate e uva. Em relação aos 270 agrotóxicos pesquisados neste mesmo programa, foram consideradas satisfatórias 77% das amostras, onde 49% não foram detectados resíduos, 28% tiveram resíduos com concentrações iguais ou inferiores ao LMR, estabelecido pela ANVISA. Já, 23% das amostras estavam acima do LMR, porém os alimentos foram considerados seguros, já que somente 0,89% deles apresentavam compostos com risco pontencial à saúde dos consumidores.

Embora a cultura da berinjela possua grande tolerância à doenças e pragas, ela pode ser afetada severamente por doenças fúngicas e insetos. O controle químico é geralmente usado com grande eficiência no combate dessas doenças. No Brasil, são registrados 51 princípios ativos para a cultura de berinjela e a maioria dos agrotóxicos permitidos são fungicidas e inseticidas. A Tabela 4 apresenta os LMR estabelecidos para a cultura da berinjela pela ANVISA, pela União Europeia e pelo Codex Alimentarius, bem como o grupo químico e a classe funcional de cada composto. Os LMRs estabelecidos pela legislação brasileira encontram-se em uma faixa de 0,01 a 2 mg kg⁻¹.

Tabela 4 - Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de berinjela – Limite Máximo de Resíduo (LMR), mg kg⁻¹ estabelecidos de acordo com a ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius.

(continua)

	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
1	Abamectina	Avermectina	Acaricida/Inseticida/Nematicida	0,02	0,09	0,05
2	Acetamiprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,70	0,2	-
3	Alfa-Cipermetrina	Piretróide	Inseticida	0,02	0,5	0,03
4	Azoxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,05	3,0	-
5	Beta-ciflutrina	Piretróide	Inseticida	0,20	0,1	0,2
6	Bifentrina	Piretróide	Inseticida, formicida e acaricida	0,30	0,3	0,3
7	Boscalida	Anilida	Fungicida	0,50	3,0	-
8	Buprofezina	Tiadiazinona	Acaricida/Inseticida	0,50	0,01*	-
9	Casugamicina	Antibiótico	Bactericida/Fungicida	0,05	-	-
10	Ciantraniliprole	Antranilamida	Inseticida	0,03	1,0	-
11	Cimoxanil	Acetamida	Fungicida	0,10	0,3	-
12	Cletodim	Oxima Ciclohexanodiona	Herbicida	0,50	0,5	-
13	Clorantraviliprole	Antranilamida	Inseticida	0,30	0,6	-
14	Clorotalonil	Isoftalonitrila	Fungicida	1,00	0,01*	-
15	Cresoxim-Metílico	Estrobilurina	Fungicida	0,05	0,6	-
16	Deltametrina	Piretróide	Formicida/Inseticida	0,03	0,4	-
17	Diafentiurom	Feniltiouréia	Acaricida/Inseticida	0,30	-	-
18	Difenoconazol	Triazol	Fungicida	0,05	0,6	-
19	Dimetomorfe	Morfolina	Fungicida	0,20	1,0	-
21	Espinetoram	Espinósinas	Inseticida	0,50	0,05	-

Tabela 4 - Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de berinjela – Limite Máximo de Resíduo (LMR), mg kg⁻¹ estabelecidos de acordo com a ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius.

(continuação)

	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
22	Espiromesifeno	Cetoenol	Acaricida/Inseticida	0,70	0,5	0,7
23	Etofemproxi	Éter difenílico	Inseticida	0,70	0,01*	-
24	Fenamidona	Imidazolinona	Fungicida	0,20	0,01*	-
25	Fenpiroximato	Pirazol	Acaricida	0,10	0,3	-
26	Fenpropatrina	Piretróide	Inseticida e acaricida	0,20	0,01*	-
27	Fluazinam	Fenilpiridinilamina	Acaricida/Fungicida	0,07	0,01*	-
28	Fluopicolide	Benzamida	Fungicida	0,20	1,0	-
29	Flupiradifurone	Butenolida	Inseticida	0,60	1,0	-
30	Flutriafol	Triazol	Fungicida	0,20	0,01*	-
31	Fluxaproxade	Carboxamida	Fungicida	0,10	0,6	-
32	Formetanato	Metilcarbanato de fenila	Inseticida e acaricida	1,00	0,3	-
33	Imidacloprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,50	0,3	0,2
34	Indoxacarbe	Oxadiazina	Inseticida	0,05	0,5	0,5
35	Lambda-cialotrina	Piretróide	Inseticida	0,20	0,3	-
36	Malationa	Organofosforado	Acaricida/Inseticida	0,50	0,02*	-
37	Mancozebe	Alquilenobis (Ditiocarbamato)	Acaricida/Fungicida	0,50	3,0	-
38	Oxatiapirolina	Piperidinil tiazol isoxazolina	Fungicida	0,01	0,4	-
39	Piraclostrobina	Estrobilurina	Fungicida	1,00	0,3	0,3
40	Piridabem	Piridazinona	Acaricida/Inseticida	0,50	0,15	-
41	Pirimetanil	Anilinopirimidina	Fungicida	1,00	1,0	-

Tabela 4- Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de berinjela – Limite Máximo de Resíduo (LMR), mg kg⁻¹ estabelecidos de acordo com a ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius.

(conclusão)						
	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
42	Piriproxifem	Éter Piridiloxipropílico	Inseticida	0,20	1,0	0,6
43	Propamocarbe	Carbamato	Fungicida	2,00	4,0	0,3
44	Tebuconazol	Triazol	Fungicida	0,20	0,4	0,1
45	Teflubenzurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,15	1,5	-
46	Tiacloprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,10	0,7	0,7
47	Tiametoxam	Neonicotinóide	Inseticida	0,03	0,01*	-
48	Tiofanato-Metílico	Benzimidazol (Precursor de)	Fungicida	0,05	2,0	-
49	Trifloxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,10	0,7	0,7
50	Trifluralina	Dinitroanilina	Herbicida	0,05	0,01*	-
51	Zoxamida	Benzamida	Fungicida	0,10	0,02*	-

Fonte: Adaptação de ANVISA (2022a); EU (2022); FAO (2022). Legenda: *Limite mínimo de determinação analítica.

2.3 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA

É de grande relevância a determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes alimentares e ambientais, dados os impactos que o uso de agrotóxicos oferecem a saúde humana e ao meio ambiente, bem como a averiguação do cumprimento da legislação e limites máximos estabelecidos.

Determinar resíduos de agrotóxicos em alimentos é uma tarefa árdua, devido à alta complexidade das matrizes, às propriedades físico-químicas distintas dos analitos e às baixas concentrações dos compostos a serem analisados nestas matrizes. Os avanços significativos dos últimos anos nas técnicas analíticas permitiram a determinação rápida e síncrona de múltiplos analitos com baixos limites de detecção. Contudo, a etapa de preparo de amostra continua sendo imprescindível para a obtenção de bons resultados, visando a disposição dos analitos como garantia de representatividade como um todo (PRESTES *et al.*, 2009; LAMBROPOULOU; ALBANIS, 2007).

A primeira etapa de uma análise química é o preparo de amostras, e tem como objetivo preparar a amostra através de um tratamento conveniente com as suas características, tendo em vista a sua preparação para as etapas seguintes (ARRUDA; SANTELLI, 1997), com a pretensão de obter os melhores resultados, no menor tempo, com mínima contaminação e baixo consumo de reagentes.

O preparo da amostra tem por finalidade propiciar a extração do analito no seu estado mais puro possível e remover o máximo possível dos interferentes da matriz, já que a presença de interferentes e a perda de analitos nesta etapa crítica podem influenciar o resultado final da análise e afetar a identificação e a quantificação dos analitos. Portanto, se o procedimento de extração for realizado de forma incorreta, parte do analito permanecerá na matriz, levando a eventuais erros de determinação final (MARTIN-ESTEBAN; HERNANDO, 2006; PRESTES *et al.*, 2009).

É importante observar que o preparo das amostras é indispensável, porém é a mais crítica dentre as operações analíticas, além de tempo, custo elevado e altas quantidades de resíduos gerados. Sendo assim, o aperfeiçoamento de métodos com elevada precisão e exatidão, boa sensibilidade e seletividade e baixo consumo de solventes é imprescindível (PRESTES *et al.*, 2009).

Várias técnicas são utilizadas para a extração de resíduos e contaminantes orgânicos em alimentos. O primeiro método foi desenvolvido por Mills e colaboradores na década de 1960, para a determinação de compostos organoclorados apolares em amostras não gordurosas, e a extração sendo realizada com acetonitrila. Em 1975 o método Luke foi desenvolvido para extração de compostos mais polares, onde a extração é realizada utilizando acetona, seguida de uma partição líquido-líquido com solventes apolares e, ainda, a adição de cloreto de sódio na fase aquosa para aumentar os percentuais de recuperação dos compostos (FIGUEIREDO *et al.*, 2015; PRESTES *et al.*, 2009). No entanto, esses métodos possuíam muitas etapas, alto custo e utilizavam grandes quantidades de solventes, o que os tornavam insustentáveis e aumentavam a possibilidade da ocorrência de erros.

Ao longo dos anos, vários métodos de preparo de amostra foram desenvolvidos, com o intuito de simplificar as etapas, diminuir o volume de solvente utilizado e com a adição de etapas de limpeza dos extratos da amostra, possibilitando o aumento na porcentagem de recuperação dos analitos. Sendo assim, em 2003, Anastassiades e colaboradores desenvolveram um método de preparo de amostras que pode ser muito utilizado em diversos tipos de matrizes complexas para a extração de agrotóxicos e fármacos. Denominado de método QuEChERS, do acrônimo em inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), provou ser um método eficaz e conveniente para a análise multirresíduo (PERESTRELO *et al.*, 2019). Além do mais, conforme a literatura, este e outros métodos podem ser utilizados na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela, conforme a Tabela 5, a seguir.

Tabela 5 – Revisão dos métodos de preparo de amostra e condições cromatográficas empregadas na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela e outras matrizes de origem vegetal.

(continua)

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
7 organofosforados	Berinjela	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/30s) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (vórtex/1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/30s) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)	GC-FTD	AKTAR <i>et al.</i> , 2017
17 organoclorados, 5 piretróides e 3 organofosforados	Vegetais, rações de peixes e peixes	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (1min) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (vórtex/1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 50 mg PSA + 50 mg GCB -> agitação -> centrifugação (10000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> evaporação (N ₂) -> reconstituição -> 1 mL MePh	GC-MS	RAHMAN <i>et al.</i> , 2021
3 organofosforados, 2 piretróides, 3 neonicotinóide, 1 oxadiazina, 1 dimetilcarbamato, 1 estrobilurina, 1 triazol e 1 carbamato	Berinjela	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/30s) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato + 1 gota MePh -> evaporação (N ₂) 30°C -> reconstruído 100 µL MeOH + 900 µL FM	LC/ESI-MS/MS	PRODHAN <i>et al.</i> , 2015
7 organofosforados	Berinjela	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/1min) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)	GC-FTD	ISLAM <i>et al.</i> , 2019
30 compostos: multirresíduo	Berinjela e tomate	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN 1% ác. acético -> agitação (vortex/30s) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl + 0,5 g C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O + 1 g C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O -> agitação (vórtex/1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: tomate: 1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA + 2,5 mg GCB ou berinjela: 1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA -> agitação (vórtex/30s) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> evaporação (N ₂) -> reconstituição -> 1 mL MePh	GC-MS	ALI <i>et al.</i> , 2020

Tabela 5 - Revisão dos métodos de preparo de amostra e condições cromatográficas empregadas na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela e outras matrizes de origem vegetal.

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
7, organofosforados	Berinjela e couve-flor	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/1min) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/30s) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)	GC-FTD	ALAM <i>et al.</i> , 2022
127 compostos multiclasse	Hortaliças, vegetais e leguminosas	QuEChERS: 2 g de amostra + 2 mL de ACN -> agitação (vortex/1min) -> 1,2 g de MgSO ₄ + 0,3 g de NaCl + 10 mg Fe ₃ O ₄ -PSA + 10 mg GCB -> agitação (1 min) -> separação sob campo magnético externo/30s (ímã fora do tubo) 0,6 mL sobrenadante + 0,6 mL água -> filtração (0,2 µm)		LC-MS/MS	QI <i>et al.</i> , 2021
		QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/1min) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/3 min)	d-SPE: 1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 50 mg PSA + 50 mg C18 -> agitação (1min) -> centrifugação (5000 rpm/3 min) 0,5 mL sobrenadante + 0,5 mL água -> filtração (0,2 µm)		
12 compostos multiclasse	Berinjela	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/30s) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (1957 xg/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/30s) -> centrifugação (1252 xg/5 min) -> 1 mL extrato + 1 gota MePh -> evaporação (N ₂) 30°C -> reconstruído 100 µL MeOH + 900 µL FM	LC-MS/MS	PRODHAN <i>et al.</i> , 2018
20 compostos, organofosforados, organoclorados e piretróides	Berinjela, choy sum e feijão	QuEChERS: 10 g de amostra + 20 mL de ACN 1% ác. acético -> agitação (manualmente/1min + vortex/1min) -> 5 g de MgSO ₄ + 1,5 g de NaCl -> agitação (1 min) -> centrifugação (2500 g/1 min)	SPE: sobrenadante + 3 g de MgSO ₄ -> agitação (1min) -> centrifugação (2500 g/1 min) -> sobrenadante -> pipeta com 200 mg PSA -> lavado com solvente SPE: sobrenadante + 3 g de MgSO ₄ -> agitação (1min) -> centrifugação (2500 g/1 min) -> sobrenadante -> pipeta com 200 mg gel de sílica -> lavado -> eluição 2 mL de hexano:diclorometano (4:1) e 2 mL de hexano:diclorometano (1:1)	Organofosforados /GC-FPD Organoclorados e piretróides / GC-ECD	CHAI <i>et al.</i> , 2012

(continuação)

Tabela 5 – Revisão dos métodos de preparo de amostra e condições cromatográficas empregadas na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela e outras matrizes de origem vegetal.

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
10 pesticidas quirais	Berinjela, morango, alho-poró, feijão-caupi e tomate	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> homogeneizador cerâmico -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl + 0,5 g C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O + 1 g C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O -> agitação (manual/1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/4 min)	Baixo teor de pigmento: d-SPE: 6 mL sobrenadante + 900 mg MgSO ₄ + 150 mg PSA -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)	UHPLC-QqLIT	HE <i>et al.</i> , 2015
			Alto teor de pigmento: d-SPE: 6 mL sobrenadante + 885 mg MgSO ₄ + 150 mg PSA + 15 mh GCB -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)		
11 compostos: organofosforados e organoclorados	Berinjela crua, cozida e assada	50 g de amostra + 5-10g de Na ₂ SO ₄ (liquidificador) -> 100 mL acetona -> agitador mecânico (1h) -> filtração -> concentração até 40 mL -> partição líquido-líquido acetato de etila (50, 30, 20 ml) -> diluição (4-5x) 100 ml solução aquosa NaCl 10% -> concentração fase orgânica até 10ml (rotaevaporador) -> extrato dividido em duas partes	OC: cromatografia em coluna -> coluna (60cm x 22mm) empacotada florasil + carvão ativado (5:1) entre duas camadas Na ₂ SO ₄ -> eluição 125 ml acetato de etilo:hexano (3:7) -> concentração (evaporador rotativo) para 2 ml	GC-ECD	THANKI <i>et al.</i> , 2012
			OP: cromatografia em coluna -> coluna (60cm x 22mm) empacotada gel de sílica + carvão ativado (5:1) entre duas camadas Na ₂ SO ₄ -> eluição 125 ml acetona:hexano (3:7) -> concentração (evaporador rotativo) para 2 ml	GC-TID	
18 organoclorados	6 classes de vegetais	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação -> 6 g de MgSO ₄ + 1,5 g Na ₂ SO ₄ -> agitação (vortex/3 min) -> centrifugação (5.000 rpm/10 min)	d-SPE: sobrenadante + 1200 mg MgSO ₄ + 400 mg PSA -> agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (5000 rpm/10 min) -> extrato + evaporação (N ₂) -> reconstruído 1 mL ACN	LC-MS/MS	SINHA <i>et al.</i> , 2012
7 organofosforados	Berinjela e pepino	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação (vortex/30s) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (1 min) -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 3 mL sobrenadante + 600 mg MgSO ₄ + 120 mg PSA -> agitação (vortex/30s) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtração (0,2 µm)	GC-FTD	PARVIN <i>et al.</i> , 2021

(continuação)

Tabela 5 - Revisão dos métodos de preparo de amostra e condições cromatográficas empregadas na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela e outras matrizes de origem vegetal.

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
3 inseticidas neonicotinóides	Hortaliças e frutas	20 g de amostra + 100 mL ACN -> homogenização (Polytron/2 min) -> filtração (papel) -> extrato + 5 g de NaCl -> agitação (vortex/1 min)	50 mL de extrato -> evaporação total -> 4 ml acetona + 4 mL hexano -> cartucho (10 mL) PSA -> eluição 5 mL acetona/hexano (1:1) -> evaporação total -> dissolvida 2 mL de acetona/hexano (3:7) -> cartucho de sílica gel -> lavado com acetona/hexano 3:7 (10 mL) -> eluição descartada -> eluição 10 mL acetona/hexano (4:6) para acetamiprida e imidacloprida -> eluição 20 mL acetona para nitenpiram.	HPLC-UV	OBANA <i>et al.</i> , 2002

Fonte: A autora (2022). Legenda= OC: organoclorados; OP: organofosforados; ACN: acetonitrila; FM: fase móvel; MePh: tolueno; PSA: amina primária-secundária; d-SPE: extração em fase sólida dispersiva; SPE: extração em fase sólida; ECD: Detecção por captura de elétrons (do inglês *electron capture detection*); FID: Detecção por ionização de chama (do inglês *flame ionization detection*) FTD: Detector termiônico de chama (do inglês *flame thermionic detector*); TID: Detector de ionização termiônica (do inglês *thermionic ionization detector*); QqLIT: Triplo quadrupolo-linear íon trap (do inglês *triple quadrupole-linear ion trap*); FPD: Detecção fotométrica de chama (do inglês *flame photometric detection*);

2.3.1 Método QuEChERS

Publicado pela primeira vez em 2003, o método QuEChERS foi originalmente desenvolvido para suprir as limitações dos outros métodos multirresíduo de extração de agrotóxicos em frutas e vegetais que existiam na época e apresentou bons resultados de exatidão e precisão para uma grande variedade de agrotóxicos (ANASTASSIADES *et al.*, 2003).

Originalmente, o método utiliza um solvente polar (acetonitrila), sais para promover o efeito *salting out* (NaCl) e sais secantes (MgSO₄) e uma etapa de limpeza realizada por dispersão em fase sólida (d-SPE, do inglês *dispersive solid phase extraction*), com o objetivo de aumentar a recuperação de agrotóxicos polares. A principal vantagem da utilização de acetonitrila como solvente extrator, é a inclusão de pesticidas de diferentes polaridades, com menor extração de compostos lipofílicos, como pigmentos e gorduras (GONZÁLEZ-CURBELO *et al.*, 2015; BORGES *et al.*, 2015) além de promover, juntamente com os sais, a separação da fase orgânica e aquosa, tornando-a uma técnica rápida, econômica e que permite a diluição do extrato final, caso necessário. Além disso, é apropriada tanto para cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) quanto para cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*), ambas acopladas à espectrometria de massas em série (MS/MS, do inglês *tandem mass spectrometry*) (PRESTES *et al.*, 2011).

Para o favorecimento de recuperações de analitos polares, é realizada a etapa de partição com cloreto de sódio (NaCl), responsável por promover o efeito *salting out*. Ocorre a interação entre sal e água, promovendo a solvatação dos íons, diminuindo as ligações da água com outras substâncias e, conseqüentemente, reduzindo a solubilidade dos compostos polares na fase aquosa e a quantidade de água na fase orgânica (STAHN, 2000; PRESTES *et al.*, 2011). A adição do NaCl, juntamente com o sulfato de magnésio (MgSO₄) favorece a extração dos compostos apolares, devido a predisposição do MgSO₄ em remover água, promovendo uma reação exotérmica entre 40 e 45 °C, durante a etapa de extração/partição (ANASTASSIADES *et al.*, 2003; REYNOLDS, 2005; PRESTES *et al.*, 2009). Porém, o aumento na temperatura desta etapa pode afetar a eficiência de recuperação de analitos termolábeis, pois alguns podem se degradar devido à reação exotérmica produzida (PERESTRELO *et al.*, 2019).

Para evitar que co-extrativos possam afetar a confiabilidade dos resultados e garantir uma melhor eficiência, a etapa de limpeza se torna fundamental. O uso do $MgSO_4$ nesta etapa propicia a remoção da água ainda presente no extrato e a partição da matriz (BRUZZONITI *et al.*, 2014). Já a amina primária-secundária (PSA, do inglês *primary secondary amine*), através do seu efeito quelante, retêm os compostos polares e os ácidos graxos presentes na matriz (PRESTES *et al.*, 2011).

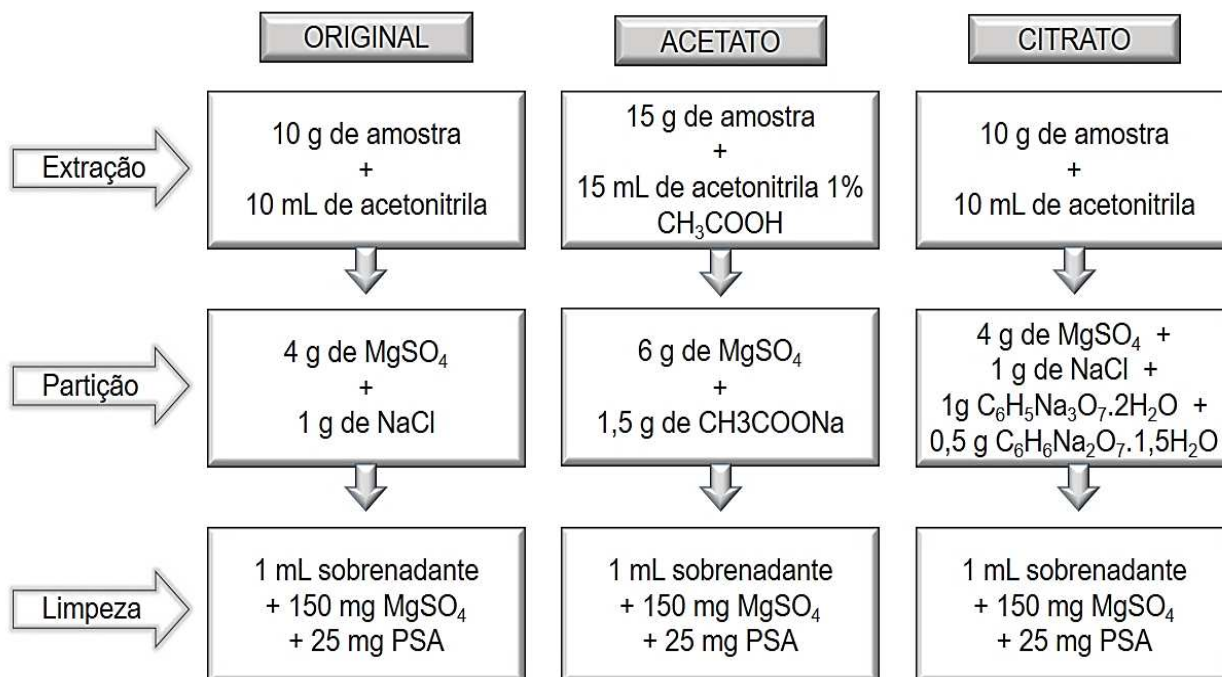
A execução e a instrumentação deste método são muito simples, além de consumir menores volumes de solvente quando comparado a outros métodos, apresentando ótimos resultados para diversos tipos de matrizes (LEHOTAY *et al.*, 2005). No geral, a maioria dos agrotóxicos apresentam boa estabilidade em uma ampla faixa de pH. Porém, alguns compostos apresentam baixos percentuais de recuperações em pH menores, pois se encontram em sua forma protonada e solubilizados na fase aquosa, não sendo recuperados na etapa de partição, sendo essenciais modificações no método QuEChERS original para aumentar a recuperação destes compostos (BANDEIRA *et al.*, 2014; ZANELLA *et al.*, 2015; CABRERA *et al.*, 2012; PRESTES *et al.*, 2011).

Buscando melhorar os percentuais de recuperação de agrotóxicos que geralmente apresentam problemas de estabilidade, Lehotay e colaboradores (2005), realizaram uma etapa de tamponamento no método original. O QuEChERS acetato foi desenvolvido utilizando acetonitrila acidificada com 1% de ácido acético (CH_3COOH) e acetato de sódio (CH_3COONa) substituindo o cloreto de sódio na etapa de partição, promovendo o efeito tamponante (pH 4,8), reconhecido pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) como método oficial para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos (AOAC, 2007; LEHOTAY *et al.*, 2005; PRESTES *et al.*, 2011)

O método QuEChERS citrato foi desenvolvido em 2007, por Anastassiades e colaboradores. Este método utiliza uma mistura de citrato de sódio diidratado ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) e hidrogenocitrato sesquihidratado ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1,5H_2O$) como responsáveis pelo efeito de tamponamento (pH 5,0- 5,5). Este método foi adotado pelo *European Committee for Standardization* (CEN), como método de referência na União Europeia (CEN, 2008; PRESTES *et al.*, 2011).

A Figura 2 mostra as três versões do método QuEChERS, detalhando as massas e volumes utilizados de amostra, de solventes, de sais e de sorventes utilizados.

Figura 2 – Método QuEChERS, original, acetato e citrato.



Fonte: Adaptado de PRESTES *et al.* (2011).

2.3.2 Modificações na etapa de limpeza no método QuEChERS

Por ser muito versátil, o método QuEChERS permite que diversas modificações sejam realizadas para determinação de resíduos de vários compostos em diversos tipos de matrizes, que sejam adequadas à natureza química dos analitos e as técnicas cromatográficas utilizadas. Entre as alterações, destacam-se os sorventes empregados na etapa de limpeza. A técnica d-SPE foi desenvolvida simultaneamente com o método QuEChERS e propicia menor quantidade de interferentes no extrato final, utilizando pequenas quantidades de solventes e sorventes. Além disso, a versatilidade desta técnica permite utilizar sorventes de diversas características, dependendo do analito de interesse e do tipo de matriz trabalhada. A maior parte dos sorventes comercializados, consistem em grupos orgânicos ligados quimicamente à sílica (ZANELLA *et al.*, 2015; CABRERA *et al.*, 2012; PRESTES *et al.*, 2009).

A amina primária secundária (PSA, do inglês *Primary Secondary Amine*) é um trocador aniônico que interage através de ligações de hidrogênio ou dipolo-dipolo. Em razão dos grupos amino na sua estrutura, apresenta elevado efeito quelante e, assim, promove forte interação com os componentes da matriz, removendo os coextrativos

interferentes, como ácidos graxos livres, açúcares, pigmentos e de outros compostos polares presentes na matriz, podendo entretanto remover analitos de interesse, interferindo no resultado da análise (ZANELLA *et al.*, 2015; WILKOWSKA, BIZUK, 2011).

O octadecilsilano (C18) é um sorvente bastante utilizado, principalmente, em matrizes que contém gordura, a fim de remover substâncias graxas e lipídios. Possui grande capacidade de remoção de interferentes apolares, além de possuir o mais amplo espectro de retenção entre os sorventes de sílica ligados (CABRERA *et al.*, 2012).

Ainda pode ser utilizado o carvão ativado ou o carbono grafitizado (GCB, do inglês *graphitized carbon black*), como sorvente para a redução do teor de pigmentos contidos em extratos de amostras vegetais. Eles possuem uma grande área superficial, com grupos altamente polares, formando ligações de hidrogênio e, conseqüentemente, retendo analitos planares com um ou mais grupos ativos em suas estruturas, interferindo também na recuperação destes compostos (KOESUKWIWAT *et al.*, 2010; HENNION, 2000).

Também, na etapa de d-SPE podem ser utilizados ainda sorventes poliméricos com características lipofílicas e hidrofílicas, com grande área superficial e capacidade para extração de compostos ácidos, neutros e básicos, favorecendo a extração dos analitos, como Oasis[®] HLB, Strata[®] X, Strata[®] SDB-L, Supel[™] QuE Z-Sep+ e Bond Elut Nexus (BROUSMICHE *et al.*, 2008; CAÑAS *et al.*, 2012).

Biopolímeros renováveis também podem ser empregados como sorvente. A quitosana é produzida através da desacetilação da quitina sob altas temperaturas, cujas propriedades dependem grandemente de seu grau de desacetilação (CANELLA; GARCIA, 2001), podendo aumentar sua capacidade de adsorção através de reações químicas (DOTTO *et al.*, 2011).

2.3.2.1 Nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT-CS) como opção de sorvente na etapa de d-SPE

A utilização da quitosana na etapa de limpeza no método QuEChERS é uma interessante opção aos sorventes que são tradicionalmente utilizados. Do ponto de vista químico, apresenta características como a formação de ligações de hidrogênio e

em meio ácido, devido a sua protonação, como um biopolímero catiônico, interage por atração eletrostática, além de possuir propriedades quelantes e complexantes. Também, possui baixo custo e grande disponibilidade, suscetíveis a alterações químicas para aumentar sua capacidade de adsorção, sendo também interessante do ponto de vista econômico. É produzida através da desacetilação da quitina, por um processo de alcalinização sob altas temperaturas (ARIAS *et al.*, 2017; DOTTO *et al.*, 2011). Em condições de pH ácido, ela se encontra protonada, e a interação ocorre via atração eletrostática. Além disso, a presença de grupamentos amino na quitosana possibilita a interação através da formação de ligações de hidrogênio (RINAUDO, 2006; DOTTO *et al.*, 2011).

Já a utilização de nanotubos de carbono para adsorção de compostos tem sido de grande interesse, pois estes materiais possuem estruturas altamente porosas e ocas e uma grande área de superfície quimicamente ativa. Dentre suas características, geram dipolos induzidos, resultando na adsorção de espécies orgânicas por interações de *Van Der Waals* (LIAO *et al.*, 2014). Os nanotubos possuem a superfície hidrofóbica, com capacidade de remover componentes da matriz, como açúcares, ácidos graxos e pigmentos. No caso dos nanotubos de paredes múltiplas, composto de multicamadas de folhas de grafeno, permitem prender moléculas pequenas, o que faz ser um sorvente bastante versátil (LI *et al.*, 2013). Além do mais, sua capacidade de adsorção pode ser aumentada pela introdução de diferentes grupos funcionais em sua superfície, como hidroxila, grupo carboxila, polímeros e assim por diante (ABDULLAH *et al.*, 2018).

Devido ao tamanho de suas partículas, os nanotubos de carbono são difíceis de serem removidos do meio aquoso após a sua utilização. A utilização do biopolímero quitosana como matriz imobilizadora dos nanotubos é satisfatória, aliando as propriedades de possíveis modificações em sua estrutura. Sendo assim, a estabilização de nanotubos de carbono em esponja de quitosana (CNT–CS, do inglês *carbon nanotube stabilization in chitosan sponge*) surge como um sorvente com alta capacidade de adsorção, regeneração e estabilidade, combinando as características adsorptivas e mecânicas dos nanotubos de carbono com uma estrutura altamente porosa de um biopolímero que possui grupos funcionais com alto potencial de interação com compostos em solução. A presença dos nanotubos de carbono no hidrogel de quitosana não ocupa os grupos disponíveis de quitosana, pois este não

atua como agente reticulante, apenas mistura-se com o polímero, aumentando sua capacidade de adsorver (AFFONSO *et al.*, 2020).

A Figura 3 mostra o sorvente nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS, um biosorvente eficiente e de baixo custo.

Figura 3 – Nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.



Fonte: A autora (2022).

2.4 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

Diversas técnicas cromatográficas estão disponíveis para a determinação multiresíduo de agrotóxicos em alimentos. A seleção ocorre levando em consideração as características dos analitos de interesse. Entre várias técnicas existentes, destacam-se a cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*) e a cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*). A cromatografia é um processo de separação e identificação dos compostos presentes em uma mistura, através da diferença na solubilidade destes componentes na fase móvel e fase estacionária, sofrendo interação apenas com a fase estacionária (GC) ou entre as duas fases (LC) (COLLINS *et al.*, 2009).

A cromatografia gasosa é aplicada para compostos que são voláteis ou volatilizáveis, e são termicamente estáveis. Porém, para aqueles que apresentam baixa volatilidade e são termicamente instáveis, a cromatografia líquida é utilizada como técnica de separação (COLLINS *et al.*, 2009). Nos dias de hoje, a técnica mais utilizada para a determinação dos agrotóxicos é a LC, visto que a maioria dos agrotóxicos utilizados apresentam baixa volatilidade, são instáveis termicamente e apresentam elevada polaridade (TETTE *et al.*, 2016, QUEIROZ *et al.*, 2012).

Dentre as técnicas de grande destaque de separação, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) tem elevada importância, em virtude de realizar a separação de acordo com a diferença na distribuição dos analitos e componentes do extrato da matriz por polaridade entre uma fase móvel e a fase estacionária, conseguindo separar vários compostos com propriedades semelhantes, em diferentes tipos de matrizes (COLLINS *et al.*, 2009; MALDANER, JARDIM, 2012).

A cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, do inglês *ultra-high performance liquid chromatography*) foi introduzida em 2004, na busca de análises mais rápidas e/ou de melhores resoluções, sem diminuir a eficiência cromatográfica. Esta técnica apresenta os mesmos princípios de separação da HPLC, no entanto, as colunas utilizadas são de dimensões reduzidas e as partículas da fase estacionária possuem menor diâmetro ($\leq 2 \mu\text{m}$), permitindo altas velocidades lineares de fase móvel, menor volume de amostra injetada, diminuindo o tempo das análises e, conjuntamente com um equipamento adequado, sendo possível operar em altas

pressões, acima de 1000 bar (~15000 psi) (MALDANER, JARDIM, 2012; ROCCA *et al.*, 2017).

A expansão nos tamanhos e recheios das colunas cromatográficas, principalmente do diâmetro menor das partículas da fase estacionária porosas e as altas pressões utilizadas no sistema, permitiu efetuar análises cromatográficas com maior eficiência, melhor detectabilidade e resolução dos picos cromatográficos, maior sinal-ruído, diminuindo os valores dos limites de quantificação dos métodos (OSHITA; JARDIM, 2015).

2.4.1 Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS)

Para monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas é considerada a técnica primacial, pois propicia detectar, identificar e quantificar simultaneamente diversos compostos em concentrações muito baixas (MASIÁ *et al.*, 2016), combinando a alta seletividade e eficiência da separação cromatográfica, com a obtenção de informações estruturais, massa molar e aumento adicional da seletividade da espectrometria de massas (CHIARADIA *et al.*, 2008). O acoplamento entre estas duas técnicas dá origem a uma ferramenta analítica versátil e de grande potencial na análise qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos (LANÇAS, 2009).

O princípio fundamental da espectrometria de massas é a geração de íons através da fragmentação de compostos em fase gasosa que, posterior, são separados conforme a razão massa/carga (m/z) e então, são detectados, fornecendo um espectro da abundância relativa de cada fragmento, sendo este característico de cada composto, nas mesmas condições de fragmentação empregadas (SKOOG *et al.*, 2002; GROSS, 2011).

Os três componentes básicos do espectrômetro de massas são a fonte de íons, o analisador de massas e o detector, onde estes dois últimos são mantidos sob alto vácuo a fim de evitar colisões acidentais com moléculas presentes no ar (STACHNIUK; FORNAL, 2016).

A ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *electrospray ionization*), é a fonte de ionização mais utilizada no acoplamento com cromatografia líquida, pois é a mais adequada para compostos com elevada polaridade e maior massa molecular. Seu princípio fundamental é a ionização do analito, que passa por um capilar metálico mantido sob alta voltagem antes de atingir a câmara de ionização. Então, um fluxo de N_2 aquecido na região do *spray* faz com que ocorra a evaporação do solvente e as gotas reduzem o tamanho até que ocorra a explosão coulombica, que resulta nos íons do analito, que são direcionados para o analisador de massas (HO *et al.*, 2003; HOFFMANN; STROOBANT, 2013).

O analisador de massas é um dos componentes fundamentais de um espectrômetro de massas, pois é responsável pela seleção e/ou separação dos íons, de acordo com a razão m/z de cada íon (LANÇAS, 2009). Para que os íons com relação m/z específica atinjam o detector, um campo elétrico é produzido. Já os íons que não são selecionados sofrem desvios, colidindo com as hastes para a sua neutralização (EKMAN *et al.*, 2009). O tipo de analisador é a diferença mais importante entre os espectrômetros de massas. Uma das configurações mais utilizadas em análises de compostos orgânicos é o triplo quadrupolo (TQ) operando no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*), pois oferece maior seletividade, especificidade e detectabilidade (WANG *et al.*, 2013; ROCCA *et al.*, 2017). Neste modo, apenas o íon selecionado e com valor específico de m/z (íon precursor) é selecionado no primeiro quadrupolo (Q1), sendo posterior fragmentado na cela de colisão (Q2), gerando os íons produto (de menor m/z) que são selecionados no terceiro quadrupolo (Q3) e direcionados ao detector (CHIADARIA, 2008; PICÓ *et al.*, 2004), aumentando a sensibilidade nas análises.

2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Para demonstrar a confiabilidade de um método analítico, este deve ser avaliado por um processo denominado de validação (RIBANI *et al.*, 2004). Desta forma, a validação tem como objetivo comprovar que o método analítico é apropriado para a finalidade proposta, ou seja, que está de acordo com aos parâmetros de desempenho e critérios de aceitação recomendados. Ela consiste em confirmar que o método proposto é confiável, rastreável, comparável, interpretável e adequado ao uso pretendido e à tomada de decisões (INMETRO, 2020).

No Brasil, existem guias que podem ser seguidos durante o processo de validação de um método. A ANVISA disponibiliza o RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 que dispõe sobre a validação de métodos analíticos. Além disso, o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) disponibiliza o DOQ-CGCRE-08 – rev.08 – Abr/2020, que fornece orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos (ANVISA, 2017; INMETRO, 2020). A União Europeia faz uso do guia fornecido pela órgão de Saúde e Proteção do Consumidor (SANTÉ, do francês *Santé et protection des consommateurs*), para determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos (SANTÉ, 2019).

Na validação de um método, devem ser levadas em consideração todas as variáveis, como a amostragem, a etapa de preparo da amostra, a análise cromatográfica, a detecção e a avaliação dos dados (DE SOUZA FERREIRA, 2007). Na validação de métodos cromatográficos para análise multirresíduo de agrotóxicos, os parâmetros avaliados foram seletividade; linearidade; limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*); limite de quantificação (LOQ, do inglês *limite of quantification*); recuperação; precisão (repetitividade e precisão intermediária) e exatidão (INMETRO, 2020; SANTÉ, 2019), conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos por cromatografia.

Parâmetro	Definição	Referência
Seletividade	Capacidade do método de medir exatamente um analito em uma amostra sem a interferência de outros componentes presentes na matriz	SANTÉ, 2019
Linearidade	Correlação entre resposta analítica e concentração	ANVISA, 2017
Efeito matriz	Influência dos componentes da matriz na resposta (y)	SANTÉ, 2019
Faixa linear de trabalho	Intervalo de concentrações em que y e x correlacionam-se linearmente.	INMETRO, 2020
Limite de quantificação (LOQ)	Menor concentração a partir da qual o analito pode ser quantificado com exatidão e precisão aceitáveis.	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017
Limite de detecção (LOD)	Concentração limite de distinção entre analito e ruído	INMETRO, 2020
Precisão	Proximidade de resultados obtidos por diferentes repetições nos ensaios de repetitividade e precisão intermediária	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017
Exatidão	Proximidade de resultado em relação a uma referência	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017

Fonte: ANVISA (2017); INMETRO (2020); SANTÉ (2019)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho proposto consistiu no desenvolvimento e validação de um método de preparo de amostra utilizando o método QuEChERS para a extração multirresíduo de agrotóxicos em berinjela e posterior determinação por UHPLC-MS/MS. Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos que foram utilizados durante a elaboração deste trabalho estão listados abaixo:

- Agitador do tipo vórtex multi tubos (Fisher Scientific, Reino Unido);
- Agitador vórtex - Biomixer QL-901 (Microtécnica, Brasil) e Phoenix, modelo AP56 (Brasil);
- Balança analítica, modelo APX-200 (Denver Instruments, EUA), modelo AUW 220D (Shimadzu, Japão) e modelo UX-420H (Shimadzu, Japão);
- Banho ultrassônico, linha Sonorex modelo RK510 (Bandelin, Alemanha);
- Centrifuga (Centribio, Brasil) e centrifuga refrigerada NT 825 (Novatecnica, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand – Alemanha e Eppendorf - Canadá);
- Mixer vertical – Black+Decker modelo Sb55 (Black & Decker, EUA);
- Sistema de purificação de água Milli-Q Direct 3UV® (Millipore, França);
- Sistema GC-MS/MS Agilent Intuvo 9000 GC equipado com autosampler 7693 B e Triplo Quadrupolo 7010 B Series;
- Sistema UHPLC-MS/MS Waters (EUA) equipado com:
 - Cromatógrafo líquido ACQUITY com sistema binário de bomba para operação de gradientes de alta pressão;
 - Coluna analítica ACQUITY UPLC BEH C18 (50 x 2,1 mm d.i., 1,7 µm) Waters (EUA);
 - Detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ;

- Interface/fonte de ionização por eletronebulização (ESI);
- Compressor de ar Atlas Copco (Bélgica);
- Gerador de nitrogênio PEAK NM30L-MS (Peak Scientific, Escócia);
- Sistema de aquisição de dados através do *software MassLynx 4.2* (Waters, EUA).

3.2 REAGENTES, SOLVENTES E DEMAIS MATERIAIS

Os reagentes, solventes e demais materiais utilizados no desenvolvimento deste estudo estão listados abaixo:

- Acetato de etila para análises EMSURE[®] (Merck, Alemanha)
- Acetato de sódio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA);
- Acetonitrila, grau HPLC (J. T. Baker, México);
- Acetonitrila, grau HPLC (Supelco, Alemanha);
- Ácido acético glacial 100% (J. T. Baker, EUA);
- Ácido fórmico ≥ 98% (Sigma Aldrich, EUA);
- Água ultrapurificada em sistema Milli-Q Direct 3UV[®] resistividade de 18,2 MΩ cm (Millipore, França);
- Alumina 100-125 mesh (Sigma Aldrich, EUA);
- Amberlite[®] XAD[®]-2 (Sigma Aldrich, EUA);
- Amberlite[®] XAD[®]-4 (Sigma Aldrich, EUA);
- Amina primária e secundária (PSA), partícula de 50 µm (Supelco, Alemanha);
- Argônio grau de pureza 5.0 (Air Liquide, Brasil);
- Bondesil C18 (octadecilsilano) com tamanho de partícula de 40 µm (Supelco, EUA)
- Bondesil PSA com tamanho de partícula de 40 µm (Supelco, EUA);
- Carvão ativado (Agilent Technologies, EUA):
- Carvão grafitizado (GCB), Supelclean ENVI-Carb, não poroso, área superficial 100 m²/g; tamanho de partícula 120/400 mesh (Supelco, EUA);
- Celite[®] 521 Terra diatomácea (Sigma Aldrich, EUA);
- Citrato de sódio diidratado, pureza ≥ 99% (Sigma-Aldrich, EUA);
- Cloreto de sódio (Sigma-Aldrich, EUA);
- Cloreto de sódio p.a. (Dinâmica, Brasil);

- EMR-Lipid (Agilent Technologies, EUA);
- Extran® neutro (Merck, Brasil);
- Fase fluorada, d.p 35-70 µm, diâmetro de poro 60 nm, 9% de carbono (Instituto de Química da UNICAMP, Campinas-SP, Brasil);
- Filtros de nylon de 13 mm e porosidade de 0,22 µm (Nova Analítica, Brasil);
- Florisil® (Sigma-Aldrich, Brasil).
- Formiato de amônio (Sigma Aldrich, EUA);
- Frascos de vidro (vial), capacidade de 2 mL (Analítica, Brasil);
- Frascos de vidro, capacidade de 4 mL (Agilent, EUA)
- Hidrogenocitrato de sódio sesquidratado, pureza ≥ 99% (Sigma-Aldrich, EUA);
- Metanol, grau HPLC (Merck, Alemanha);
- Microtubos tipo Eppendorf, capacidade de 2 mL (Labcon, EUA);
- Bond Elut Nexus (Agilent Technologies, EUA);
- Nitrogênio grau de pureza 5.0 (analítico) (Air Liquide, Brasil);
- Oasis HLB (Waters, Irlanda);
- Padrões sólidos dos compostos em estudo (Tabela 7);
- Propilamino (NH₂) (Agilent Technologies, EUA):
- Quitosana (obtida e caracterizada no laboratório de Operações unitárias da Escola de Química e Alimentos da FURG, a partir de resíduos de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*) com d.p. de 62-76 µm (Rio Grande, Brasil);
- Quitosana de casca de camarão (Sigma-Aldrich, Islândia);
- Quitosana de casca de caranguejo (Sigma-Aldrich, Japão);
- Nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (*carbon nanotube stabilization in chitosan sponge*) - CNT-CS; (obtida e caracterizada no Laboratório de Operações unitárias da Escola de Química e Alimentos da FURG, a partir de resíduos de camarão *Penaeus brasiliensis*) com massa molar de 150,3±5 kDa e grau de desacetilação de 87±1% (Rio Grande, Brasil);
- Silica Bond Elut SI (Agilent Technologies, EUA):
- Sílica gel 50 µm (Sigma-Aldrich, EUA);
- Strata SDB-L (Phenomenex, EUA);
- Strata-X (Phenomenex, EUA);
- Sulfato de magnésio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA);
- Supel™ QuE Z-Sep+ (Sigma Aldrich, EUA);

- Terra diatomácea (Sigma Aldrich, EUA);
- Tubos de polipropileno, com tampas de rosca, de 50 e 15 mL (Sarstedt, Alemanha);
- Vidraria comum de laboratório;
- Zeólita (Sigma Aldrich, EUA).

3.3 COMPOSTOS SELECIONADOS E PREPARO DE SOLUÇÕES ANALÍTICAS

Os agrotóxicos analisados neste trabalho foram selecionados, principalmente, de acordo com os compostos que possuem LMRs, baseada em legislações vigentes para a matriz (UE e Codex Alimentarius), nos compostos de uso permitido na cultura da berinjela no Brasil (ANVISA, 2022a) e com base na relação de padrões dos compostos disponíveis no laboratório. Para serem determinados neste trabalho, foram selecionados 111 agrotóxicos de diferentes classes: inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, entre outros. Com a finalidade de complementar o método, foram analisados os compostos que, com maior frequência, são detectados nas análises de rotina executadas no LARP.

Os padrões analíticos utilizados possuem pureza maior que 92,6% e foram adquiridos das empresas Agilent (EUA), Sigma-Aldrich (EUA), LGC Standards (Alemanha), ChemService (EUA) e SPEX CertiPrep (EUA), e estão listados na Tabela 7, juntamente com algumas informações pertinentes, tais como: classe agrônômica, grupo químico, pureza e suas características físico-químicas.

Foram preparados 10 mL de soluções estoques individuais de cada composto, na concentração aproximada de 1000 mg L⁻¹ a partir dos padrões analíticos, considerando a pureza de cada um deles, a massa a ser pesada e fazendo a dissolução no solvente adequado (acetonitrila, metanol, água ou outro). A partir dessas soluções, foi preparada uma solução mistura (*mix*), contendo todos os compostos do estudo (conforme Tabela 7), na concentração de 5 mg L⁻¹, diluída em acetonitrila, armazenada em frascos âmbar e sob refrigeração (≤ -10 °C).

Esta mistura de compostos foi utilizada para a fortificação nas amostras “branco” e também para o preparo das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente. Para injeção no sistema UHPLC-MS/MS as concentrações finais das curvas analíticas foram 0,5; 1; 2, 5, 10 e 20 µg L⁻¹.

Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

(continua)

Nº	Compostos	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	log Kow	Koc (mg L ⁻¹)	Solubilidade (mg L ⁻¹)
1	Acefato	Inseticida	Organofosforado	99	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	8,35	-0,85	302	790000
2	Acetamiprido	Insecticida	Nicotenoide	99	C ₁₀ H ₁₁ CIN ₄	0,7	0,8	20	29,50
3	Acibenzolar-S-metil	Fungicida	Benzotiadiazol	98	C ₈ H ₆ N ₂ OS ₂	-	3,1	1200	7,7
4	Aldicarbe	Insecticida	Carbamato	99	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	-	1,15	36	4930
5	Ametrina	Herbicida	Triazina	98,2	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	4,1	2,63	96	1,8 10 ³
6	Atrazina	Herbicida	Triazina	98,1	C ₈ H ₁₄ CIN ₅	1,7	2,61	122	30
7	Azinfós etílico	Inseticida	Organofosforado	97,7	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS ₂	-	3,4	237,1	8,25
8	Azinfós metílico	Inseticida	Organofosforado	99	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	5	2,53	69,7	43,54
9	Azoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99,2	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	0,94	2,5	740,2	11,61
10	Bitertanol	Fungicida	Triazol	99	C ₁₉ H ₁₇ N ₄ NaO ₈	3,35	1,03	302	64000
11	Boscalida	Fungicida	Anilida	99	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	-	4,11	-	3,8
12	Bromuconazol	Fungicida	Triazol	99,5	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	10,7	4	3,74 10 ⁷	2,61
13	Buprofezina	Inseticida e acaricida	Tiadiazinona	99,3	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS	0,38	4,3	5741	2,43
14	Carbaril	Inseticida	Metilcarbamato de naftila	100	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	10,4	2,36	241,7	416,2
15	Carbendazim	Fungicida	Benzimidazol	98,5	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	4,2	1,55	175,8	2441
16	Carbofurano	Inseticida, cupinicida, acaricida e nematocida	Metilcarbamato de benzofuranila	99	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	3,78	2,32	70,85	353,9
17	Carbofurano-3-OH	Metabolito do carbofurano	Carbamato	97	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	3,6	0,76	10	62000
18	Carboxim	Fungicida	Oxatina	99,5	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂ S	0,5	2,14	79,96	423,7
19	Ciantranilprole	Insecticida	Carboxamida	97,5	C ₁₉ H ₁₄ BrCIN ₆ O ₂	-	3,18	-	-
20	Cianazina	Herbicida	Triazina	99	C ₉ H ₁₃ CIN ₆	12,9	2,22	123,8	183,8
21	Cimoxanil	Fungicida	Cianoacetamida oxima	97	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₃	9,3	4,24	38	10,62
22	Ciprodinil	Fungicida	Anilino pirimidina	99,9	C ₁₄ H ₁₅ N ₃	4,44	4	-	13
23	Cletodim	Herbicida	Oxima ciclohexanodiona	96,1	C ₁₇ H ₂₆ CINO ₃ S	4,47	4,14	-	5450
24	Clomazone	Herbicida	Isoxazolidinona	98,5	C ₁₂ H ₁₄ CINO ₂	-	2,5	4770	197,5
25	Clorantranilipole	Inseticida	Antranilamida	97,8	C ₁₈ H ₁₄ BrCl ₂ N ₅ O ₂	10,8	3,98	2724	0,37
26	Clorimurom etílico	Herbicida	Sulfonilureia	99,5	C ₁₅ H ₁₅ CIN ₄ O ₆ S	4,2	2,5	78,19	18,15

Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

(continuação)

Nº	Compostos	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	log Kow	Koc (mg L ⁻¹)	Solubilidade (mg L ⁻¹)
27	Clorpirifós	Inseticida	Organofosforado	99,9	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	4,55	4,96	6829	0,36
28	Clorpirifós metílico	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99,9	C ₇ H ₇ Cl ₃ NO ₃ PS	-	4,31	2008	1,89
29	Clorprofam	Herbicida	Carbamato	99,5	C ₁₀ H ₁₂ CINO ₂	14,5	3,79	470	110
30	Cresoxim metílico	Fungicida	Estrobilurina	98	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-	3,4	3,8	2
31	Deltametrina	Inseticida e formicida	Piretróide	99,6	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	10,6	6,2	1,02 10 ⁷	0,0002
32	Diazinona	Inseticida	Organofosforado	97,5	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	2,6	3,81	1337	6,45
33	Difenoconazol	Fungicida	Triazol	99	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	1,07	4,3	2,43 1	0,6
34	Dimetoato	Inseticida e acaricida	Organofosforado	99,4	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	2	0,28	24,52	66000
35	Dimetomorfe	Fungicida	Morfolina	99	C ₂₁ H ₂₂ CINO ₄	1,30	2,63	1,36	41,8
36	Diuron	Herbicida	Uréia	97,5	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	7,8	-	-	0,42
37	Epoxiconazol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₇ H ₁₃ CIFN ₃ O	-	-	-	0,66
38	Espinetoram	Inseticida	Espinosinas	97,9	C ₄₂ H ₆₉ NO ₁₀	9,17	-	-	-
39	Espinosade A	Inseticida	Espinosinas	94,8	C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀	8,10	3,91	-	235
40	Espinosade D	Inseticida	Espinosinas	94	C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀	7,87	4,38	-	0,332
41	Espirodiclofeno	Inseticida e acaricida	Cetoenol	98	C ₂₁ H ₂₄ Cl ₂ O ₄	-	-	-	-
42	Espiromesifeno	Inseticida	Cetoenol	98,94	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	-	4,55	-	0,13
43	Etefon	Regulador de crescimento	Gerador de etileno	96	C ₂ H ₆ ClO ₃ P	2,5	-0,22	608	1 10 ⁶
44	Etofemproxi	Inseticida	Piretróide	98	C ₂₅ H ₂₈ O ₃	-	6,9	-	0,0225
45	Famoxadona	Fungicida	Oxazolidinonas	99,0	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₄	10	4,65	3890	0,052
46	Fenpiroximato	Acaricida	Pirazol	99,4	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄	-	5,01	12000	0,023
47	Fempropimorfe	Fungicida	Morfolina	95	C ₂₀ H ₃₃ NO	6,98	3,3	2937	19
48	Fenamidona	Fungicida	Imidazol	99,6	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	-	2,8	2352	7,8
49	Fenamifós	Inseticida	Organofosforado	98,8	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	10,5	3,23	1686	400
50	Fenarimol	Fungicida	Pirimidinil carbinol	99	C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	-	3,62	3786	14
51	Fentiona	Inseticida, formicida, acaricida e cupinicida	Organofosforado	95,5	C ₁₀ H ₁₅ O ₃ PS ₂	-	4,09	-	2

Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

(continuação)

Nº	Compostos	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	log Kow	Koc (mg L ⁻¹)	Solubilidade (mg L ⁻¹)
52	Fipronil	Pirazol	Inseticida, formicida e cupinicida	96,7	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ O ₅	-	4	-	3,78
53	Fluopicolida	Fungicida	Benzamida piridina	98,5	C ₁₄ H ₈ Cl ₃ F ₃ N ₂ O	-	3,26	373	2,8
54	Flupiradifurona	Inseticida	Butenolida	99,8	C ₁₂ H ₁₁ ClF ₂ N ₂ O ₂	-	1,2	-	3200
55	Fluquinconazol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ FN ₅ O	0,9	3,24	870	1,15
56	Flutolanil	Fungicida	Carboxamida	99,5	C ₁₇ H ₁₆ F ₃ NO ₂	-	3,7	680	6,53
57	Flutriafol	Fungicida	Triazol	99,5	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	2,3	23	292	95,0
58	Fluxaproxade	Fungicida	Carboxamida	99,9	C ₁₈ H ₁₂ F ₅ N ₃ O	12,58	3,06	1240	2,44
59	Formetanato	Inseticida e acaricida	Metilcarbamato de fenila	92,6	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₂	8,1	-	616	822000
60	Fostiazato	Inseticida e nematocida	Organofosforado	99,2	C ₉ H ₁₈ NO ₃ PS ₂	-	1,68	71	9850
61	Hexitiazoxi	Acaricida	Tiazolidinacarboxamida	99	C ₁₇ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ S	-	5,57	6200	0,5
62	Imazalil	Fungicida	Imidazol	97,5	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	6,53	-	2080	0,22
63	Imidacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98,5	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	11,1	0,76	300	580
64	Indoxacarbe	Insecticida e formicida	Oxadiazina	97,4	C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇	-	4,65	8100	0,20
65	Iprovalicarbe	Fungicida	Carbamato	98	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₃	-	3,18	106	17,8
66	Linuron	Herbicida	Uréia	99,4	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	12,1	3,2	860	75
67	Malationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	6,8	2,7	1800	143
68	Mandipropamida	Fungicida	Éter mandelamida	99,3	C ₂₃ H ₂₂ ClNO ₄	-	3,2	1294	4,2
69	Mecarbam	Acaricida e inseticida	Organofosforado	98	C ₁₀ H ₂₀ NO ₅ PS ₂	-	-	2,31	-
70	Mepronil	Fungicida	Carboxamida	99	C ₁₇ H ₁₉ NO ₂	-	3,66	974	12,7
71	Metalaxil	Fungicida	Acilalaninato	99,5	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	-	1,71	163	8,41
72	Metconazol	Acaricida e inseticida	Itraconazol	99,5	C ₁₇ H ₂₂ ClN ₃ O	11,3	3,85	1,71	30,4
73	Metiocarbe	Insecticida, moluscicida e repelente de passaros	Metilcarbamato de fenila	99	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂ S	-	3,1	655	27
74	Metomil	Acaricida e inseticida	Metilcarbamato de oxima	99	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	-	0,09	43	5,5 10 ⁴
75	Metsulfurom metílico	Herbicida	Sulfolinuréia	99	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	3,3	0,02	57	172
76	Monocrotofós	Inseticida	Organofosforado	98	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₁	6,6	5,43	-	3,0x10 ⁻³

Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

(continuação)									
Nº	Compostos	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	log Kow	Koc (mg L ⁻¹)	Solubilidade (mg L ⁻¹)
77	Monolinuron	Herbicida	Uréia	99,5	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	-	0,22	19	8,1x10 ⁵
78	Novalurom	Inseticida	Benzoiluréia	99	C ₁₇ H ₉ ClF ₈ N ₂ O ₄	-	5,27	-	0,95
79	Oxamil	Acaricida, inseticida e nematocida.	Carbamato	99	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	12,4	0,44	17	1,5x10 ⁵
80	Picoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	98,5	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ NO ₄	-	3,6	898	3,1
81	Piraclostrobina	Fungicida	Estrobilurina	97,5	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	-	3,99	9300	20
82	Pirazofós	Fungicida e inseticida	Fosforotioato de heterociclo	97	C ₁₄ H ₂₀ N ₃ O ₅ PS	-	3,8	646	4,2
83	Piridabem	Inseticida e acaricida	Piridazinona	99	C ₁₉ H ₂₅ ClN ₂ OS	-	6,37	66503	0,02
84	Piridafentiona	Inseticida e acaricida	Organofosforado	99	C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	-	3,1	7211	100
85	Pirimetanil	Fungicida	Anilino pirimidina	99,5	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	3,52	2,84	301	121
86	Pirimicarbe	Inseticida	Dimetilcarbamato	99,3	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	4,44	1,7	388	31000
87	Pirimifós metílico	Inseticida e acaricida	Organofosforado	97,6	C ₁₁ H ₂₀ N ₃ O ₃ PS	4,3	4,2	1100	11
88	Piriproxifem	Inseticida	Éter piridiloxipropílico	99,9	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃	6,87	5,37	-	0,37
89	Propamocarbe	Fungicida	Carbamato	98,4	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	9,48	1,12	100	9 10 ⁵
90	Propargito	Acaricida	Sulfito de alquila	98,8	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S	-	5,7	-	0,215
91	Propiconazol	Fungicida	Triazol	97,5	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	1,09	3,72	656	100
92	Propoxur	Inseticida	Carbamato	99,9	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-	1,56	30	18000
93	Quinoxifem	Fungicida	Fenoxiquinolina	99	C ₁₅ H ₈ Cl ₂ FNO	-	4,66	22929	0,05
94	Saflufenacil	Herbicida	Uracila	94,2	C ₁₇ H ₁₇ ClF ₄ N ₄ O ₅ S	4,41	2,57	368,2	2100
95	Simazina	Herbicida	Triazina	98	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	1,62	2,1	340	6
96	Tebufenozida	Inseticida	Diacilhidrazina	97	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₂	-	4,25	35000	0,83
97	Teflubezurom	Inseticida	Benzoiluréia	98,5	C ₁₄ H ₆ Cl ₂ F ₄ N ₂ O ₂	8,16	-	26062	0,02
98	Terbufós	Inseticida e nematocida	Organofosforado	99	C ₉ H ₂₁ O ₂ PS ₃	-	4,48	500	4,5
99	Terbutilazina	Herbicida	Triazina	99,5	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	2	3,21	219	6,6
100	Tiabendazol	Fungicida	Benzimidazol	99	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	-	2,39	2500	30
101	Tiacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S	-	-	615	184
102	Tiametoxam	Inseticida	Neonicotinóide	99,5	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	-	0,13	64	41000
103	Tiodicarbe	Inseticida	Metilcarbamato de oxima	97,4	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₄ S ₃	-	1,62	418	22

Tabela 7 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

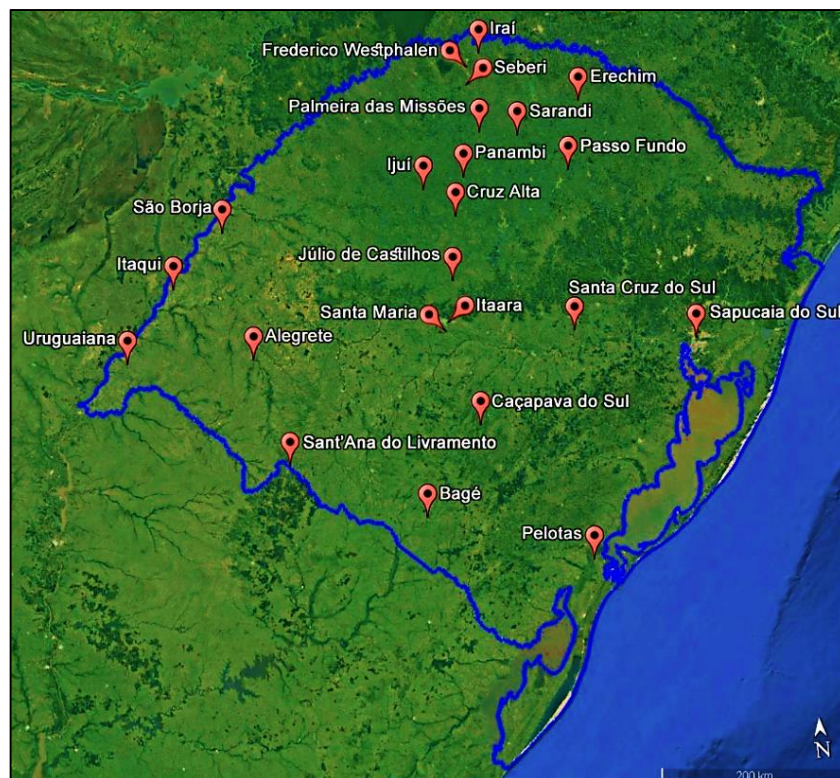
									(conclusão)
Nº	Compostos	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	Fórmula molecular	pKa	log Kow	Koc (mg L ⁻¹)	Solubilidade (mg L ⁻¹)
104	Tiofanato metílico	Fungicida	Benzimidazol (precursor de)	99	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	7,38	1,5	225	25
105	Tolcofós metílico	Fungicida	Organofosforado	99	C ₉ H ₁₁ Cl ₂ O ₃ PS	-	4,56	-	0,708
106	Triadimenol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₄ H ₁₈ ClN ₃ O ₂	-	3,08	273	72
107	Triazofós	Inseticida, acaricida e nematocida	Organofosforado	98,5	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	-	3,34	358	35
108	Trifloxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	98,8	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	-	4,5	2377	0,61
109	Triflumurom	Inseticida	Benzoiluréia	99	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₃	-	4,91	11891	0,04
110	Vamidationa	Inseticida	Organofosforado	98	C ₈ H ₁₈ NO ₄ PS ₂	-	-	70	4 10 ⁶
111	Zoxamida	Inseticida	Organofosforado	99	C ₁₄ H ₁₆ Cl ₃ ON ₂	3,76	5,06	1240	18

Fonte: adaptado (2022). Legenda: pKa - logaritmo negativo da constante de acidez do composto (Ka); log Kow - coeficiente de partição octanol/água; Koc - constante de sorção - teor de carbono orgânico; Solubilidade: em água a 25°C.

3.4 AMOSTRAS DE BERINJELA

As amostras “branco” de berinjela utilizadas para a otimização e a validação do método foram cultivadas isentas dos compostos avaliados. Foram adquiridas da produção orgânica local, e após análise em UHPLC-MS/MS não foram encontrados resíduos dos agrotóxicos em estudo. As frutas inteiras, sem pedúnculo e cálice, foram processadas e homogeneizadas com auxílio de um processador de alimentos, conforme descrito no Codex Alimentarius (2001). Após o processamento, as amostras foram armazenadas em potes individuais de polipropileno devidamente identificados, e mantidas em freezer ($\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a sua utilização. Na etapa de aplicabilidade do método foram adquiridas 26 amostras comerciais de berinjela, oriundas de diferentes localidades do estado do Rio Grande do Sul, conforme a Figura 4. As amostras foram processadas da mesma maneira que a amostra “branco” e, após, foram acondicionados em frascos de polipropileno, e armazenados em freezer ($\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$). Ainda, para a realização dos ensaios, aguardou-se até que as amostras atingissem temperatura ambiente (aproximadamente $25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Figura 4 – Mapa do do Rio Grande do Sul com a localidade das amostras de berinjela avaliadas no presente estudo.



Fonte: A autora (2022).

Na Tabela 8 são identificadas as 26 amostras de berinjela avaliadas no estudo e seus diversos locais de origem.

Tabela 8 – Amostras de berinjela avaliadas no presente estudo e sua localidade.

Identificação	Localidade
A 1	Itaara – RS
A 2	Caçapava do Sul – RS
A 3	Sapucaia do Sul – RS
A 4	Frederico Westphalen - RS
A 5	Palmeira das Missões - RS
A 6	Alegrete – RS
A 7	Cruz Alta – RS
A 8	Uruguaiana – RS
A 9	Pelotas – RS
A 10	Panambi – RS
A 11	Iraí – RS
A 12	Santa Maria – RS
A 13	Itaqui – RS
A 14	São Borja – RS
A 15	Condor – RS
A 16	Júlio de Castilhos – RS
A 17	Erechim – RS
A 18	Seberi – RS
A 19	Sarandi – RS
A 20	Bagé – RS
A 21	Santa Cruz do Sul – RS
A 22	Santa Cruz do Sul – RS
A 23	Ijuí - RS
A 24	Passo Fundo - RS
A 25	Santana do Livramento - RS
A 26	Frederico Westphalen - RS

Fonte: A autora (2022).

3.5 PREPARO E UTILIZAÇÃO DO PADRÃO INTERNO (PI) E PADRÃO DE CONTROLE (PC)

Com o objetivo de assegurar que um método analítico tenha sido realizado corretamente e auxiliar na localização possíveis de erros, podem ser utilizados

padrões em diferentes estágios do procedimento analítico (SANTÉ, 2019). Segundo a SANTÉ (2019), padrão interno (PI) e padrão de controle (PC) são definidos como substâncias químicas estáveis e/ou que possuam um comportamento semelhante ao analito, devem ter alto grau de pureza, não devem fazer parte da composição química da amostra e que, ao serem adicionadas nas amostras e no extrato final em concentrações conhecidas, não interajam com o mesmo.

Conforme a etapa em que um padrão é adicionado, ele pode ter diferentes finalidades e, conseqüentemente, definições. Para a verificação do desempenho da análise cromatográfica, o composto trifenilfosfato (TPP) foi usado como Padrão Interno (PI). Ou seja, uma quantidade conhecida do padrão interno é adicionada na amostra a ser analisada e é feita a relação das áreas obtidas do pico de interesse com a do PI.

Para isso, o TPP foi adicionado aos brancos fortificados, amostras e soluções de trabalho no solvente e na matriz fortificada, antes da análise cromatográfica, para verificar a execução correta da análise, sendo aceito valores de variação de área de até 20% (SANTE, 2019).

Como Padrão de Controle (PC), utilizou-se uma solução de atrazina-d5. Esta solução foi adicionada às amostras anteriormente à etapa de extração dos analitos. O uso do PC garante a eficiência do procedimento de extração na forma de resultados de recuperação (70-120% e $RSD \leq 20\%$).

As soluções de atrazina-d5 (PC) e de trifenilfosfato (PI) foram preparadas em acetonitrila, cada uma em frascos âmbar individuais, na concentração de 10 mg L^{-1} e armazenadas sob refrigeração ($\leq -10 \text{ }^\circ\text{C}$) para posterior uso. A solução do Padrão de Controle foi adicionada previamente a etapa de extração dos analitos, na mesma concentração empregada para avaliação dos ensaios de recuperação (2,5; 5; 10; 25; 50 e $100 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$) e nas amostras reais (quantidade conhecida de berinjela) para uma concentração final de $20 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$. Já a solução de Padrão Interno foi adicionada nos vials de injeção, antes da análise cromatográfica na concentração de $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

A Figura 5 mostra as etapas nas quais são adicionados o Padrão Interno (PI) e o Padrão de Controle (PC).

Figura 5 – Etapa da adição do Padrão Interno (PI) e do Padrão de Controle (PC).



Fonte: A autora (2022).

3.6 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA

3.6.1 Escolha da fase móvel

Uma das etapas mais importantes do processo cromatográfico pode ser considerada a escolha da fase móvel, pois essa escolha tem influência significativa no sinal analítico e na separação adequada dos analitos. Considerando isso, a escolha da fase móvel foi realizada, tendo em vista os compostos selecionados para esse estudo e através de otimizações de métodos do LARP-UFSM que são realizados na rotina para diversos compostos e matrizes com eficácia. Sendo utilizado água:metanol (98:2, v/v) como fase móvel A e metanol:água (98:2, v/v) como fase móvel B, ambas contendo 5 mmol L⁻¹ de formiato de amônio e ácido fórmico 0,1% (v/v), conforme a Tabela 9.

Tabela 9 - Gradiente de fase móvel utilizado na determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela por UHPLC-MS/MS.

Tempo (min)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
Inicial	95	5
0,25	95	5
7,75	0	100
8,50	0	100
8,51	95	5
10,00	95	5

Fonte: A autora (2022).

3.6.2 Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS

As condições de um sistema para as análises cromatográficas devem ser otimizadas com a finalidade de conseguir um melhor resultado na análise das massas dos íons precursores e produtos, utilizando as condições necessárias e favoráveis, de acordo com a classe química dos compostos. Portanto, as condições gerais utilizadas foram estabelecidas através de métodos otimizados LARP-UFSM e são amplamente utilizadas em análises de rotina para diferentes compostos e matrizes. A Tabela 10 apresenta as condições do sistema de análise.

Tabela 10 – Condições cromatográficas do sistema UHPLC-MS/MS

Parâmetro	Condição
Temperatura da coluna	40 °C
Voltagem do capilar (ESI+)	0,5 k V
Voltagem do capilar (ESI-)	2,5 k V
Temperatura de dessolvatação (N ₂)	500 °C
Temperatura da fonte	150 °C
Fluxo de gás – Dessolvatação	600 mL min ⁻¹
Fluxo de gás - Cone	80 mL min ⁻¹
Vazão do gás de colisão	0,15 mL min ⁻¹
Volume de injeção	10 µL
Tempo de residência (<i>dwel time</i>)	0,01 s
Tempo de aquisição	30 s

Fonte: A autora (2022).

3.7 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QUECHERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA UTILIZANDO UHPLC-MS/MS

3.7.1 Testes iniciais

Os testes iniciais de preparo de amostra para determinação de agrotóxicos em berinjela propostos neste trabalho foram desenvolvidos levando em consideração trabalhos da literatura para determinação multirresíduos de agrotóxicos berinjela, hortaliças e vegetais. Foram feitos testes utilizando as três versões do método QuEChERS: original (ANASTASSIADES *et al.*, 2003); acetato (LEHOTAY *et al.*, 2005) e citrato (ANASTASSIADES *et al.*, 2007). Com o intuito de avaliar o método mais eficaz de preparo de amostra, foi avaliado o número de compostos que apresentaram resultados aceitáveis de recuperação, entre 70 e 120% e com RSD ≤ 20%. Na Tabela 11 são apresentados os resumos dos testes avaliados.

Foram realizados os testes T1, T2 e T3 utilizando a amostra “branco” de berinjela. Os testes foram realizados em triplicata, com ensaios de fortificação no nível de 10 µg L⁻¹, equivalentes a 50 µg kg⁻¹ na amostra. A fim de avaliar a interferência da matriz, foi realizada a etapa de adição de padrão nas amostras antes (FA, fortificação na amostra) e após o procedimento de extração (PA, padrão na amostra). Os extratos de FA e PA foram filtrados utilizando filtros de *nylon* de 13 mm e porosidade de 0,2 µm e, após, diluídos 5 vezes em água ultrapura antes da injeção no sistema cromatográfico. O cálculo de recuperação foi realizado de acordo com a Equação 1.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{X_1}{X_2} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

X₁ = média das áreas do composto na fortificação da amostra;

X₂ = média das áreas do composto no extrato da amostra.

Além disso, foi avaliada a presença de coextrativos existentes no extrato “branco” da matriz, onde foram considerados significativos para valores maiores que ± 20% (SANTÉ, 2019). Para isso, foram comparadas as áreas (resposta cromatográfica) obtidas com soluções analíticas preparadas no solvente (acetonitrila), também com diluições de 5 vezes, e as áreas das soluções analíticas preparadas no

extrato da matriz dos testes T1, T2 e T3. O cálculo do efeito matriz foi realizado através da Equação 2.

$$EM(\%) = \left(\frac{X_1}{X_2} - 1 \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde:

X_1 = média das áreas do composto no extrato da amostra

X_2 = média das áreas do composto na solução preparada em solvente (acetonitrila)

Ainda, foram realizados novos testes para os QuEChERS original e citrato, que apresentaram menor efeito matriz e por terem extraído satisfatoriamente o mesmo número de compostos. Foram realizados os testes T4 e T5, de acordo com a Tabela 11, para essas duas variações do método, avaliando a possibilidade de proceder a extração sem a etapa de limpeza. Através dos ensaios de fortificação, avaliou-se se os parâmetros de recuperação (70 - 120%) e RSD ($\leq 20\%$) foram atingidos.

3.7.2 Avaliação de diluições dos extratos obtidos após realização da etapa de extração e o efeito matriz relacionado

Posteriormente à seleção do melhor procedimento de extração, avaliou-se a hipótese do preparo de amostra ser realizado sem a etapa de limpeza para a versão do método QuEChERS que apresentou o maior número de compostos recuperados nos testes anteriores.

Para tal intuito, utilizou-se o extrato da amostra “branco” de berinjela, sem a etapa de limpeza. Os testes foram realizados em triplicata, com ensaios de fortificação no nível de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, equivalentes a 20, 30, 50, 100 e $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ na amostra, diluídos 2, 3, 5, 10 e 20 vezes, respectivamente, em água ultrapura (testes T6 a T10 da Tabela 11) antes da injeção no sistema cromatográfico na amostra. Com adição de padrão nas amostras antes (FA, fortificação na amostra) e após o procedimento de extração (PA, padrão na amostra). O cálculo de recuperação foi realizado de acordo com a Equação 1, e a presença de coextrativos foi calculado através da Equação 2.

3.7.3 Avaliação do uso de sorventes na etapa de limpeza

Inicialmente, nesta etapa foi realizada a avaliação visual da eficiência de limpeza dos extratos de 25 diferentes sorventes, conforme os testes T11 a T35 da Tabela 11.

Após a seleção visual dos sorventes que apontaram a melhor eficiência da remoção de pigmentos, avaliou-se o comportamento dos sorventes na efetividade de limpeza do extrato final. Para isso, utilizou-se o nível de fortificação na amostra (FA) de $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (considerando a diluição de 5 vezes do extrato), em triplicata, utilizando a amostra de “branco” de berinjela, avaliando o número de compostos que apresentaram resultados aceitáveis de recuperação (70-120%) e acordo com a Equação 1, aplicando etapas de FA e PA. Já o efeito matriz foi calculado através da Equação 2.

Selecionou-se como melhor sorvente na etapa de limpeza aquele que apresentou o maior número de compostos recuperados na faixa conveniente de recuperação e, ainda, o menor efeito matriz em cada teste a partir das áreas das soluções analíticas preparadas em solvente e no extrato “branco” da matriz. Foram avaliados nos testes os seguintes sorventes para a etapa de limpeza do extrato por d-SPE: carvão ativado (T15), carvão grafitizado (GCB) (T16), Oasis HLB (T22), Strata-X (T32), Strata SDB-L (T31), SupelTM QuE Z-Sep+ (T33), C18 (T14), Quitosana – FURG (T25), Nexus (T21) e PSA (T24). Posteriormente, diferentes testes (T25 a T 28) considerando outros tipos de quitosana disponíveis também foram avaliados, utilizando quitosana de casca de camarão e quitosana de casca de caranguejo, ambos disponíveis comercialmente na Sigma-Aldrich, novamente a quitosana - FURG e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS, também obtidos da FURG.

Optou-se, também, por avaliar a eficiência da remoção de coextrativos no extrato “branco” da matriz através da injeção do tipo varredura ou *full scan* por GC-MS/M de extratos utilizando na etapa de limpeza os sorventes: quitosana – FURG (teste T25), quitosana de casca de camarão (teste T26), quitosana de casca de caranguejo (teste T27) e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS (Teste T28), além do extrato obtido sem etapa de limpeza (teste T8).

Tabela 11 - Testes realizados para análise dos compostos selecionados para análise de resíduos de agrotóxico em berinjela.

(continua)					
Teste	Método	Extração	Partição	Limpeza de extrato (1 mL de sobrenadante)	Diluição (água ultrapura)
T1	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl		
T2	QuEChERS Acetado	15g de amostra + 15 mL de ACN 1% ác. Acético	6 g MgSO ₄ + 1,5 g CH ₃ COONa	150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA	5x
T3	QuEChERS Citrato	10g de amostra + 10 mL de ACN	4 g MgSO ₄ + 1 g NaCl + 1 g C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O + 0,5 g C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O		
T4	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl		
T5	QuEChERS Citrato	10g de amostra + 10 mL de ACN	4 g MgSO ₄ + 1 g NaCl + 1 g C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O + 0,5 g C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O	-	5x
T6					2x
T7					3x
T8	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl	-	5x
T9					10x
T10					20x
T11				150 mg MgSO ₄ + 25 mg de alumina	
T12				150 mg MgSO ₄ + 25 mg de Amberlite XAD-2	
T13	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl	150 mg MgSO ₄ + 25 mg de Amberlite XAD-4	5X
T14				150 mg MgSO ₄ + 25 mg C18	
T15				150 mg MgSO ₄ + 10 mg de carvão ativado	

Tabela 11 - Testes realizados para análise dos compostos selecionados para análise de resíduos de agrotóxico em berinjela.

(continuação)

Teste	Método	Extração	Partição	Limpeza de extrato (1 mL de sobrenadante)	Diluição (água ultrapura)
T16				150 mg MgSO ₄ + 10 mg de GCB	
T17				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Celite 521 Terra diatomácea	
T18				150 mg MgSO ₄ + 25 mg EMR-Lipid	
T19				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Fase fluorada	
T20				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Florisil	
T21				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Nexus	
T22				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Oasis HLB	
T23	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl	150 mg MgSO ₄ + 25 mg Propilamino (NH ₂)	5X
T24				150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA	
T25				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Quitosana (FURG)	
T26				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Quitosana de casca de camarão	
T27				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Quitosana de casca de caranguejo	
T28				150 mg MgSO ₄ + 25 mg CNT-CS (FURG)	
T29				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Silica BondElut	

Tabela 11 - Testes realizados para análise dos compostos selecionados para análise de resíduos de agrotóxico em berinjela.

(conclusão)					
Teste	Método	Extração	Partição	Limpeza de extrato (1 mL de sobrenadante)	Diluição (água ultrapura)
T30	QuEChERS Original	10g de amostra + 10 mL de ACN	4g MgSO ₄ + 1 g NaCl	150 mg MgSO ₄ + 25 mg Sílica gel 50 µm	5X
T31				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Strata SDB-L	
T32				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Strata X	
T33				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Supel QuE Z-Sep+	
T34				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Terra diatomácea	
T35				150 mg MgSO ₄ + 25 mg Zeolite	

Fonte: A autora (2022).

3.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QUECHERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA

A validação de métodos analíticos é muito importante, tanto quanto por razões comerciais, já que são pré-requisitos para a certificação de análises, quanto por razões científicas, visto que produzem resultados confiáveis na transferência entre laboratórios (CUNHA *et al.*, 2005).

No Brasil, o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelecem guias para a validação de métodos analíticos. A validação deve garantir que o método forneça resultados confiáveis. De maneira geral, os principais parâmetros avaliados foram seletividade, linearidade, curva analítica, limite de detecção, limite de quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão avaliada através de ensaios de recuperação e avaliação do efeito matriz (ANVISA, 2017; INMETRO, 2020; SANTÉ, 2019; ZANELLA *et al.*, 2015).

Esses parâmetros são descritos na Tabela 12, juntamente com suas definições e aplicações.

Tabela 12 – Parâmetros de métodos analíticos avaliados na validação do método, com respectivas formas de aplicação, equações (quando aplicável) e critérios de aceitação.

(continua)				
Parâmetro	Aplicação	Equações	Critério	Referência
Seletividade	Comparação dos cromatogramas obtidos para extratos de amostra “branco analítico” e “branco analítico” fortificado	-	Ausência de picos de interferentes nos tempos de retenção dos analitos de interesse.	SANTÉ, 2019
Linearidade	Injeção em triplicata da curva analítica. Avaliação do coeficiente de determinação (r^2)	Equação 3: $y = ax + b$ Onde: y = resposta medida (área do pico); x = concentração; a = coeficiente angular - inclinação da curva analítica = sensibilidade; b = coeficiente linear - intersecção com o eixo y, quando x = 0	$r^2 \geq 0,99$	INMETRO, 2020
Efeito Matriz	Comparação entre as inclinações das curvas analíticas dos padrões, preparadas no solvente (acetonitrila) e aquelas obtidas com soluções analíticas preparadas no extrato da matriz	Equação 4: $EM (\%) = \left(\frac{X_1}{X_2} - 1 \right) \times 100$ Onde: X ₁ = Coeficiente angular da curva na matriz. X ₂ = Coeficiente Angular da curva no solvente	em $\geq \pm 20\%$	SANTÉ, 2019
Limite de quantificação (LOQ)	Menor concentração que, fortificada na matriz (n=6), apresente resultados aceitáveis de exatidão e precisão	-	Recuperações 70 - 120% e RSD $\leq 20\%$.	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017

Tabela 12 - Parâmetros de métodos analíticos avaliados na validação do método, com respectivas formas de aplicação, equações (quando aplicável) e critérios de aceitação.

Parâmetro	Aplicação	Equações	Critério	Referência (conclusão)
Limite de detecção (LOD)	A menor quantidade do analito que pode ser detectada, mas não quantificada, Calculado a partir do limite de quantificação	Equação 5: $LOD = \frac{LOQ}{3,33}$ Onde: LOQ = limite de quantificação	-	INMETRO, 2020
Exatidão	Ensaio de recuperação, fortificando as amostras “branco” em 4 níveis de concentração (5, 10, 25, 50 µg kg ⁻¹) (n=6). Avaliada em termos de recuperação (%)	Equação 6: $Rec (\%) = \left(\frac{C1-C2}{C3} \right) \times 100$ Onde: C1: Concentração determinada na amostra fortificada; C2: Concentração determinada na amostra não fortificada; C3: Concentração usada para fortificação	70 – 120%	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017
Precisão	Ensaio de recuperação, fortificando as amostras “branco analítico” em 4 níveis de fortificação (5, 10, 25 e 50 µg kg ⁻¹) (n=7). Avaliada em termos de RSD	Equação 7: $RSD(\%) = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \times 100$ Onde: s = estimativa de desvio padrão absoluto = $\{\sum (xi - \bar{x})^2 / (n-1)\}^{1/2}$; xi = valores individuais; \bar{x} = média das medidas em replicatas; n = número de medidas.	RSD ≤ 20%	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA

A escolha das condições cromatográficas iniciais empregues foram avaliadas de acordo com as condições utilizadas com maior frequência no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas – LARP, pois oferecem sinais analíticos apropriados, alta resolução e bom formato de picos para os compostos em estudo. Para a quantificação e identificação dos analitos, o modo de ionização e as transições foram determinadas pelo monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*). As transições foram utilizadas para quantificação e identificação dos analitos, onde a de maior intensidade foi escolhida para quantificar e a segunda mais intensa foi utilizada para confirmação dos compostos.

A Tabela 13 apresenta os compostos analisados pelo sistema UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI⁺ (exceto para o fipronil, que foi determinado no modo de ionização ESI⁻), o modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagens capilares (CV), energias de colisão (EC) e os íons precursores e íons produtos para quantificação e confirmação de cada analito em estudo.

Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLC-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produto, e energias de colisão (EC) utilizados.

(continua)

Nº	Analito	t_R (min)	VC (V)	Íon Precursor (m/z)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação	
					Íon produto (m/z)	EC (eV)	Íon produto (m/z)	EC (eV)
1	Acefato	1.72	8	184,1	125,1	18	143	8
2	Acetamiprido	3.69	23	223	56,1	15	126	20
3	Acibenzolar-S-metil	6.07	41	210,9	69	52	135,9	30
4	Aldicarbe	4.34	7	208	89	7	116	7
5	Ametrina	5.65	32	228,1	68,1	36	186,1	18
6	Atrazina	5.51	30	216,1	96,1	23	174,1	18
7	Azinfós-etil	6.50	10	346	77,1	36	132	16
8	Azinfós-metil	5.82	12	318	261	8	160	8
9	Azoxistrobina	5.97	17	404	329	30	372	15
10	Bitertanol	7.10	12	338,1	70,1	8	99,1	16
11	Boscalida	6.18	32	342,9	139,9	20	307	20

Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLC-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produto, e energias de colisão (EC) utilizados.

(continuação)

Nº	Analito	t_R (min)	VC (V)	Íon Precursor (m/z)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação	
					Íon produto (m/z)	EC (eV)	Íon produto (m/z)	EC (eV)
12	Bromoconazol	6.40	32	376	70,1	25	158,9	35
13	Buprofezina	7.51	22	306,1	57,4	20	201	12
14	Carbaril	5.14	19	202	117	28	145	22
15	Carbendazim	2.76	24	192,1	132,1	28	160,1	18
16	Carbofurano	4.94	25	222,1	123	16	165,1	16
17	Carbofurano-3-hidroxi	3.67	25	238	181	10	163	16
18	Carboxina	5.08	25	236	87	22	143	16
19	Ciantranilprole	4.65	20	475	444	17	286	13
20	Cinazina	5.25	28	241	96	25	241	17
21	Cimoxanil	3.91	14	199	111	18	128	8
22	Ciprodinil	6.68	46	226	108	25	93	33
23	Cletodim	7.35	25	360	164	20	268,1	10
24	Clomazone	5.90	23	240	89	46	125	18
25	Clorantraniprole	5.82	20	481,6	451,1	22	283,9	14
26	Clorimuron etil	6.22	25	415,1	213	17	186	15
27	Clorpirifós	7.73	27	349,9	198	20	97	32
28	Clorpirifós-metil	7.24	23	321,8	125	20	289,9	16
29	Clorprofam	6.35	49	214,1	154	18	172	8
30	Cresoxim-metil	6.83	15	314,1	116	12	206	7
31	Deltametrina	8.02	16	523	506	11	281	18
32	Diazinona	6.96	20	305,1	96,9	35	169	22
33	Difenoconazol	7.21	37	406	111,1	60	251,1	25
34	Dimetoato	3.63	12	230,1	199	10	125	20
35	Dimetomorfe	6.28	30	388,1	300,9	20	165	30
36	Diurum	5.69	27	233	46,3	14	72,1	18
37	Epoconazol	6.58	25	330	101	50	121	22
38	Espinetoram	7.28	32	748,5	98	40	142,4	25
39	Espinosade A	7.04	47	732,6	98,1	59	142	31
40	Espinosade D	7.26	42	746,5	98,1	53	142	31
41	Espirodiclofeno	7.93	22	411,1	71,2	13	313	13
42	Espiromesifeno	7.78	7	371,1	255,1	24	273,1	10
43	Etefon	7.27	25	409	145	40	186	16
44	Etofenproxi	8.40	17	394,3	106,9	43	177	15
45	Famoxadona	6.98	12	392,2	238	20	331,1	10
46	Fenpiroximato	7.89	23	422,2	138,1	32	336,1	15
47	Fempropimorfe	6.00	41	304,2	147,1	28	57,2	30
48	Fenamidona	6.15	22	312,1	236,1	14	92	25
49	Fenamifós	6.72	27	304,1	202,1	36	217,1	24
50	Fenarimol	6.56	17	331	81	34	268	22

Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLC-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produto, e energias de colisão (EC) utilizados.

(continuação)

Nº	Analito	t_R (min)	VC (V)	Íon Precursor (m/z)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação	
					Íon produto (m/z)	EC (eV)	Íon produto (m/z)	EC (eV)
51	Fentiona	6.90	25	279,1	169,1	16	247,1	13
52	Fipronil	6.77	25	435,3	250,1	26	330,2	16
53	Fluopicolida	6.30	40	383	365	15	172,9	20
54	Flupiradifurona	3.72	20	289	90	40	126,1	25
55	Fluquiconazol	6.46	37	376	348,8	18	306,9	30
56	Flutolanil	6.27	23	324,1	65	40	262,1	18
57	Flutriafol	5.56	23	302,1	123,1	29	70,2	18
58	Fluxaproxade	6.30	44	380	248	21	131	24
59	Formetanato	1.91	21	222	165	15	42	26
60	Fostiazato	5.33	19	284	228	10	104	22
61	Hexitiazoxi	7.72	21	353	168,1	26	228,1	14
62	Imazalil	5.45	31	297	69	22	159	22
63	Imidacloprido	3.33	23	256,1	175,1	20	209,1	15
64	Indoxicarbe	7.24	25	528	150	22	203	40
65	Iprovalicarbe	6.46	19	321,1	203,1	10	119,1	16
66	Linuron	6.07	25	249,1	181,1	16	160,1	18
67	Malationa	6.27	12	331	99	24	127	12
68	Mandipropamida	6.20	16	412	328	16	125	34
69	Mecarban	6.54	12	330	97	35	227,1	8
70	Mepronil	6.29	27	270,1	91	44	119	28
71	Metalaxil	5.62	15	280,1	192,1	17	220,1	13
72	Metconazol	7.08	29	320,1	125	36	70	22
73	Metiocarbe	6.15	19	226	121	22	169	10
74	Metomil	2.65	17	163	106	10	88	10
75	Metsulfuron metil	4.88	22	382	198,9	22	167	16
76	Monocrotofós	2.97	15	224,1	98,1	12	127,1	16
77	Monolinuron	5.24	23	215	99	34	126	22
78	Novalurom	7.34	27	493	158	19	141	35
79	Oxamil	2.46	12	237	90	10	72	10
80	Picoxistrobina	6.75	10	368	205,1	10	145,1	22
81	Piraclostrobina	7.02	20	388,1	193,9	12	163	25
82	Pirazofós	7.05	33	374	194	32	222,1	22
83	Piridabem	8.08	19	365,1	309,1	12	147,1	24
84	Piridafentiona	6.38	31	341	92	34	189	22
85	Pirimetanil	5.83	42	200	107	24	82	24
86	Pirimicarbe	4.49	25	239,1	182,1	15	72	18
87	Pirimifós metil	7.06	25	306,1	108,1	32	164,1	22
88	Piriproxifeno	7.66	23	322,1	227,1	14	96	14
89	Propamocarbe	2.12	22	189,1	144	12	102	17

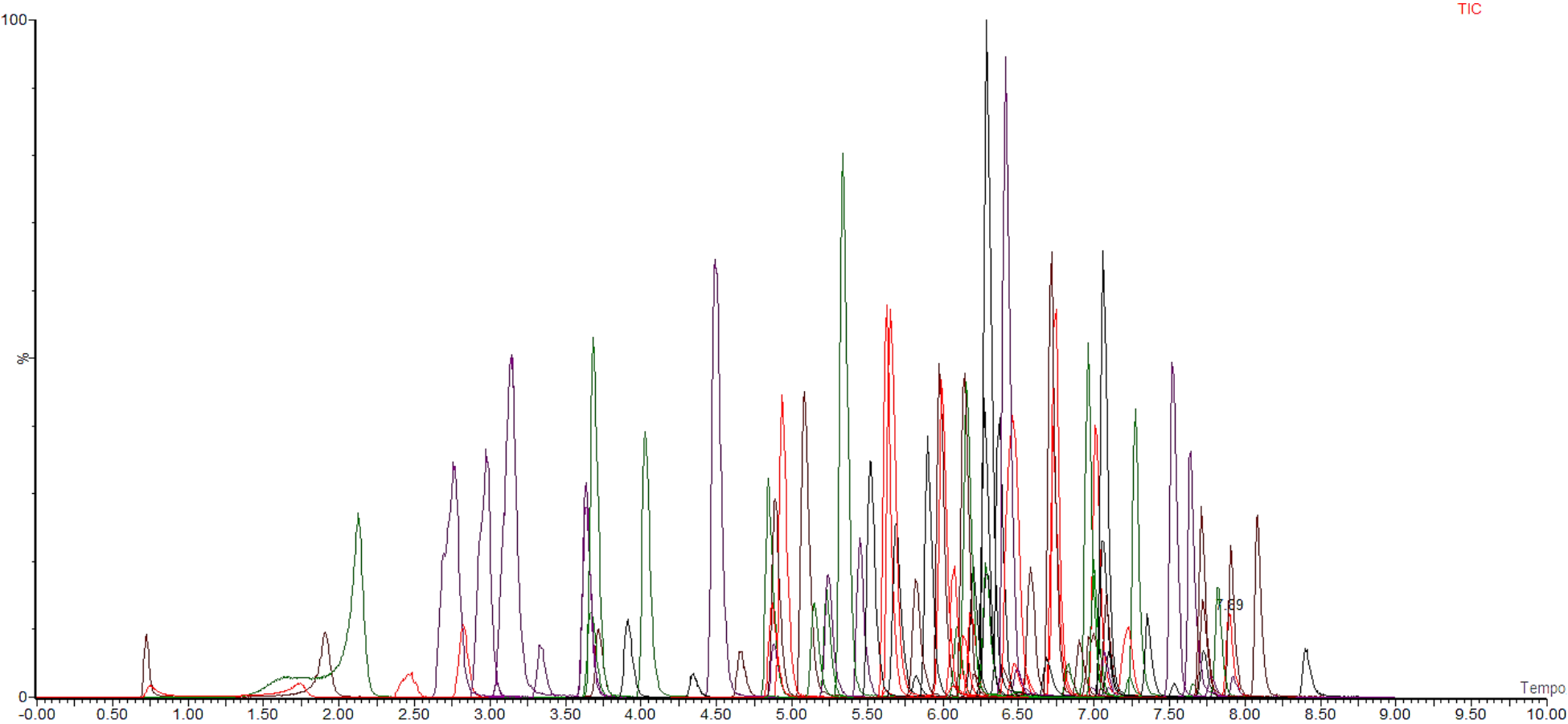
Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLC-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produto, e energias de colisão (EC) utilizados.

Nº	Analito	t_R (min)	VC (V)	Íon Precursor (m/z)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação	
					Íon produto (m/z)	EC (eV)	Íon produto (m/z)	EC (eV)
90	Propargito	7.82	15	368	231	15	175	15
91	Propiconazol	6.98	37	342	69	22	159	34
92	Propoxur	4.88	12	210	168	10	111	16
93	Quinoxifeno	7.71	52	308	161,9	44	197	3302
94	Saflufenacil	5.89	30	501,1	349	30	198	49
95	Simazina	4.87	34	202	96	22	124	16
96	Tebufenozida	6.73	12	353,1	297,1	8	133	20
97	Teflubezurom	7.66	17	380,9	158	20	140,9	40
98	Terbufós	7.54	12	289	57,2	2	103	8
99	Terbutilazina	6.15	28	230	96	28	174	16
100	Tiabendazol	3.14	42	202	131	30	175	25
101	Tiacloprido	4.02	32	253	90,1	40	126	20
102	Tiametoxam	2.81	19	292	132	22	211,2	12
103	Tiodicarbe	5.22	17	355	107,9	16	87,9	16
104	Tiofanato-metil	4.84	23	343,1	311,1	11	151	21
105	Tolclofós-metil	7.09	30	301,1	174,9	29	125	17
106	Triadimenol	6.49	12	296,1	99,1	15	70,2	10
107	Triazofós	6.41	22	314,1	118,9	18	161,9	35
108	Trifloxistrobina	7.27	25	409	145	40	186	16
109	Triflumurom	7.07	23	359	139,1	35	156,1	16
110	Vamidotiona	3.64	17	288	148	10	188	28
111	Zoxamida	7.00	15	336	159	35	187,1	20
112	Atrazina-d5 (PC)	5.49	26	221	101	23	179	18
113	Trifenilfosfato (PI)	6.96	40	327,2	315,2	28	152,1	37

Fonte: A autora (2022). PC: padrão de controle; PI: padrão interno

Na Figura 6 é apresentado o cromatograma de íon totais (TIC, do inglês *total ion chromatogram*), obtido a partir de uma solução padrão (preparada em acetonitrila), utilizando o extrato da matriz de berinjela, na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, contendo todos os agrotóxicos avaliados neste estudo.

Figura 6 - Cromatograma de íons totais obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma solução padrão 10 µg L⁻¹ preparada na matriz de berinjela.



Fonte: A autora (2022).

O sistema cromatográfico (UHPLC) possibilitou a separação dos compostos, enquanto a espectrometria de massas em série (MS/MS) identificou e quantificou os 111 agrotóxicos estudados em um tempo de análise de 10 minutos. O método foi programado para enviar os últimos minutos da corrida (após a eluição dos últimos analitos) ao descarte, evitando que os coextrativos presentes na matriz se depositem nos componentes do espectrômetro de massas.

4.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BERINJELA

4.2.1 Avaliação do método de preparo de amostras

É fundamental o desenvolvimento de preparo de amostras rápidos e simples para extração de resíduos de agrotóxicos de diferentes classes, que apresentam variadas propriedades físico-químicas. Sendo assim, inicialmente foram avaliadas as três variações do método QuEChERS, original (T1), acetato (T2) e citrato (T3), enquanto a sua capacidade para recuperar os compostos de interesse. Foi utilizada uma etapa de limpeza de extrato, possibilitando a injeção do extrato mais limpo no sistema de UHPLC-MS/MS, conforme descrito na Tabela 11.

Através dos ensaios de fortificação, para os 111 agrotóxicos avaliados, verificou-se resultados considerados satisfatórios (recuperação 70 - 120%, com RSD \leq 20%) de 106 compostos para o QuEChERS Original, igualmente 106 compostos para o QuEChERS Citrato e 101 compostos para o QuEChERS Acetato, conforme observado na Tabela 14.

Tabela 14 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (T1: original, T2: acetato e T3: citrato), para 111 agrotóxicos avaliados.

Recuperação (%)	Número de compostos		
	T1: QuEChERS Original	T2: QuEChERS Acetato	T3: QuEChERS Citrato
70-120%	106	101	106
60-70 / 120-130%	1	1	2
50-60 / 130-140%	3	2	2
50< / <140%	1	1	-
RSD > 20	-	6	1

Fonte: A autora (2022).

Essas diferenças encontradas nos resultados de recuperação de cada um dos métodos testados, podem estar associadas às influências do pH sobre o equilíbrio químico que cada composto na solução de extração. Normalmente, a grande maioria dos agrotóxicos são estáveis em pH ácido, porém alguns apresentam baixa recuperação, por estarem protonados e solubilizados na fase aquosa e não serem recuperados na etapa de partição (PRESTES *et al.*, 2009).

A berinjela possui pH natural em torno de 5,20. Considera-se que no método QuEChERS original, que utiliza acetonitrila como solvente de extração sem uma etapa de tamponamento, o pH na extração final apresenta valor aproximado ao extrato inicial. O QuEChERS citrato, apesar de possuir uma etapa de tamponamento de pH 5,0 a 5,5 na solução (na etapa de partição), a extração também é realizada utilizando apenas acetonitrila (ANASTASSIADES *et al.*, 2007). Já no QuEChERS acetato, a extração ocorre com acetonitrila acidificada com ácido acético, e somente o efeito de tamponamento vai ocorrer na etapa de partição com a adição de acetato de sódio, com pH de aproximadamente 4,8 (LEHOTAY *et al.*, 2005).

Como mostrado na tabela 14, o método QuEChERS acetato mostrou-se o menos adequado para a recuperação dos agrotóxicos no extrato da matriz berinjela. Dentre os agrotóxicos que tiveram baixos percentuais de recuperação, estão os que apresentam maiores valores de pKa, como deltametrina, famoxadona, imazalil, propamocarbe e teflubenzurom (Tabela 7). Supõe-se que, como esses compostos possuem menor caráter ácido, resulte em menores recuperações em meio ácido, devido a utilização da acetonitrila acidificada como solvente de extração, diminuindo o pH do extrato final.

Também, foi calculado o efeito matriz resultante para cada versão do método QuEChERS (T1, T2 e T3). A Tabela 15, mostra a comparação do comportamento de todos os 111 agrotóxicos em relação ao efeito matriz calculado para estas versões do método. Percebe-se que, para o método QuEChERS original (T1), dos 111 agrotóxicos avaliados, 78 desses apresentam resultados de efeito matriz de $\pm 20\%$, valores estes que podem ser considerados desprezíveis como efeito matriz, de acordo com a literatura (SANTÉ, 2019). Também, 19 outros agrotóxicos apresentaram valores de efeito matriz de -20 a -50%, considerados brandos. Já 14 agrotóxicos apresentaram valores de efeito matriz considerados altos, de $< -50\%$ ou $> 50\%$. O método QuEChERS citrato (T3) apresentou resultados semelhantes, dos 111 agrotóxicos avaliados, 77 apresentaram valores de efeito matriz de $\pm 20\%$, 19

agrotóxicos apresentaram valores brandos (-20 a -50%) e 15 apresentaram valores altos (<-50% ou >50%). Por outro lado, quando utilizado o QuEChERS acetato (T2), dos agrotóxicos avaliados, 73 apresentam resultados de efeito matriz de $\pm 20\%$, outros 24 agrotóxicos apresentam efeito matriz brando entre as faixas de -20 a -50% e 14 agrotóxicos apresentam valores de efeito matriz de <-50% ou >50%.

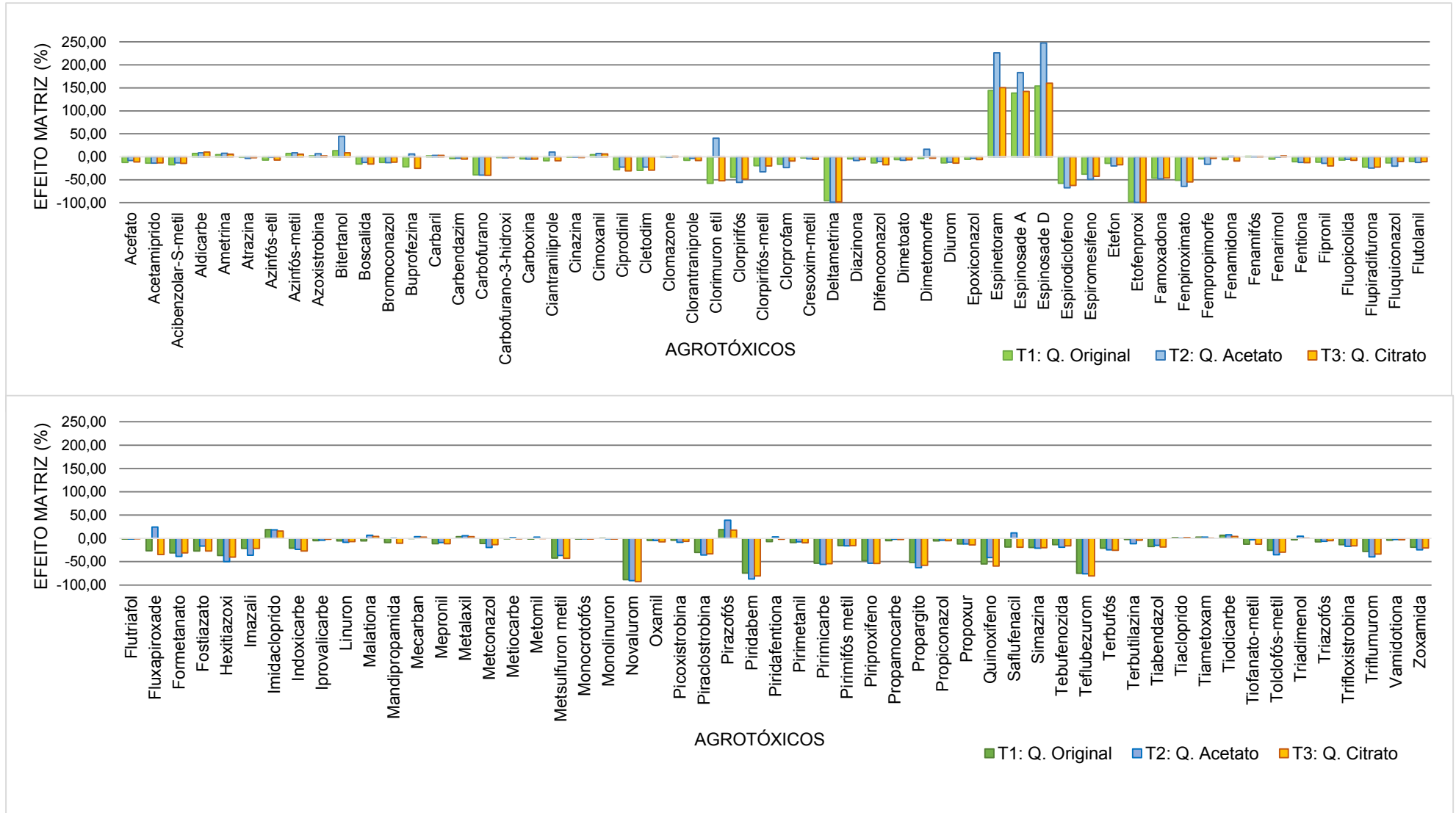
Tabela 15 - Comparação do efeito matriz (%), por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (T1: original, T2: acetato e T3: citrato), para os 111 agrotóxicos avaliados.

Efeito Matriz	Número de compostos		
	T1: QuEChERS Original	T2: QuEChERS Acetato	T3: QuEChERS Citrato
-20 a +20%	78	73	77
-20 a -50%	19	24	19
20 a 50%	-	-	-
>50%	3	3	3
<-50%	11	11	12

Fonte: A autora (2022).

Na Figura 7, são novamente apresentados os resultados do efeito matriz. Percebe-se as diferenças no comportamento dos compostos em relação ao método utilizado. Para maioria dos compostos foi observada uma supressão no sinal, levando a valores de efeito matriz negativo. Alguns agrotóxicos, como espinetoram e espinosade A e D, apresentam uma maior quantidade de coextrativos na fase orgânica, ou seja, efeito matriz >100% (observa-se mais acentuado para o QuEChERS acetato), provocando um aumento na competição dos analitos com os coextrativos. Outros compostos como o bitertanol, clorpirifós metílico e pirazofós apresentaram efeito matriz mais acentuado quando se utiliza o QuEChERS acetado.

Figura 7 - Efeito matriz resultante para cada versão do método QuEChERS testado (T1: original, T2: acetato e T3: citrato).



Fonte: A autora (2022).

Em geral, pode-se observar a presença do efeito de matriz (tanto como supressão, quanto aumento da resposta cromatográfica) para praticamente todos os agrotóxicos. Os métodos QuEChERS original e citrato apresentaram efeito matriz inferior ao QuEChERS acetato e, por terem extraído satisfatoriamente maior número de compostos, foi avaliada a possibilidade de proceder a extração sem a etapa de limpeza para essas duas variações do método (T4 e T5, Tabela 11). Através dos ensaios de fortificação, para os 111 agrotóxicos avaliados, verificou-se resultados considerados satisfatórios (recuperação 70 - 120%, com RSD \leq 20%) de 105 compostos para o QuEChERS original e 104 compostos para o QuEChERS citrato, conforme observado na Tabela 16.

Tabela 16 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (T4: original e T5: citrato) sem etapa de limpeza, para 111 agrotóxicos avaliados.

Recuperação (%)	Número de compostos	
	T4: QuEChERS Original	T5: QuEChERS Citrato
70-120%	105	104
60-70 / 120-130%	2	2
50-60 / 130-140%	2	2
50 < / < 140%	2	2
RSD > 20	-	1

Fonte: A autora (2022).

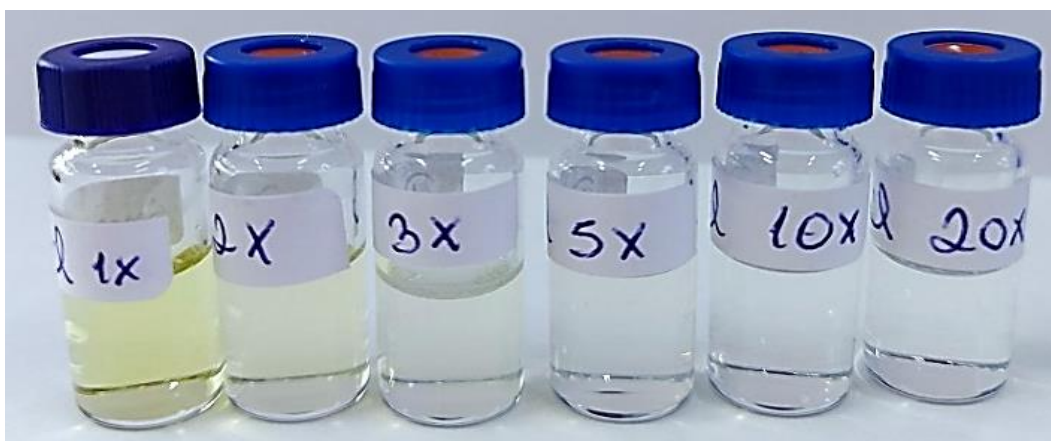
Tendo em vista que, todos os resultados de recuperação e efeito matriz para as versões do método QuEChERS original e citrato foram praticamente semelhantes e, considerando os bons resultados já demonstrados por outros estudos, escolheu-se o método QuEChERS original para a continuidade dos experimentos, já que utiliza menor quantidade de sais na etapa de partição, ou seja, não possui a etapa de tamponamento como o QuEChERS citrato, sendo um método mais simples e mais econômico.

4.2.2 Avaliação das diferentes diluições do extrato e o efeito matriz relacionado

Para diminuir o volume extracolumna e, conseqüentemente, evitar o alargamento do pico cromatográfico, o sistema de UHPLC possui menor diâmetro interno de tubos e reduzida porosidade dos filtros, para reter partículas menores no interior da coluna. Sendo assim, quando comparado ao sistema HPLC, estas alterações fazem com que as tubulações e os filtros da coluna estejam muito mais suscetíveis ao entupimento (MALDANER, JARDIM, 2012). Assim, para minimizar este problema, foi avaliado diferentes diluições do extrato final para o método QuEChERS original, sem a etapa de limpeza, realizados de acordo com a Tabela 11, os Teste T6 a T10. Sendo que foram testadas as proporções de diluição extrato/água ultrapura: 20x: 1:19 (v/v), 10x: 1:9 (v/v), 5x: 1:4 (v/v), 3x: 1:2 (v/v) e 2x: 1:1 (v/v), enquanto a sua capacidade para recuperar os compostos de interesse.

Na Figura 8, é possível observar a diferença visual na coloração das diferentes diluições dos extratos. Nota-se que o extrato de berinjela não possui elevada quantidade de pigmento. Mesmo assim, optou-se por avaliar o efeito matriz, quanto a presença de coextrativos nas diferentes diluições.

Figura 8 – Comparação visual dos extratos obtidos pelas diferentes diluições do método QuEChERS original, sem a etapa de limpeza.

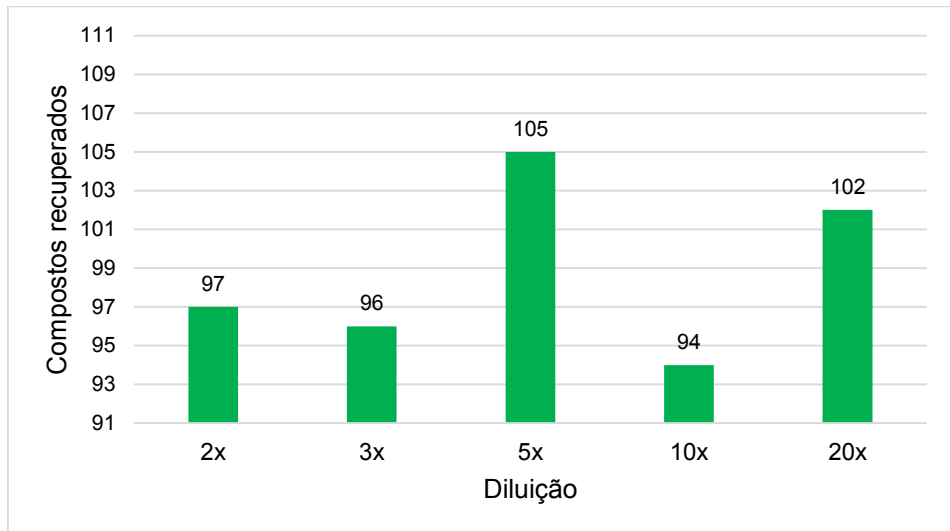


Fonte: A autora (2022).

Os resultados dos testes para a avaliação das diferentes diluições são apresentados na Figura 9. O número de compostos com resultados adequados

(recuperação 70-120% e RSD \leq 20%), foram avaliados em triplicata, com ensaios de fortificação na amostra, com adição de padrão nas amostras antes (FA, fortificação na amostra) e após o procedimento de extração (PA, padrão na amostra).

Figura 9 – Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (entre 70-120% e RSD \leq 20%), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através de diferentes diluições.

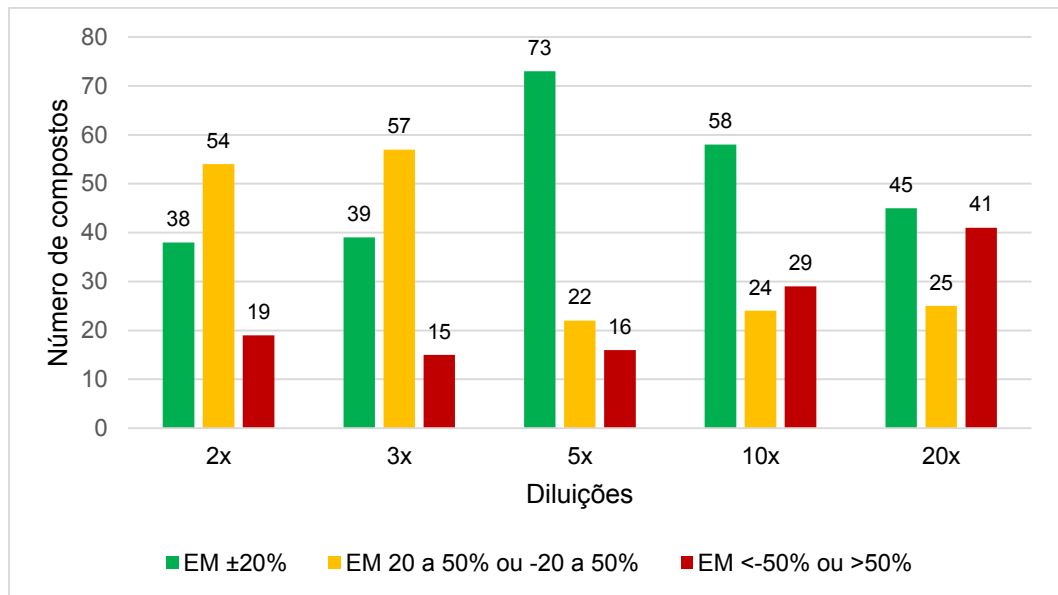


Fonte: A autora (2022).

Como pode ser observado, um número maior de compostos foi recuperado para os extratos diluídos 5 vezes (proporção extrato/água ultrapura 1:4, v/v), onde 105 agrotóxicos obtiveram recuperação satisfatória para os 111 agrotóxicos selecionados.

A avaliação do efeito matriz para as diferentes diluições do extrato em água ultrapura é apresentado na Figura 10. Quando o resultado for de \geq 20%, considera-se que o efeito matriz começa a exercer influência no desempenho analítico do método.

Figura 10 - Efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através de diferentes diluições.

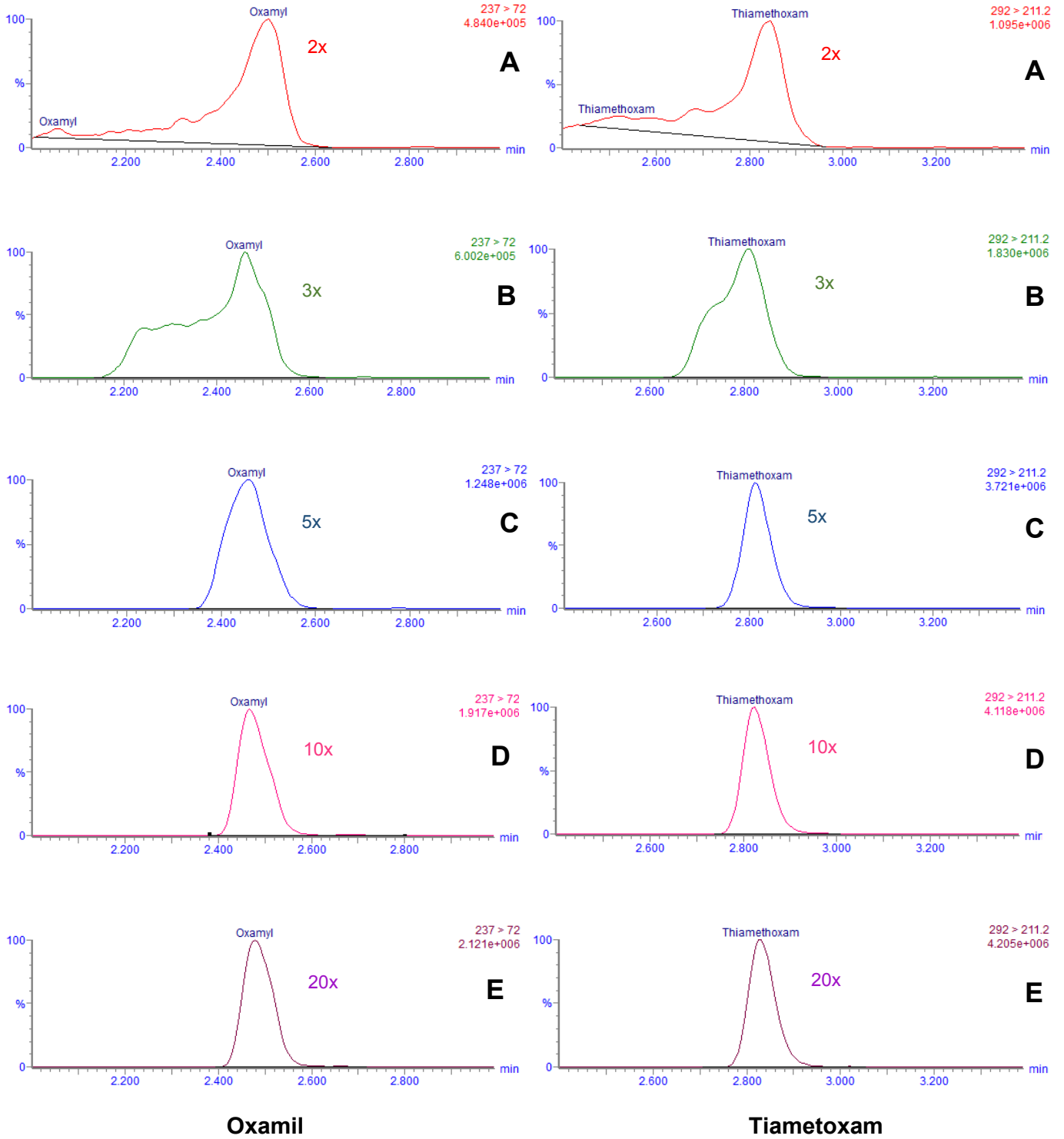


Fonte: A autora (2022).

Observa-se que, os compostos presentes na matriz conseguem provocar efeitos diversos no sistema cromatográfico em diferentes diluições realizadas, o que resulta na variação dos valores das áreas cromatográficas. Para menores valores de diluição, como é o caso de 2 e 3 vezes, nota-se que a matriz tem efeito importante na influência do desempenho analítico, onde 73 e 72 compostos, respectivamente, apresentaram valores de efeito matriz $\geq 20\%$. Quando a diluição foi de 10 e 20 vezes, houve um aumento nos compostos que apresentaram efeito matriz elevado (<-50% ou >50%). Verifica-se que a diluição de 5 vezes apresentou o maior número de compostos que apresentaram valores de efeito matriz desprezíveis, onde foi obtido para 73 compostos valores $\pm 20\%$.

Notou-se também, que quanto maior o fator de diluição, melhor a forma do pico e a intensidade do sinal dos compostos (Figura 11). Considerando as melhores avaliações do efeito matriz e o maior número de compostos recuperados, considerou-se a diluição de 5 vezes como a ideal para a etapa de preparo de amostra. Porém, na tentativa de aumentar o número de agrotóxicos recuperados, buscou-se por avaliar a utilização de diferentes sorventes na etapa de limpeza do extrato. Ainda, levando em consideração que o efeito matriz desempenha influência no desempenho analítico, definiu-se que as curvas analíticas seriam construídas na matriz, para minimizar esse efeito (SANTÉ, 2019).

Figura 11– Cromatograma de íon total (TIC) obtido por UHPLC-MS/MS, para os compostos oxamil e tiametoxam preparados em extrato de berinjela ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) e diluídos em água ultrapura em proporções A: 2x, B: 3x, C: 5x, D: 10x e E: 20x.



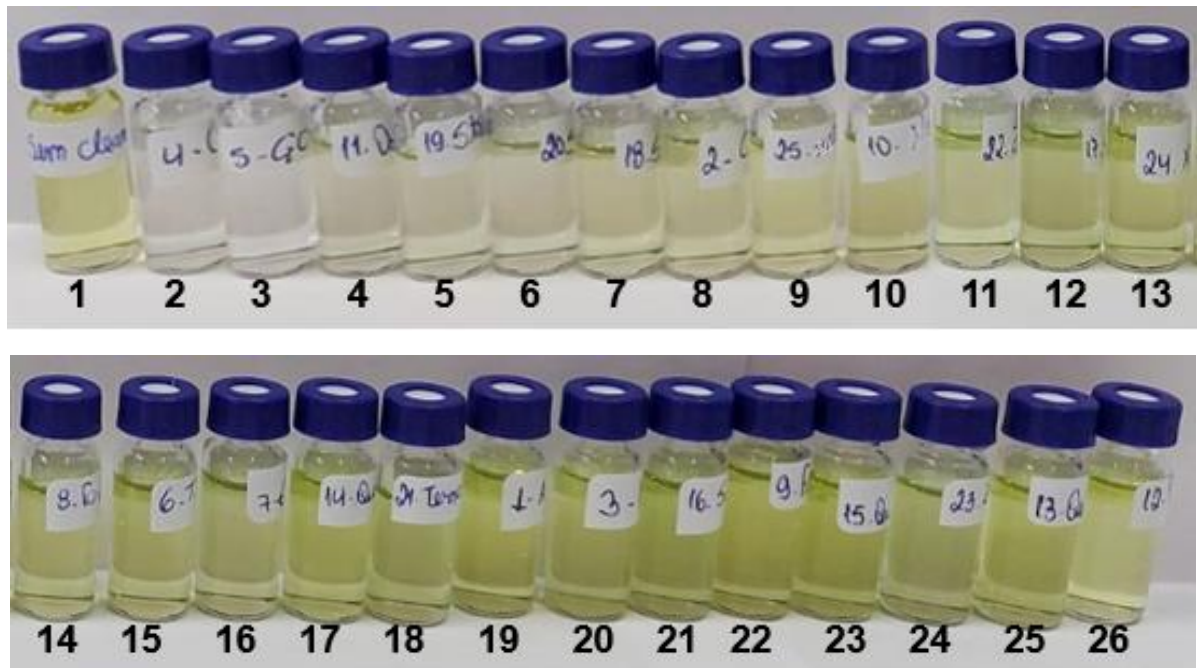
Fonte: A autora (2022).

4.2.3 Avaliação dos sorventes utilizados na etapa de limpeza do extrato

Depois da definição do melhor procedimento de extração e a melhor proporção de diluição do extrato, avaliou-se a utilização de diferentes sorventes na etapa de limpeza. Embora esse processo possa resultar em perda de alguns compostos, aumentar o tempo e o custo das análises, esta etapa representa a alternativa mais recomendada para reduzir possíveis efeitos de matriz (HAJSLOVÁ *et al.*, 1998), como alterações nas porcentagens de recuperação, erros de identificação do analito, devido ao mascaramento do pico ou gerando um falso positivo, com o aumento do sinal do detector, causado quando impurezas voláteis são eluídas com mesmo tempo de retenção dos pesticidas, podendo também causar danos ao sistema cromatográfico (PINHO *et al.*, 2009).

Dada a grande variedade de sorventes disponíveis, e que a maioria deles é composto por grupos orgânicos ligados à sílica (ZANELLA *et al.*, 2015), optou-se por realizar ensaios com diferentes materiais (testes T11 a T35, Tabela 11), a fim de avaliar a remoção efetiva de coextrativos presentes na matriz, sem comprometer a recuperação dos compostos. Nesta avaliação, utilizou-se o método QuEChERS original para a obtenção dos extratos. A Figura 12 apresenta os extratos obtidos após a realização de cada um dos testes de limpeza descritos na Tabela 11 (item 3.7.1).

Figura 12 – Extratos obtidos após utilização de diferentes sorventes na etapa de limpeza, em ordem visual de remoção dos pigmentos.



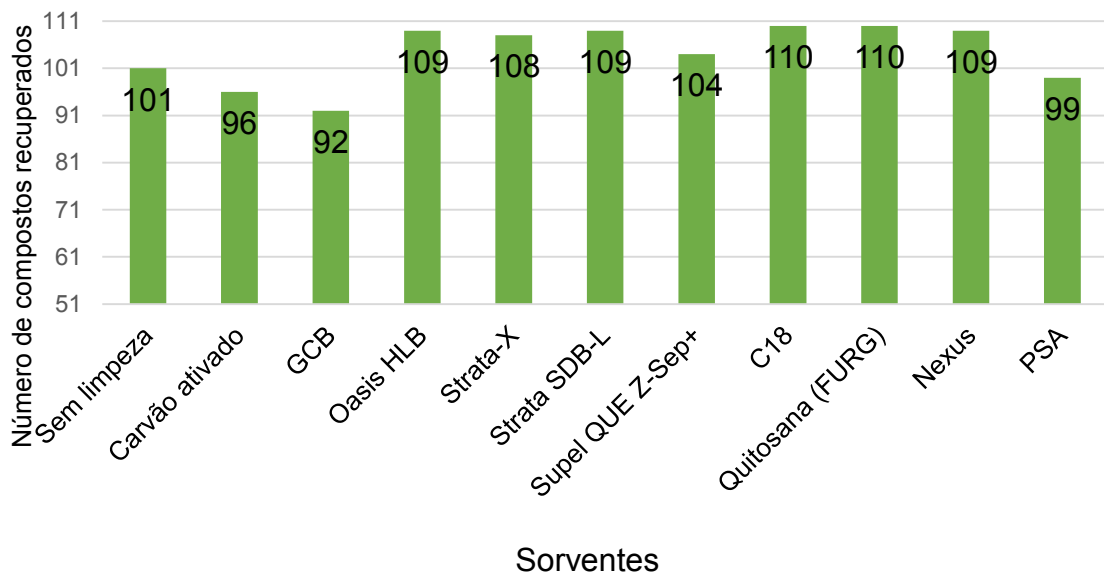
Fonte: A autora (2022). Legenda: 1- Sem limpeza; 2- Carvão ativado (Agilent Technologies, EUA); 3- Carvão grafitizado (GCB), Supelclean ENVI-Carb, não poroso, área superficial 100 m²/g; tamanho de partícula 120/400 mesh (Supelco, EUA); 4- Oasis HLB (Waters, Irlanda); 5- Strata-X (Phenomenex, EUA); 6- Strata SDB-L (Phenomenex, EUA); 7- Supel™ QuE Z-Sep+ (Sigma Aldrich, EUA); 8- Bondesil C18 (octadecilsilano) com tamanho de partícula de 40 µm (Supelco, EUA); 9- Quitosana (FURG); 10- Nexus (Agilent Technologies, EUA); 11 - Bondesil PSA com tamanho de partícula de 40 µm (Supelco, EUA); 12- Sílica gel 50 µm (Sigma-Aldrich, EUA); 13- Zeolite (Sigma-Aldrich, EUA); 14- Fase fluorada (Unicamp, Brasil); 15- EMR-Lipid (Agilent Technologies, EUA); 16- Amberlite® XAD®-2 (Sigma Aldrich, EUA); 17- Nanotubos de carbono estabilizados em esponja quitosana - CNT-CS (FURG); 18- Terra diatomácea (Sigma Aldrich, EUA); 19- Alumina 100-125 mesh (Sigma Aldrich, EUA); 20- Amberlite® XAD®-4 (Sigma Aldrich, EUA); 21- Sílica BondElut SI (Agilent Technologies, EUA); 22- Florisil® (Sigma-Aldrich, Brasil); 23- Quitosana de casca de camarão (Sigma-Aldrich, Islândia); 24- Propilamino (NH₂) (Agilent Technologies, EUA); 25- Quitosana de casca de caranguejo (Sigma-Aldrich, Japão); 26- Celite® 521 Terra diatomacea (Sigma Aldrich, EUA);

Visualmente, é possível observar as diferentes colorações nos extratos da matriz obtidos. Os testes que demonstraram maior eficiência de limpeza (remoção de pigmentos) foram aqueles que utilizaram carvão ativado, GCB, Oasis HLB, Strata-X e Strata SDB-L como sorventes. Assim sendo, optou-se por avaliar a remoção efetiva de coextrativos presentes na matriz dos 10 sorventes que apontaram melhor eficiência da remoção de pigmentos (numerados de 2 a 11 na Figura 12), também comparados com o extrato sem a etapa de limpeza (numerado como 1 na Figura 12).

Os resultados de recuperação são apresentados na Figura 13. O número de compostos com resultados considerados satisfatórios (recuperação 70-120% e RSD

$\leq 20\%$), foram avaliados em triplicata, com ensaios de fortificação em $10 \mu\text{g L}^{-1}$, equivalentes a $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ na amostra (diluição 5 vezes do extrato final), com adição de padrão nas amostras antes (FA, fortificação na amostra) e após o procedimento de extração (PA, padrão na amostra).

Figura 13 – Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (70-120% e RSD $\leq 20\%$), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através da limpeza de extrato por diversos sorventes.



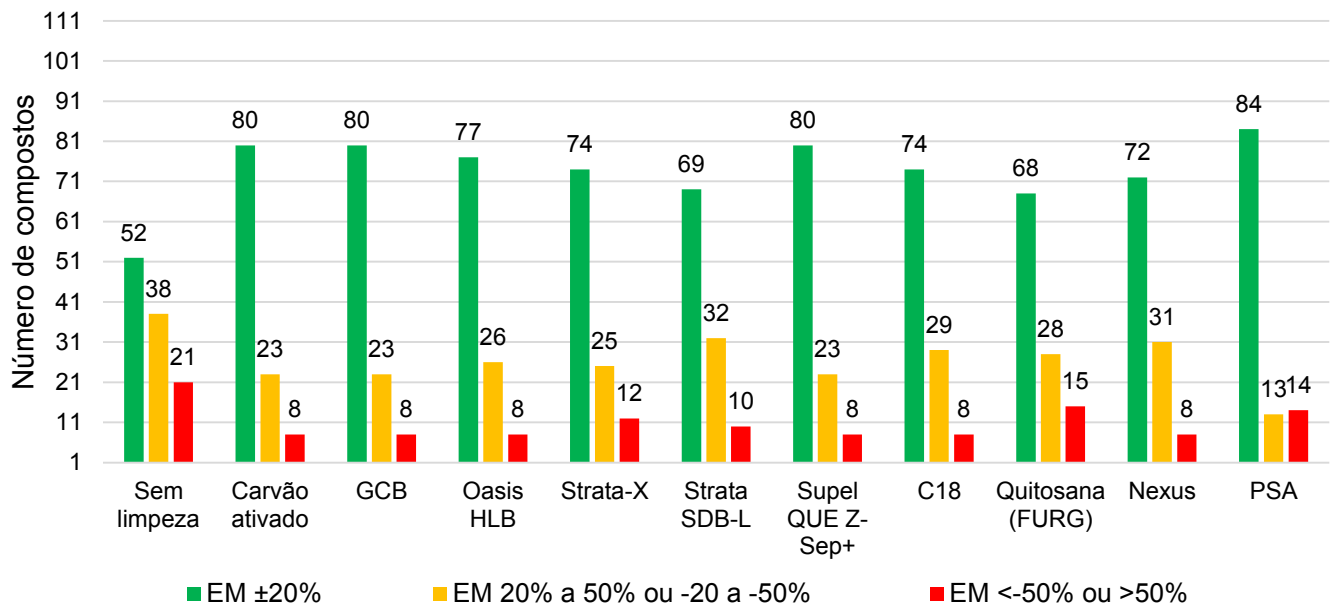
Fonte: A autora (2022).

Também foi avaliada a eficiência da remoção dos coextrativos, através do efeito matriz, conforme dados apresentados na Figura 14.

Ao realizar a comparação destes resultados com os extratos apresentados na Figura 12, pode-se observar que a remoção de pigmentos nem sempre está associada a percentuais de recuperação e RSD adequados.

Visualmente, o carvão ativado (Teste T15) e o GCB (Teste T16) foram os sorventes que provocaram melhor remoção dos pigmentos do extrato e tiveram baixos valores de efeito matriz, devido a sua grande área superficial e boa remoção de coextrativos apolares e são conhecidos por apresentarem forte interação com compostos planares. Ao verificarmos os resultados de recuperação, percebe-se que esses dois sorventes tiveram o menor número de compostos com recuperação considerada satisfatória. Dos 111 agrotóxicos avaliados, somente 96 deles foram recuperados usando carvão ativado e 92 usando como sorvente o GCB.

Figura 14 – Resultado do efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes utilizados.



Fonte: A autora (2022).

Quanto ao uso do sorvente PSA (Teste T24), apesar de apresentar o melhor resultado de efeito matriz, este também não apresentou boa eficiência na recuperação dos compostos, com 99 recuperações efetivas. Devido a sua estrutura bidentada, possui elevado efeito quelante, retendo fortemente ácidos graxos e compostos polares presentes na matriz, sendo considerado o sorvente mais comum em procedimentos QuEChERS para análise de resíduos de agrotóxicos, mas pode reter pesticidas que contenham na sua estrutura grupos de ácido carboxílico, diminuindo a recuperação destes compostos (LEHOTAY, 2007).

Como também já visto anteriormente, o teste sem a etapa de limpeza (Teste T8), foi avaliado para fins de comparação e não apresentou bons resultados de recuperação. Apenas 101 compostos tiveram boas recuperações. Também, mostrou os piores valores de efeito matriz, onde 59 compostos tiveram valores de efeito matriz $\geq 20\%$.

O Teste T33, utilizou o Supel™ QuE Z-Sep+ na etapa de limpeza. Este sorvente contém C18 e zircônia ligados à molécula de sílica e, geralmente, é utilizado para remoção de pigmentos e gorduras (MERCK, 2022), sendo eficiente na remoção de compostos apolares. Através da Figura 14, observa-se que uma boa quantidade de

coextrativos foi removida na limpeza. Porém, o uso deste sorvente promoveu a recuperação efetiva de apenas 104 compostos (Figura 13), apresentando perdas em compostos como ácidos carboxílicos, organofosforados e carbamatos.

Uma quantidade significativa de coextrativos foi removida na limpeza utilizando Oasis[®] HLB (Teste T22), Strata[®]-X (Teste T32), Strata[®] SDB-L (Teste T31) e Bond Elut Nexus (Teste T21), com resultados considerados adequados de efeito matriz. Esses sorventes poliméricos, apresentam características lipofílicas e hidrofílicas, com uma superfície modificada polar e a outra não polar, com grande facilidade de retenção compostos com uma ampla faixa de polaridade (AGILENT, 2022). Os resultados da Figura 13 mostram que o número de agrotóxicos com percentuais de recuperação e RSD inadequados foi de três compostos quando utilizado o Strata[®]-X e dois compostos quando usado Oasis[®] HLB ou Strata[®] SDB-L ou Bond Elut Nexus.

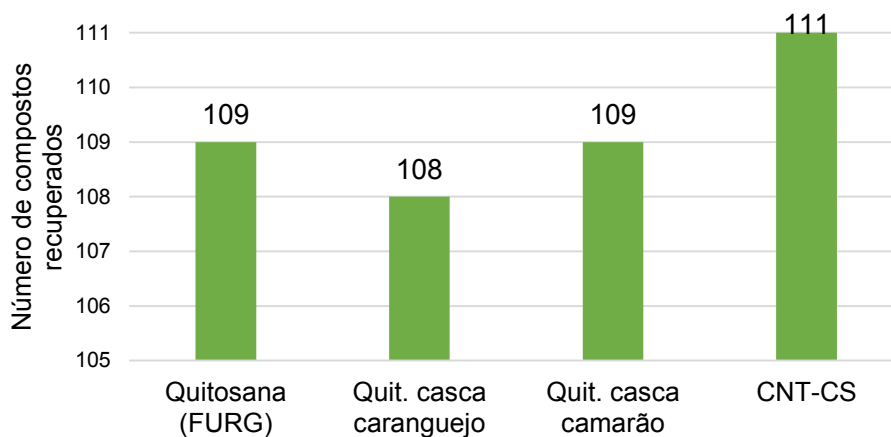
Os sorventes C18 (Teste T14) e a quitosana – FURG (Teste T25) apresentaram os resultados mais satisfatórios de recuperação dos analitos na faixa aceitável, com perda de apenas um deles. Entre os sorventes de sílica ligado, o octadecilsilano ou C18 é considerado o sorvente que contém o mais alto espectro de retenção. É usualmente empregado para a remoção de interferentes polares em diversos tipos de matrizes, principalmente com alto teor de gordura (CABRERA *et al.*, 2012) e, também, apresentou resultados satisfatórios na avaliação do efeito matriz.

A utilização da quitosana como sorvente de extração apresentou uma influência maior do efeito matriz, quando comparado ao uso do sorvente C18. Por outro lado, a quitosana é um sorvente de baixo custo, originado de polímeros naturais, abundante e biodegradável, com grupos reativos químicos (função hidroxila, acetamida e amino) em cadeias poliméricas de sua estrutura (ARIAS *et al.* 2017).

Levando em consideração essas vantagens e observando os bons resultados obtidos na sua utilização como sorvente na etapa de limpeza após extração no método QuEChERS original, optou-se por realizar novamente o teste T25 (quitosana – FURG), comparando com os resultados dos testes realizados com outros tipos de quitosana disponíveis no laboratório. Portanto, também foram executados os testes T26 (quitosana de casca de camarão, disponível comercialmente pela Sigma-Aldrich), T27 (quitosana de casca de caranguejo, também disponível comercialmente pela Sigma-Aldrich) e T28 (nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS, obtidos pela FURG).

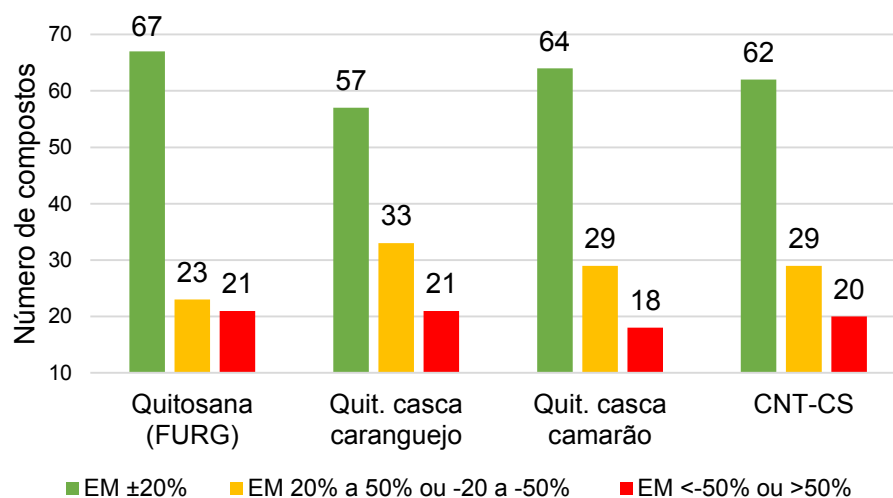
Os resultados destes testes no qual foram avaliados a recuperação são apresentados na Figura 15, e para o efeito matriz, através da eficiência de remoção dos coextrativos, apresentados na Figura 16.

Figura 15 - Quantidade de compostos que apresentaram recuperações satisfatórias (entre 70-120% e $RSD \leq 20\%$), dos 111 agrotóxicos avaliados, obtidos através da limpeza de extrato empregando quitosana – FURG, quitosana comercial de casca de caranguejo e casca de camarão e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.



Fonte: A autora (2022).

Figura 16 - Resultado do efeito matriz resultante para os 111 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando quitosana – FURG, quitosana comercial de casca de caranguejo e casca de camarão e nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS.



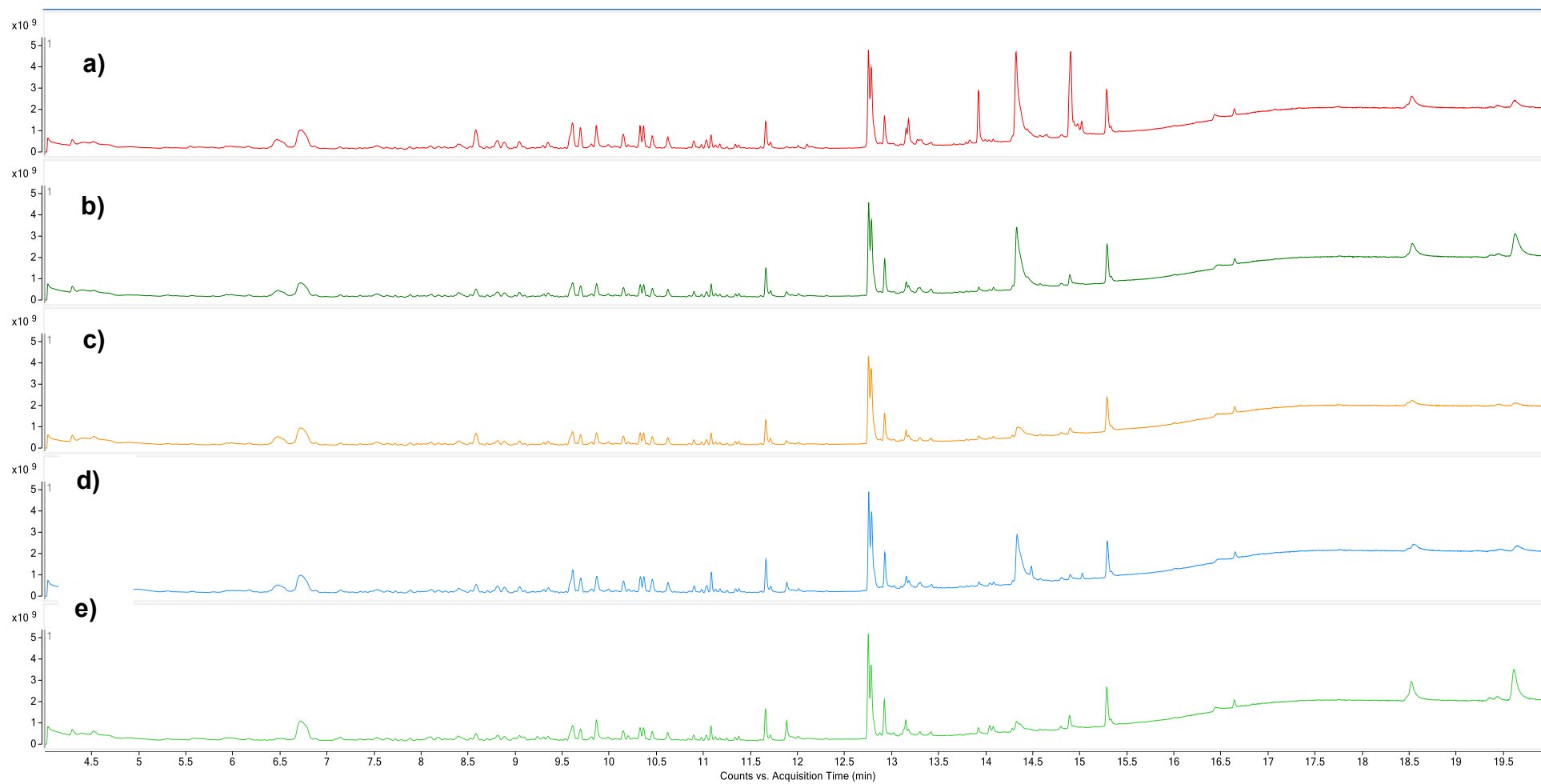
Fonte: A autora (2022).

De acordo com os resultados das Figura 15 e 16, a quitosana comercial de casca de caranguejo apresentou os piores resultados de recuperação para os compostos avaliados, onde três deles não puderam ser recuperados. Bem como, o quando examinado o efeito matriz, percebe-se que também apresentou resultados considerados insatisfatórios ($\geq 20\%$) para 54 compostos (Figura 16). A quitosana-FURG e quitosana comercial de casca de camarão, não recuperaram dois dos 111 agrotóxicos estudados, apesar da utilização da quitosana da FURG apresentar os valores mais satisfatórios para o efeito matriz avaliado.

Além disso, na figura 17, é apresentado a varredura no modo *full scan* por GC-MS/MS do extrato da matriz “branco” sem a etapa de limpeza (teste T8) e também com o uso dos sorventes de quitosana (testes T25 a T28) para a avaliar a remoção de pigmentos e a eficiência da extração. Percebe-se que o cromatograma referente ao teste T25, teste este que usou a quitosana desenvolvida pela FURG que foi mais eficiente na remoção dos interferentes da matriz.

Já o uso do sorvente nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT-CS) obtidos pela FURG, apesar de não mostrar os melhores resultados quando avaliado e comparado o efeito matriz aos outros sorventes, recuperou satisfatoriamente todos os compostos. Este foi escolhido como sorvente ideal para a etapa de limpeza do extrato da amostra de berinjela, além de ser considerado um sorvente com alta capacidade de adsorção, regenerável e estável, combinando as características adsorptivas e mecânicas dos nanotubos de carbono, com uma estrutura altamente porosa de um biopolímero que possui grupos funcionais com alto potencial de interação com compostos em solução.

Figura 17 - Cromatogramas obtidos a partir de injeções no sistema GC-MS/MS no modo *full scan*, do extrato “branco” de berinjela a) sem a etapa de limpeza (vermelho) e extratos obtidos após a etapa de limpeza utilizando os sorventes: b) quitosana de casca de caranguejo (verde escuro), c) quitosana – FURG (amarelo), d) nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana - CNT-CS (azul) e e) quitosana de casca de caranguejo) (verde claro).



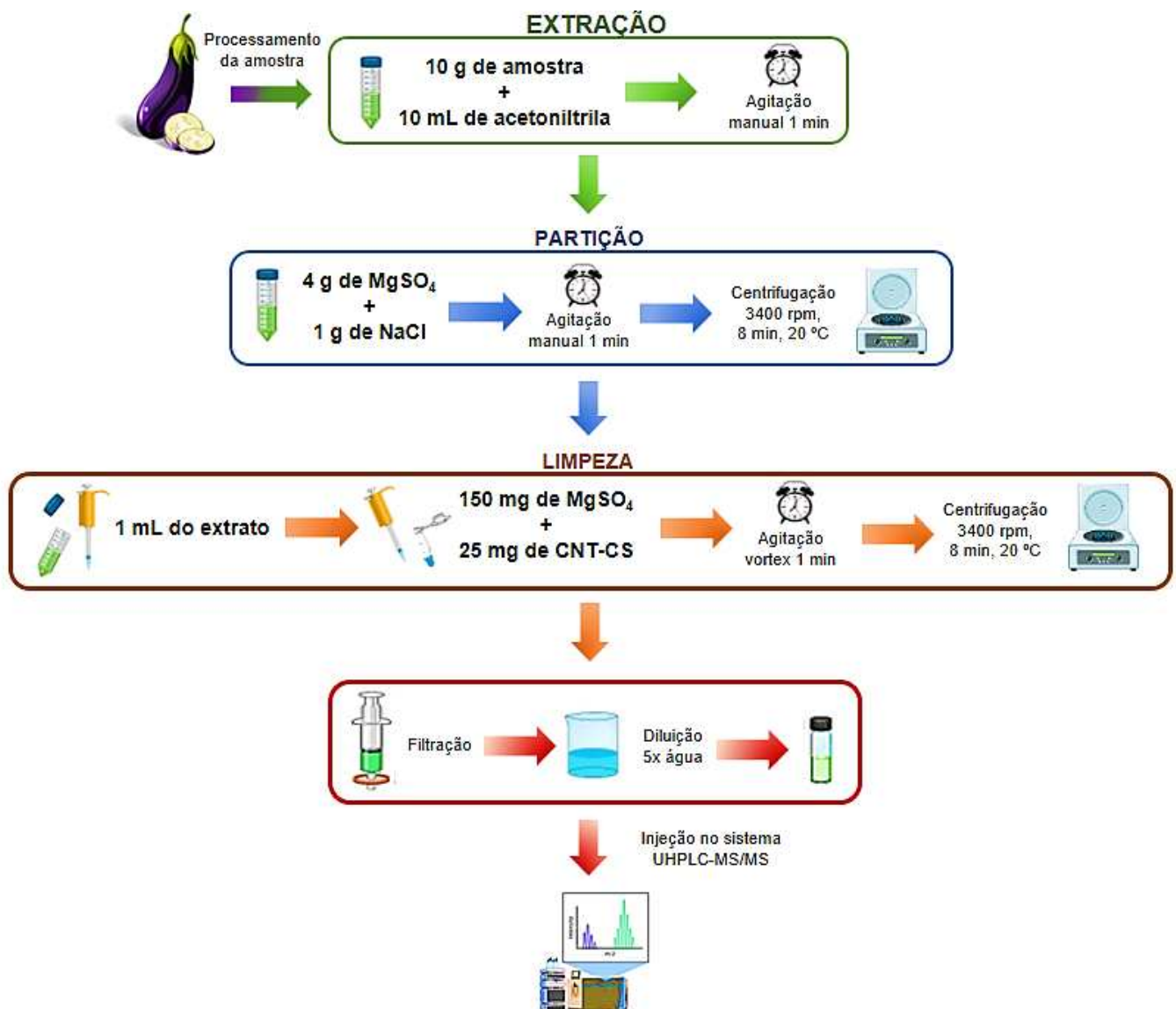
Fonte: A autora (2022).

4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO

O objetivo da validação de um método analítico é comprovar que ele é adequado à finalidade a que se destina e produz resultados confiáveis, ou seja, que ao ser avaliado atenda aos critérios de aceitação recomendados. A validação objetiva assegurar a qualidade dos resultados analíticos, conferindo-lhes confiabilidade, rastreabilidade, precisão e confiabilidade (ANVISA, 2017).

O método proposto (Figura 18), baseado no método QuEChERS original, foi desenvolvido, validado e aplicado no preparo de amostras de berinjela.

Figura 18 – Procedimento de extração e limpeza de extrato otimizado para determinação de resíduos de agrotóxicos em berinjela por UHPLC-MS/MS.



Fonte: A autora (2022).

A validação do método para os agrotóxicos relacionados na Tabela 13 (item 4.1) foi realizada de acordo com os guias SANTÉ (2019), INMETRO (2020) e ANVISA (2017). As soluções analíticas empregadas neste estudo foram preparadas em solvente (acetonitrila) e no extrato obtido através do “branco” de berinjela.

O método validado consiste em pesar 10 g da amostra de berinjela, onde são adicionados 10 mL de acetonitrila, seguida por agitação manual por 1 minuto. Os sais de extração QuEChERS original (4 g de $MgSO_4$ e 1 g de NaCl) são adicionados e novamente é realizada uma agitação manual por 1 minuto e posterior centrifugação (8 min, 3500 rpm a 20 °C). Na etapa de limpeza do extrato, 1 mL de sobrenadante são adicionados a uma mistura de sorventes contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 25 mg de CNT-CS. Após agitação por 1 minuto em vortex e centrifugação (8 min, 3500 rpm a 20 °C), o extrato de berinjela é filtrado (filtros de nylon de 13 mm e porosidade de 0,2 μm), em seguida é diluído 5 vezes em água ultrapura e, então, realizada a análise por UHPLC-MS/MS.

Desta maneira, avaliou-se os parâmetros de validação do método analítico para os 111 agrotóxicos em estudo para os seguintes critérios: seletividade, faixa de trabalho, efeito matriz, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão (repetibilidade e precisão intermediária).

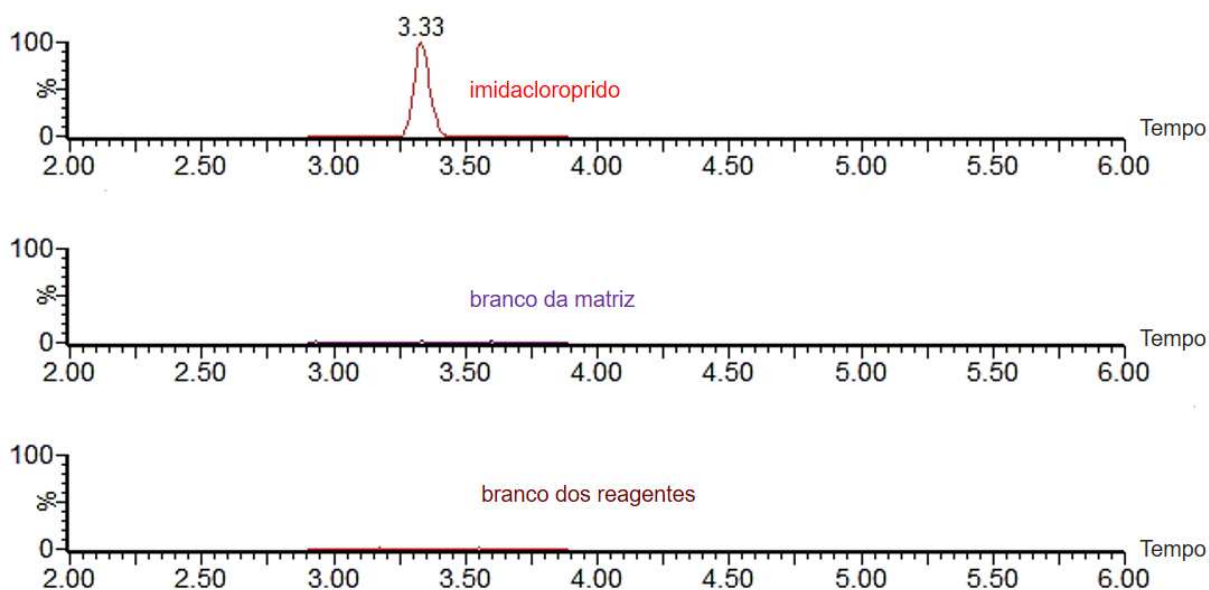
4.3.1 Seletividade

A seletividade de um método é a capacidade de assegurar a ausência de interferentes no mesmo tempo de retenção, íons de quantificação e de confirmação dos analitos de interesse, ou seja, garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (RIBANI et al., 2004). O método proposto apresentou uma seletividade apropriada, dado que a comparação dos cromatogramas do extrato “branco” da matriz de berinjela, do “branco dos reagentes” e do extrato do “branco” de berinjela fortificado com uma solução 10 $\mu g L^{-1}$ não foi verificada a presença de interferentes no mesmo tempo de retenção dos agrotóxicos selecionados, garantindo a seletividade do método proposto.

A Figura 19 apresenta os cromatogramas obtidos por UHPLC-MS/MS para a amostra “branco” de berinjela, branco dos reagentes e da solução analítica no extrato da matriz para o composto imidacloroprido, na concentração de 10 $\mu g L^{-1}$. Observa-

se que não foi verificada a presença de interferentes no mesmo tempo de retenção (t_R 3,33 min) do agrotóxico.

Figura 19 - Cromatograma de íon total do composto imidacloprido, obtidos para (a) solução analítica no extrato da matriz (em vermelho) na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, (b) “branco” da amostra berinjela (em lilás) e (c) o branco dos reagentes (em marrom), obtido por UHPLC-MS/MS.



Fonte: A autora (2022).

4.3.2 Linearidade

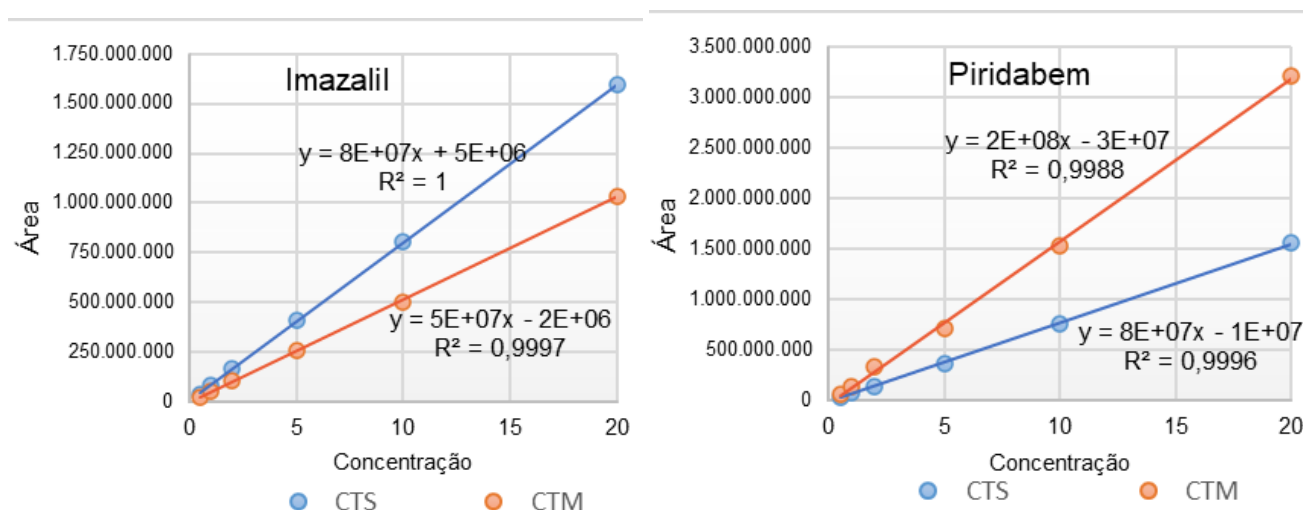
A linearidade do procedimento foi assegurada através da avaliação do coeficiente de determinação (r^2), obtido em curvas preparadas no extrato da matriz. A curva analítica foi preparada inicialmente em solvente (acetonitrila) e, posteriormente, na matriz. As concentrações dos pontos da curva avaliados foram: 0,5; 1; 2; 5; 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$, o que permitiu que cada composto avaliado apresentasse coeficiente de determinação (r^2) maior que 0,990, como pode ser observado na Tabela 17. Além disso, a faixa de trabalho ficou entre $0,5$ a $20 \mu\text{g L}^{-1}$.

4.3.3 Efeito Matriz

O efeito matriz (EM) foi avaliado pela comparação entre os coeficientes angulares das curvas analíticas preparadas no solvente (acetonitrila) e no extrato da amostra “branco” de berinjela, através da Equação 4.

A faixa de concentração avaliada foi de 0,5 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Como pode ser verificado na Figura 20, quando comparado o coeficiente angular das curvas analíticas preparadas no solvente e na matriz para o composto imazalil, que apresentou efeito matriz de -35%, conforme a Tabela 17, percebe-se que o coeficiente angular do solvente é maior do que na matriz, ou seja, as áreas dos pontos da curva são maiores quando não há interferência da matriz. Já para o composto piridabem, que apresentou efeito matriz de 105%, o coeficiente angular na matriz é maior do que no solvente, devido a presença de maior quantidade de coextrativos na fase orgânica e, conseqüentemente, aumento da resposta cromatográfica, optando-se em preparar as curvas analíticas no extrato da matriz.

Figura 20 – Gráfico representativo do efeito matriz ao comparar as curvas em solvente (acetonitrila) e na matriz (berinjela), para os compostos imazalil e piridabem.



Fonte: A autora (2022).

O aumento de sinal que produz um efeito matriz de $\pm 20\%$ é considerado aceitável ou depressível. Como pode ser observado na Tabela 17, é possível identificar através dos dados, que a matriz exerce influência no sinal analítico, com

valores de efeito da matriz bem significantes. Avaliando os dados, percebe-se que os valores são prioritariamente positivos. Para os 111 dos compostos avaliados, 27 destes compostos apresentaram efeito matriz $> 20\%$, podendo-se considerar que o efeito matriz exerce influência no desempenho analítico do método para esses compostos, como o caso do inseticida e formicida deltametrina, que apresentou efeito matriz de 337%, ou seja, um aumento considerável no sinal do detector, causando a superestimação do resultado. Isso acontece quando impurezas voláteis são eluídas com mesmo tempo de retenção dos analitos de interesse (HAJSLOVÁ; ZROSTLÍKOVÁ, 2003).

Os valores negativos obtidos indicam efeito de supressão do sinal cromatográfico. De acordo com a Tabela 17, apenas 5 dos compostos avaliados apresentam valores de efeito matriz $\geq 20\%$. Normalmente, a ocorrência da supressão do sinal cromatográfico é devido a presença compostos co-eluídos, oriundos da matriz, que competem com os analitos na ionização favorecendo as moléculas mais ionizáveis e de maiores concentrações, o que provoca a diminuição do sinal do composto de interesse (OSHITA; JARDIM, 2015).

4.3.4 Limite de detecção e de quantificação

Para o método, conforme mencionado anteriormente, o limite de quantificação (LOQ) foi determinado a partir dos ensaios de fortificação, onde foi considerado como sendo o menor nível de fortificação ($\mu\text{g kg}^{-1}$), que tenha sinal/ruído > 10 , no qual a precisão e a exatidão dos compostos de interesse encontraram-se dentro dos níveis aceitáveis de recuperação e desvio padrão relativo (70 a 120%; $\text{RSD} \leq 20\%$) (SANTÉ, 2019). O valor do limite de detecção (LOD) foi obtido, a partir do valor do LOQ, dividindo-o por 3,33.

Como pode ser observado na Tabela 17, os valores de LOQ do método estiveram na faixa de 5 a 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e os de LOD de 1,5 a 7,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Estes valores de LOQ e LOD são considerados satisfatórios para o método desenvolvido e validado, uma vez que, para os compostos que possuem valores de LMRs estabelecidos para a cultura de berinjela, os valores de LOQ obtidos na validação do método proposto estão abaixo dos limites estabelecidos, tanto pela ANVISA, como pela EU e Codex Alimentarius.

4.3.5 Exatidão e Precisão

Com o intuito de avaliar a exatidão e a precisão do método, foram considerados os valores de recuperação e de desvio padrão relativo recomendados pela legislação internacional (SANTÉ, 2019), valores entre 70 e 120% e RSD \leq 20%, respectivamente.

Para a exatidão do método foram realizados ensaios de recuperação dos compostos selecionados em 4 níveis de fortificação (5, 10, 25 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$), cada nível com 7 replicatas. Os resultados mostraram que 99 dos 111 agrotóxicos avaliados apresentaram valores de recuperação aceitáveis no nível de fortificação mais baixo (5 $\mu\text{g kg}^{-1}$); 11 agrotóxicos apresentaram recuperações adequadas para 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e apenas 1 agrotóxico só recuperou adequadamente a partir do nível 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Já para os valores de RSD, notou-se que todos os 111 compostos apresentaram valores adequados para os 4 níveis selecionados, conforme observado na Tabela 17.

Além da precisão do método, avaliada com base nas replicatas, a precisão intermediária foi avaliada em um intervalo de 4 dias em relação ao primeiro teste. O mesmo teste de validação foi repetido por um analista distinto, variando-se o lote e fabricante da acetonitrila (solvente de extração) e cloreto de sódio (sal de partição); porém no mesmo local, nas mesmas condições e com o mesmo equipamento. Os resultados também se encontram dispostos na Tabela 17.

Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).

(continua)

Nº	Agrotóxicos	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	r^2	Nível de Repetitividade ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				EM (%)
					Recuperação (\pm RSD)				Recuperação (\pm RSD)				
					5	10	25	50	5	10	25	50	
1	Acefato	5	1,5	0,9998	106 (1)	98 (3)	94 (4)	94 (1)	95 (2)	95 (2)	92 (1)	90 (2)	-5
2	Acetamiprido	5	1,5	0,9993	97 (4)	107 (4)	108 (3)	104 (1)	81 (3)	99 (1)	102 (1)	99 (1)	-9
3	Acibenzolar-S-metil	5	1,5	0,9994	101 (9)	110 (9)	97 (6)	98 (6)	83 (16)	98 (7)	96 (7)	95 (3)	4
4	Aldicarbe	5	1,5	0,9984	120 (4)	105 (4)	99 (5)	99 (3)	100 (5)	99 (4)	97 (5)	96 (5)	9
5	Ametrina	5	1,5	0,9980	118 (3)	109 (2)	100 (4)	100 (3)	107 (2)	102 (2)	98 (4)	96 (2)	4
6	Atrazina	5	1,5	0,9995	111 (5)	107 (2)	101 (3)	99 (2)	95 (2)	99 (2)	120 (2)	108 (2)	-5
7	Azinfós-etil	10	3	0,9936	169 (15)	120 (15)	118 (5)	112 (7)	64 (25)	120(25)	89 (11)	91 (8)	26
8	Azinfós-metil	5	1,5	0,9978	113 (19)	112 (13)	105 (8)	102 (6)	100 (18)	92 (17)	99 (9)	91 (5)	1
9	Azoxistrobina	5	1,5	0,9994	114 (5)	107 (3)	101 (5)	101 (1)	103 (4)	102 (3)	98 (2)	96 (5)	9
10	Bitertanol	5	1,5	0,9985	120 (10)	114 (16)	93 (6)	91 (6)	100 (11)	112 (7)	86 (16)	95 (3)	68
11	Boscalida	5	1,5	0,9993	104 (8)	110 (2)	102 (4)	101 (2)	100 (12)	115 (7)	115 (16)	115 (2)	6
12	Bromoconazol	5	1,5	0,9994	103 (7)	97 (6)	91 (5)	90 (5)	87 (10)	92 (13)	91 (7)	92 (2)	-6
13	Buprofezina	5	1,5	0,9994	115 (3)	111 (2)	103 (3)	102 (3)	103 (4)	106 (4)	99 (5)	104 (4)	6
14	Carbaril	5	1,5	0,9994	114 (4)	109 (3)	103 (3)	102 (2)	103 (5)	104 (3)	98 (3)	97 (2)	0
15	Carbendazim	5	1,5	0,9991	115 (2)	105 (2)	99 (2)	97 (2)	98 (2)	99 (2)	95 (2)	93 (2)	-4
16	Carbofurano	5	1,5	0,9996	109 (3)	107 (3)	102 (2)	102 (1)	102 (3)	105 (5)	100 (2)	100 (1)	1
17	Carbofurano-3-hidroxi	5	1,5	0,9997	112 (6)	109 (4)	105 (3)	103 (2)	98 (6)	101 (3)	98 (2)	97 (2)	1
18	Carboxina	5	1,5	0,9996	96 (2)	100 (4)	93 (3)	99 (1)	70 (1)	72 (9)	82 (9)	88 (1)	-4
19	Ciantraniliprole	5	1,5	0,9992	111 (6)	99 (6)	99 (3)	96 (2)	103 (3)	101 (4)	91 (6)	93 (2)	59
20	Cinazina	5	1,5	0,9992	115 (6)	117 (6)	106 (4)	105 (3)	91 (6)	99 (7)	91 (12)	85 (5)	4
21	Cimoxanil	5	1,5	0,9994	114 (1)	111 (3)	107 (2)	105 (2)	103 (4)	106 (1)	98 (2)	96 (3)	10
22	Ciprodinil	5	1,5	1,0000	103 (10)	105 (9)	96 (6)	97 (5)	87 (13)	100 (9)	97 (10)	100 (4)	-22
23	Cletodim	25	7,5	0,9968	141 (1)	184 (6)	120 (9)	119 (4)	164 (3)	128 (17)	119 (13)	120 (7)	-66
24	Clomazone	5	1,5	0,9994	115 (2)	109 (2)	101 (3)	101 (2)	104 (4)	103 (2)	101 (7)	98 (2)	6

Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).

(continua)

Nº	Agrotóxicos	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	r^2	Nível de Repetitividade ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				EM (%)
					Recuperação (\pm RSD)				Recuperação (\pm RSD)				
					5	10	25	50	5	10	25	50	
25	Clorantraniprole	5	1,5	0,9999	109 (5)	115 (6)	109 (7)	106 (3)	87 (10)	96 (14)	94 (7)	92 (2)	-3
26	Clorimuron etil	5	1,5	0,9997	95 (11)	104 (5)	108 (6)	106 (4)	101 (12)	95 (13)	76 (9)	75 (6)	147
27	Clorpirifós	5	1,5	0,9981	105 (4)	93 (3)	91 (6)	88 (2)	111 (7)	95 (5)	88 (6)	81 (7)	31
28	Clorpirifós-metil	10	3	0,9984	131 (7)	99 (9)	98 (12)	100 (9)	116 (19)	97 (16)	86 (12)	91 (7)	8
29	Clorprofam	5	1,5	0,9949	117 (17)	108 (17)	96 (19)	89 (18)	117 (17)	99 (19)	91 (13)	85 (8)	12
30	Cresoxim-metil	5	1,5	0,9997	119 (11)	108 (16)	101 (11)	99 (7)	120 (10)	104 (17)	95 (12)	95 (8)	0
31	Deltametrina	5	1,5	0,9972	119 (6)	104 (6)	96 (3)	91 (2)	101 (6)	95 (4)	91 (11)	87 (6)	337
32	Diazinona	5	1,5	0,9989	116 (3)	109 (5)	101 (3)	99 (2)	102 (6)	108 (2)	100 (10)	106 (3)	-3
33	Difenoconazol	5	1,5	0,9990	114 (2)	103 (4)	91 (4)	85 (3)	93 (5)	98 (3)	84 (5)	84 (7)	30
34	Dimetoato	5	1,5	0,9994	107 (5)	112 (3)	110 (4)	106 (1)	87 (5)	104 (1)	104 (3)	103 (2)	-13
35	Dimetomorfe	5	1,5	0,9997	110 (4)	111 (3)	107 (3)	107 (2)	101 (6)	110 (3)	100 (7)	102 (3)	34
36	Diurum	5	1,5	0,9997	105 (3)	105 (2)	106 (3)	105 (2)	90 (6)	92 (9)	88 (4)	86 (2)	-7
37	Epoconazol	5	1,5	0,9987	120 (6)	110 (4)	100 (3)	95 (3)	107 (4)	101 (3)	92 (7)	87 (3)	12
38	Espinetoram	10	3	0,9958	130 (6)	110 (8)	107 (5)	110 (6)	101 (6)	94 (11)	102 (10)	101 (7)	44
39	Espinosade A	10	3	0,9956	138 (4)	116 (5)	109 (4)	110 (5)	104 (7)	105 (13)	110 (6)	115 (5)	51
40	Espinosade D	10	3	0,9939	140 (5)	113 (8)	110 (5)	109 (5)	108 (6)	95 (12)	99 (8)	98 (6)	56
41	Espirodiclofeno	5	1,5	0,9981	102 (3)	88 (3)	87 (4)	86 (3)	105 (3)	93 (8)	85 (11)	75 (8)	81
42	Espiromesifeno	5	1,5	0,9991	99 (11)	95 (10)	93 (4)	88 (4)	92 (12)	96 (8)	94 (14)	91 (5)	14
43	Etefon	5	1,5	0,9986	116 (3)	108 (3)	100 (4)	99 (2)	96 (5)	98 (2)	95 (4)	97 (5)	3
44	Etofenproxi	5	1,5	0,9998	96 (9)	90 (8)	96 (4)	96 (3)	111 (6)	103 (6)	93 (9)	90 (10)	171
45	Famoxadona	5	1,5	0,9921	120 (15)	103 (19)	98 (4)	90 (9)	121 (6)	100 (13)	84 (17)	81 (5)	62
46	Fenpiroximato	5	1,5	0,9950	120 (3)	98 (6)	87 (5)	84 (4)	112 (3)	89 (9)	79 (22)	70 (4)	116
47	Fempropimorfe	5	1,5	0,9987	113 (10)	110 (6)	101 (7)	103 (4)	106 (13)	108 (7)	101 (8)	102 (3)	-19
48	Fenamidona	5	1,5	0,9992	93 (13)	102 (3)	105 (6)	105 (3)	116 (8)	115 (9)	112 (17)	118	9

Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).

(continua)

Nº	Agrotóxicos	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	r^2	Nível de Repetitividade ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				EM (%)
					Recuperação (\pm RSD)				Recuperação (\pm RSD)				
					5	10	25	50	5	10	25	50	
49	Fenamifós	5	1,5	0,9996	101 (5)	106 (7)	103 (4)	104 (4)	81 (11)	100 (4)	94 (4)	95 (4)	8
50	Fenarimol	10	3	0,9995	129 (17)	120 (14)	90 (16)	84 (13)	86 (25)	95 (12)	84 (17)	74 (12)	11
51	Fentiona	5	1,5	0,9994	101 (14)	110 (9)	101 (7)	99 (4)	112 (5)	109 (4)	88 (15)	95 (2)	5
52	Fipronil	10	3	0,9975	138 (14)	107 (13)	93 (15)	107 (10)	103 (18)	77 (18)	81 (19)	70 (17)	21
53	Fluopicolida	5	1,5	0,9992	103 (5)	107 (5)	102 (4)	104 (2)	127 (3)	119 (7)	117 (99)	122 (2)	-1
54	Flupiradifurona	5	1,5	0,9996	100 (3)	101 (3)	104 (5)	105 (3)	85 (2)	100 (2)	93 (4)	90 (2)	-1
55	Fluquiconazol	5	1,5	0,9973	115 (12)	108 (14)	113 (5)	111 (4)	78 (18)	93 (13)	86 (5)	89 (5)	-4
56	Flutolanil	5	1,5	0,9999	106 (8)	109 (3)	102 (9)	102 (2)	103 (7)	111 (5)	105 (17)	111 (2)	-1
57	Flutriafol	5	1,5	0,9998	107 (8)	107 (3)	105 (2)	102 (3)	100 (9)	102 (5)	98 (5)	91 (4)	9
58	Fluxaproxade	10	3	0,9959	138 (15)	113 (16)	90 (15)	101 (13)	88 (26)	96 (9)	74 (26)	71 (8)	123
59	Formetanato	5	1,5	0,9991	103 (9)	98 (3)	89 (7)	85 (4)	97 (4)	97 (4)	92 (3)	88 (2)	-30
60	Fostiazato	5	1,5	0,9995	120 (1)	113 (3)	75 (7)	70 (3)	106 (3)	95 (12)	89 (3)	81 (7)	-32
61	Hexitiazoxi	5	1,5	0,9980	115 (4)	101 (3)	95 (4)	94 (2)	108 (5)	96 (5)	85 (7)	79 (1)	28
62	Imazalil	5	1,5	0,9997	109 (5)	102 (4)	86 (4)	85 (2)	87 (7)	85 (5)	90 (6)	91 (3)	-35
63	Imidacloprido	5	1,5	0,9994	118 (4)	113 (6)	108 (5)	108 (4)	99 (6)	106 (4)	95 (4)	91 (2)	35
64	Indoxicarbe	5	1,5	0,9965	120 (3)	109 (5)	99 (6)	95 (5)	102 (7)	93 (11)	89 (18)	82 (6)	47
65	Iprovalicarbe	5	1,5	0,9996	112 (5)	109 (6)	103 (3)	103 (2)	97 (7)	104 (2)	98 (7)	102 (2)	-5
66	Linuron	5	1,5	0,9994	108 (5)	105 (5)	102 (4)	101 (2)	109 (4)	106 (4)	103 (7)	102 (3)	-3
67	Malationa	5	1,5	0,9998	116 (5)	111 (9)	103 (3)	103 (3)	118 (8)	110 (16)	104 (11)	105 (10)	4
68	Mandipropamida	5	1,5	0,9998	108 (5)	109 (6)	102 (5)	102 (2)	101 (13)	114 (5)	107 (16)	114 (3)	1
69	Mecarban	5	1,5	0,9979	101 (12)	109 (6)	107 (9)	106 (9)	96 (16)	107 (11)	101 (13)	94 (9)	-6
70	Mepronil	5	1,5	0,9996	104 (4)	108 (4)	104 (4)	103 (2)	108 (2)	112 (10)	109 (19)	114 (2)	1
71	Metalaxil	5	1,5	0,9997	109 (3)	108 (5)	103 (3)	103 (2)	98 (5)	102 (2)	100 (2)	97 (2)	3
72	Metconazol	5	1,5	0,9993	90 (10)	93 (7)	86 (2)	80 (4)	86 (8)	107 (16)	99 (24)	109 (3)	-14

Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).

(continua)

Nº	Agrotóxicos	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	r^2	Nível de Repetitividade ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				EM (%)
					Recuperação (\pm RSD)				Recuperação (\pm RSD)				
					5	10	25	50	5	10	25	50	
73	Metiocarbe	5	1,5	0,9996	114 (2)	108 (3)	103 (3)	101 (2)	120 (7)	116 (3)	101 (10)	102 (2)	6
74	Metomil	5	1,5	0,9975	120 (7)	107 (8)	102 (2)	102 (3)	110 (9)	104 (3)	99 (3)	96 (2)	8
75	Metsulfuron metil	5	1,5	0,9996	108 (4)	108 (4)	107 (5)	106 (2)	92 (6)	99 (3)	93 (11)	87 (2)	28
76	Monocrotófos	5	1,5	0,9992	119 (4)	111 (2)	102 (3)	99 (2)	101 (3)	101 (1)	100 (2)	98 (2)	2
77	Monolinuron	5	1,5	0,9997	108 (4)	105 (3)	102 (3)	101 (1)	100 (5)	102 (2)	98 (3)	96 (2)	0
78	Novalurom	5	1,5	0,9965	120 (4)	99 (2)	89 (6)	85 (4)	104 (9)	99 (7)	89 (13)	81 (4)	64
79	Oxamil	5	1,5	0,9991	112 (6)	108 (4)	100 (4)	97 (4)	96 (4)	99 (3)	100 (3)	97 (3)	3
80	Picoxistrobina	5	1,5	0,9995	112 (5)	108 (4)	101 (3)	101 (2)	98 (7)	98 (8)	99 (4)	99 (3)	-3
81	Piraclostrobina	5	1,5	0,9987	117 (5)	105 (3)	100 (3)	99 (3)	92 (9)	107 (3)	102 (8)	108 (3)	4
82	Pirazofós	5	1,5	0,9996	111 (6)	108 (4)	104 (3)	104 (3)	102 (6)	107 (5)	91 (7)	94 (4)	63
83	Piridabem	5	1,5	0,9988	100 (4)	88 (4)	87 (5)	87 (2)	106 (4)	91 (7)	86 (11)	77 (9)	105
84	Piridafentiona	5	1,5	0,9995	115 (2)	110 (3)	105 (3)	102 (6)	89 (11)	98 (11)	95 (13)	99 (13)	20
85	Pirimetanil	5	1,5	0,9995	114 (6)	106 (5)	103 (3)	101 (2)	104 (6)	102 (6)	98 (3)	97 (2)	-1
86	Pirimicarbe	5	1,5	0,9993	102 (3)	96 (2)	91 (4)	90 (4)	92 (2)	94 (1)	91 (1)	90 (1)	-3
87	Pirimifós metil	5	1,5	0,9994	111 (3)	107 (4)	95 (4)	96 (1)	97 (11)	115 (7)	110 (15)	117 (2)	-13
88	Piriproxifeno	10	3	0,9962	141 (5)	120 (2)	98 (9)	90 (4)	117 (7)	137(12)	118 (22)	131 (3)	1
89	Propamocarbe	5	1,5	0,9993	102 (3)	96 (3)	90 (4)	91 (1)	82 (2)	86 (1)	87 (2)	86 (2)	-2
90	Propargito	5	1,5	0,9979	102 (3)	89 (4)	85 (4)	85 (2)	119 (1)	103 (8)	89 (12)	83 (9)	69
91	Propiconazol	5	1,5	0,9993	88 (11)	98 (2)	93 (5)	89 (3)	85 (3)	97 (4)	88 (9)	91 (3)	2
92	Propoxur	5	1,5	0,9989	113 (3)	108 (2)	101 (3)	100 (2)	102 (3)	102 (2)	101 (2)	98 (2)	1
93	Quinoxifeno	5	1,5	0,9997	106 (5)	101 (3)	96 (4)	98 (3)	111 (3)	102 (6)	91 (7)	93 (1)	6
94	Saflufenacil	5	1,5	0,9995	119 (1)	116 (4)	113 (5)	112 (3)	94 (3)	100 (5)	91 (13)	85 (2)	61
95	Simazina	5	1,5	0,9995	108 (4)	106 (2)	99 (3)	99 (1)	104 (3)	103 (4)	101 (6)	98 (2)	-6
96	Tebufenozida	5	1,5	0,9995	92 (17)	104 (8)	101 (5)	103 (2)	84 (8)	100 (6)	101 (9)	102 (3)	-5

Tabela 17 – Resultados da validação por UHPLC-MS/MS para o método QuEChERS: LOQ, LOD, linearidade (coeficiente de determinação, r^2), exatidão e precisão em termos de repetitividade e precisão intermediária e efeito matriz (EM).

(conclusão)

Nº	Agrotóxicos	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	r^2	Nível de Repetitividade ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				Precisão Intermediária ($\mu\text{g kg}^{-1}$), n=7				EM (%)
					Recuperação (\pm RSD)				Recuperação (\pm RSD)				
					5	10	25	50	5	10	25	50	
97	Teflubezurom	10	3	0,9983	126 (10)	118 (8)	104 (14)	101 (4)	96 (19)	141 (15)	120 (13)	155 (6)	-5
98	Terbufós	5	1,5	0,9991	104 (14)	116 (11)	105 (8)	104 (7)	103 (19)	106 (11)	94 (13)	94 (8)	-9
99	Terbutilazina	5	1,5	0,9995	110 (2)	107 (2)	100 (3)	98 (2)	111 (5)	116 (6)	100 (20)	113 (2)	-9
100	Tiabendazol	5	1,5	0,9988	109 (3)	100 (2)	92 (3)	90 (1)	94 (2)	94 (2)	89 (2)	88 (2)	-6
101	Tiacloprido	5	1,5	0,9994	116 (3)	111 (3)	105 (3)	103 (1)	103 (3)	102 (1)	98 (2)	94 (1)	8
102	Tiametoxam	10	3	0,9991	129 (5)	120 (4)	109 (3)	105 (2)	92 (5)	106 (3)	101 (4)	99 (1)	4
103	Tiodicarbe	5	1,5	0,9987	114 (2)	106 (1)	102 (3)	101 (1)	103 (3)	102 (4)	95 (3)	93 (3)	12
104	Tiofanato-metil	5	1,5	0,9996	84 (6)	90 (3)	76 (11)	70 (5)	70(3)	83 (5)	79 (8)	81 (9)	9
105	Tolclofós-metil	5	1,5	0,9997	111 (14)	101 (7)	91 (5)	92 (1)	117 (11)	120 (5)	104 (16)	110 (3)	-20
106	Triadimenol	5	1,5	0,9959	119 (20)	112 (14)	108 (14)	117 (5)	92 (20)	97 (20)	80 (14)	78 (10)	31
107	Triazofós	5	1,5	0,9998	118 (4)	112 (3)	99 (10)	100 (6)	93 (4)	103 (3)	95 (11)	101 (3)	3
108	Trifloxistrobina	5	1,5	0,9982	120 (2)	110 (3)	99 (4)	99 (2)	104 (4)	98 (2)	93 (7)	92 (5)	10
109	Triflumurom	5	1,5	0,9990	103 (20)	103 (10)	102 (7)	96 (4)	107 (13)	119 (14)	116 (14)	120 (7)	-22
110	Vamidotiona	5	1,5	0,9995	112 (4)	110 (3)	103 (5)	101 (2)	95 (4)	101 (3)	102 (2)	100 (2)	-5
111	Zoxamida	5	1,5	0,9987	94 (6)	111 (4)	106 (4)	105 (2)	91 (10)	114 (8)	110 (16)	114 (2)	-6

Fonte: A autora (2022).

4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO VALIDADO EM AMOSTRAS COMERCIAIS

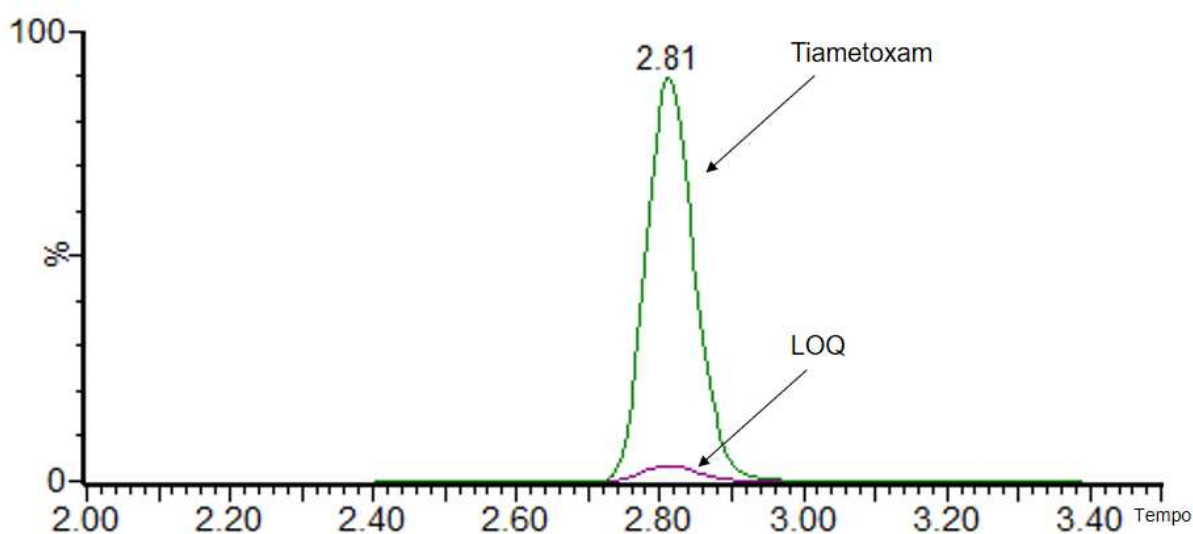
O método proposto e validado neste estudo foi aplicado a 26 amostras comerciais (A1 a A26, identificadas na Tabela 11, item 3.4), comercializados em feiras, mercados ou adquiridos diretamente com produtores de berinjela de diversos municípios do estado do Rio Grande do Sul. De acordo com a Tabela 18, das amostras avaliadas, 19 delas (73%) apresentaram resíduos, de pelo menos, um dos agrotóxicos estudados. Dos 111 agrotóxicos avaliados neste estudo, 27 foram quantificados e/ou detectados nas amostras analisadas, sendo que nove não são autorizados para a cultura de berinjela no Brasil, como o acefato, carbendazim, clorimurom etílico, clorpirifós, etefom, flupiradifurona, mandipropamida, metalaxil e metomil.

Dos agrotóxicos que apareceram com maior frequência, um deles foi o fungicida carbendazim (9 amostras), numa faixa de concentração de < LOQ a 0,026 mg kg⁻¹. No Brasil, o carbendazim está entre os 20 agrotóxicos mais comercializados e tem o uso agrícola aprovado nas culturas de algodão, cana de açúcar, cevada, citros, feijão, maçã, milho, soja e trigo (ANVISA, 2022a). Ele constitui o ingrediente ativo mais utilizado do grupo dos fungicidas benzimidazóis (BOUDINA *et al.*, 2003) contra uma grande variedade de doenças, como as causadas pelos fungos em culturas de frutas e vegetais, tornando-se um poluente muito persistente tanto no solo quanto na água (FERNANDEZ *et al.*, 2001). Esse fungicida não é autorizado para uso na cultura do berinjela, no entanto, como ele é um produto de degradação do tiofanato metílico (ANVISA, 2022a), as nove amostras foram consideradas satisfatórias, pois os resíduos detectados estavam abaixo do LMR para tiofanato metílico em berinjela (LMR 0,05 mg kg⁻¹). Já o tiofanato metílico Foi detectado na amostra A19 abaixo do LOQ.

A ANVISA, de acordo com Resolução - RDC nº 739/2022 do dia 08 de agosto de 2022, baseada na avaliação toxicológica realizada pela sua Gerência-Geral de Toxicologia, decidiu pela proibição do uso do carbendazim no Brasil, devido ao seu potencial de causar mutagenicidade, toxicidade para a fisiologia reprodutiva e toxicidade para o desenvolvimento embriofetal e neonatal e, ainda, da impossibilidade de determinação de limites seguros de exposição humana para esses desfechos toxicológicos. A partir de 08 de fevereiro de 2023 fica proibido a sua comercialização, porém o seu uso é permitido até o seu esgotamento, respeitando-se o prazo de validade do produto (ANVISA, 2022b).

Outro agrotóxico detectado em nove amostras foi o inseticida tiametoxam, que também tem grande aplicabilidade no controle de insetos sugadores e mastigadores e sendo indicado como um possível carcinógeno para seres humanos (ALBINATI, 2016). Este inseticida tem autorização no Brasil, com LMR de $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ para a cultura da berinjela. O mesmo foi detectado em uma faixa de concentração de $< \text{LOQ}$ a $0,121 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que duas amostras (A4 e A11) tiveram resultados superiores aos LMR estabelecidos pela ANVISA, visto que na amostra A11, foi encontrado um valor quatro vezes maior que o LMR deste agrotóxico. A Figura 21 apresenta o cromatograma comparativo do sinal analítico da amostra de berinjela contaminada com tiametoxam e o LOQ do mesmo para o método desenvolvido.

Figura 21 – Cromatograma comparativo entre a amostra A11 contaminada com resíduo de tiametoxam ($0,121 \text{ mg kg}^{-1}$) e o seu LOQ ($0,01 \text{ mg kg}^{-1}$).



Fonte: A autora (2022).

O inseticida imidacloprido também foi detectado em nove das amostras analisadas, numa faixa de concentração de $< \text{LOQ}$ a $0,074 \text{ mg kg}^{-1}$. Esse agrotóxico possui o uso autorizado no Brasil para a cultura da berinjela com LMR de $0,50 \text{ mg kg}^{-1}$. Ele é um inseticida sistêmico e de contato altamente efetivo, usado principalmente em aplicação foliar contra insetos sugadores, como a mosca branca e outros polinizadores, e até mesmo no controle de pulgas em animais domésticos, moscas em animais de fazenda e piolhos em ovelhas (POSPISCHIL, 2002). Está entre os nove

ingredientes ativos de pesticidas mais comercializados no Brasil no ano de 2020. Segundo relatório do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2020), neste mesmo ano, foram vendidas em território nacional 9.401,65 toneladas do princípio ativo. É considerado um inseticida altamente seletivo, e por esse motivo não deveria apresentar toxicidade em mamíferos. Porém, vários estudos apontam que o imidacloprido tem alta capacidade de danificar o fígado, provocando lesões do tipo hepatocelular (BIZERRA, 2018).

O acefato é um inseticida e acaricida organofosforado usado no controle de insetos em plantações, não tem seu uso autorizado pela ANVISA para a cultura de berinjela. Quinto na lista de comercialização de agrotóxicos no Brasil no ano de 2020, é utilizado em culturas como algodão e tabaco, em frutas, em hortaliças e em plantas ornamentais (IBAMA, 2022). Este agrotóxico foi detectado em cinco das amostras analisadas, numa faixa de concentração <LOQ a 0,504 mg kg⁻¹.

O inseticida acetamiprido foi detectado e quantificado em três das amostras analisadas, numa faixa de concentração 0,07 a 0,215 mg kg⁻¹. Possui registro no Brasil para uso na cultura de berinjela, com LMR estabelecido 0,70 mg kg⁻¹ e na EU com LMR de 0,2 mg kg⁻¹. Aplicado via pulverizações terrestre ou aérea, principalmente para o controle da mosca-branca na cultura, sendo considerado, junto com outros neonicotinoides como o imidacloprida e tiametoxam, responsável pela diminuição considerável na população de abelhas (CARBO *et al.*, 2007).

A Tabela 18 apresenta os resultados para a análises das 19 amostras em que foi possível identificar algum resíduos de agrotóxicos avaliado neste estudo.

Tabela 18- Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de berinjela empregando o método desenvolvido neste trabalho.

Agrotóxicos	Concentração nas amostras (mg kg ⁻¹) dos agrotóxicos detectados																		
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A10	A11	A12	A14	A15	A16	A19	A20	A22	A24	A25
Acefato	n.d	n.d	0,260	0,504	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,314	0,293	n.d	n.d	n.d	n.d
Acetamiprido	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,127	0,007	n.d	n.d	n.d	0,215	n.d	n.d	n.d	n.d
Azoxistrobina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	<LOQ	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Boscalida	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Carbendazim	n.d	n.d	n.d	<LOQ	<LOQ	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	<LOQ	<LOQ	n.d	n.d	0,026	n.d	0,007	0,020	<LOQ
Ciantraniliprole	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,013	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Clorantraniliprole	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,008	n.d	n.d	n.d	<LOQ	<LOQ	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d
Clorimurrom etílico	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ
Clorpirifós	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ
Deltametrina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Difenoconazol	<LOQ	n.d	n.d	0,010	n.d	n.d	<LOQ	n.d	<LOQ	n.d	n.d	0,047	<LOQ	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Dimetomorfe	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Etefom	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,013	n.d	n.d	n.d
Etofenproxi	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,007	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Fenproxiato	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Flupiradifurona	n.d	n.d	n.d	0,018	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Flutriafol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,030	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,011
Formetanato	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,385	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Imidacloprido	n.d	0,010	n.d	<LOQ	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,042	n.d	n.d	0,007	0,074	0,011	0,010	0,033
Mandipropamida	n.d	n.d	0,009	n.d	n.d	0,008	n.d	<LOQ	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Metalaxil	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Metomil	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,011	n.d	n.d	n.d	n.d
Piriproxi-feno	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,042	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Propamocarbe	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,110	n.d	n.d	n.d	n.d
Tiametoxam	<LOQ	n.d	<LOQ	0,039	n.d	0,013	n.d	<LOQ	<LOQ	0,121	n.d	<LOQ	n.d	n.d	0,024	n.d	n.d	n.d	n.d
Tiofanato metílico	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	<LOQ	n.d	n.d	n.d	n.d
Trifloxistrobina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	0,012	n.d	n.d	n.d

Fonte: A autora (2022).

Outros agrotóxicos também foram detectados, estes em concentrações baixas ou abaixo do LOQ do método. Os resultados são apresentados de forma resumida na Tabela 19, onde é apresentado o número de amostras em que cada um dos compostos foi encontrado, a variação da concentração, o LOQ e os LMRs de cada um dos agrotóxicos.

Tabela 19 – Resultados da análise das amostras reais de berinjela, em relação a concentração encontrada, limite de quantificação do método (LOQ) e o limite máximo de resíduos (LMR) permitidos pela ANVISA, UE e Codex Alimentarius.

Agrotóxicos	Número de amostras	Concentração encontrada (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)	ANVISA (mg kg ⁻¹)	UE (mg kg ⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg ⁻¹)
Acefato	5	<LOQ a 0,504	0,005	-	0,01*	-
Acetamiprido	3	0,07 a 0,215	0,005	0,70	0,2	-
Azoxistrobina	3	<LOQ	0,005	0,05	3,0	-
Boscalida	2	<LOQ	0,005	0,50	3,0	-
Carbendazim	9	<LOQ a 0,026	0,005	-	0,5	-
Ciantraniliprole	1	0,013	0,005	0,03	1,0	-
Clorfaniliprole	4	<LOQ a 0,008	0,005	0,30	0,6	-
Clorimuró etílico	1	<LOQ	0,005	-	-	-
Clorpirifós	1	<LOQ	0,005	-	0,01*	-
Deltametrina	2	<LOQ	0,005	0,03	0,4	-
Difenoconazol	5	<LOQ a 0,047	0,005	0,05	0,6	-
Dimetomorfe	1	<LOQ	0,005	0,20	1,0	-
Etefom	1	0,013	0,005	-	0,05*	-
Etofenproxí	1	0,007	0,005	0,70	0,01*	-
Fenpíroxímató	1	<LOQ	0,005	0,10	0,3	-
Flupíradifurone	2	<LOQ a 0,018	0,005	-	1,0	-
Flutríafol	2	0,011 a 0,030	0,005	0,20	0,01*	-
Formetanató	2	<LOQ a 0,385	0,005	1,00	0,3	-
Imidacloprida	9	<LOQ a 0,074	0,005	0,50	0,3	0,2
Mandípropamida	4	<LOQ a 0,009	0,005	-	3,0	-
Metalaxil	1	<LOQ	0,005	-	0,01*	-
Metomil	3	<LOQ a 0,011	0,005	-	0,01*	-
Piríproxifeno	1	0,042	0,01	0,20	1,0	0,6
Propamocarbe	1	0,110	0,005	2,00	4,0	0,3
Tiametoxam	9	<LOQ a 0,121	0,01	0,03	0,01*	-
Tiofanató metílico	1	<LOQ	0,005	0,05	2,0	-
Trifloxístrobiná	1	0,012	0,005	0,10	0,7	0,7

Fonte: A autora (2022), adaptado de ANVISA (2022a); EU (2022); FAO (2022).

Legenda: *Limite mínimo de determinação analítica.

5 CONCLUSÕES

A inclusão da etapa de limpeza do extrato empregando nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT-CS) foi muito eficiente e compatível com o método QuEChERS original adotado, não causando perdas na recuperação para os 111 agrotóxicos estudados. Além do mais, o sorvente CNT-CS foi eficiente na remoção de coextrativos da matriz e está de acordo com a tendência atual dos métodos analíticos por ser um biosorvente.

Os parâmetros de validação demonstraram que o método é adequado para análise dos 111 agrotóxicos em amostras berinjela. O método apresentou boa linearidade ($r^2 > 0,990$), exatidão (recuperações entre 70 e 120%) e precisão (RSD $\leq 20\%$), com valores de LOQ entre 0,005 e 0,025 mg kg⁻¹, abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA, União Europeia e Codex Alimentarius para a cultura. A detecção dos compostos utilizando equipamentos UHPLC-MS/MS proporcionou satisfatória detectabilidade, seletividade e precisão na etapa de validação do método.

O trabalho desenvolvido é considerado inovador, uma vez que não existem muitos estudos na literatura sobre o uso de sorventes não convencionais na etapa de limpeza do método QuEChERS, sendo a primeira vez que são utilizados nanotubos de carbono estabilizados em esponja de quitosana (CNT-CS) como sorvente na etapa de limpeza para análise de matrizes vegetais.

Quando aplicado a 26 amostras de berinjela provenientes de vários municípios de Estado do Rio Grande do Sul, o método permitiu a confirmação de resíduos de 27 agrotóxicos em pelo menos 19 das amostras analisadas. Assim, o trabalho contribuiu para a geração de dados a respeito da presença de resíduos de agrotóxicos em berinjela, podendo ser considerado de grande importância visto a inexistência de dados nacionais consistentes sobre o monitoramento de resíduos de agrotóxicos nesta cultura. Demonstrou-se, também, o não cumprimento dos direitos humanos quanto a alimentação saudável e livre de resíduos de agrotóxicos.

Considera-se o método proposto adequado para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de berinjela e matrizes semelhantes, apresentando as vantagens de ser um procedimento simples, rápido e abrangente, podendo ser usado na rotina de laboratório, assegurando a confiabilidade dos resultados, bem como atingindo os objetivos propostos, visto que todos os parâmetros de validação atenderam as exigências de validação de métodos analíticos.

REFERÊNCIAS

ABDELBAGI, A. O., ISMAIL, R. E. A., ISHAG, A. E. S. A., HAMMAD, A. M. A. Pesticide residues in eggplant fruit from Khartoum State, Sudan. **Journal of Health and Pollution**, v. 10, n. 25, 2020.

ABDULLAH, N.; TAJUDDIN, M. H.; YUSOF, N. Carbon-based polymer nanocomposites for dye and pigment removal: Elsevier Inc., 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813574-7.00013-7>. Acesso em: 03 jul. 2022.

AFFONSO, L. N., MARQUES JR, J. L., LIMA, V. V., GONÇALVES, J. O., BARBOSA, S. C., PRIMEL, E. G., CADAVAL JR, T. R. Removal of fluoride from fertilizer industry effluent using carbon nanotubes stabilized in chitosan sponge. **Journal of Hazardous Materials**, v. 388, n. 122042, 2020.

AGILENT, 2022. Disponível em: <https://www.agilent.com/en/product/sample-preparation/solid-phase-extraction-spe/bond-elut-nexus-bond-elut-nexus-wcx>. Acesso em: 28 jul. 2022.

AKANITAPICHAT, P.; PHRAIBUNG, K.; NUCHKLANG, K. 2010. Antioxidant and hepatoprotective activities of five eggplant varieties. **Food and Chemical Toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**. v. 48, p. 3017-21, 2010

AKTAR, M.A.; KHATUN, R.; PRODHAN, M. D. H. Determination of pesticide residues in eggplant using modified QuEChERS Extraction and Gas chromatography. **International J. Agron. & Agri. Res**, v. 11, n. 2, p. 22-31, 2017.

ALAM, M. M., HASAN, R., RAHMAN, S. M., CHOUDHURY, M. A. R., PRODHAN, M. D. H. Analysis of pesticide residues in vegetables purchased from local markets of Mymensingh district of Bangladesh based on QuEChERS Extraction and Gas Chromatography. **Asian-Australasian Journal of Food Safety and Security**, v. 6, n. 1, p. 10-17, 2022.

ALAM, M., CHOWDHURY, M., HOSSAIN, M. S., MIJANUR RAHMAN, M., RAHMAN, M. A., GAN, S. H., KHALIL, M. Detection of residual levels and associated health risk of seven pesticides in fresh eggplant and tomato samples from Narayanganj District, Bangladesh. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.

ALBINATI, A.C.L. et al. Toxicidade aguda e risco ecotoxicológico do inseticida tiametoxam para alevinos de tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia [online]**. 2016, v. 68, n. 05 [Acessado 1 Agosto 2022], pp. 1343-1350. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-8676>>. ISSN 1678-4162. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8676>.

ALI, S. E. A., AZIZ, M. E. A., MOHAMED, S. E. Determination of Pesticides Residues in Eggplant and Tomatoes from Central Market in Khartoum State Using QuEChERS Method and Gas Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, v. 24 n. 2, p. 18165-18173, 2020.

ANASTASSIADES M. SCHERBAUM E, TASDELEN B, STAJNBAHER D. Recent developments in QuEChERS methodology for pesticide multiresidue analysis. **Crop protection, public health, environmental safety**, v. 439. Wiley-vch, Weinheim. Germany, 2007.

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, p. 412-31, 2003.

ANÉFALOS, L. C.; MOREIRA, S. R.; CIPOLLI, K. M. V. A. B.; TURCO, P. H. N.; TAVARES, P. E. R.; Sazonalidade da oferta de produtos hortícolas: o mercado de berinjela. Campinas – SP, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2008.

ANTONINI, A. C. C.; ROBLES, W. G. R.; TESSARIOLI NETO, J.; KLUGE, R. A. Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 4, p. 646-648, 2002.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Agrotóxicos em alimentos**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/agrotoxicos-em-alimentos>. Acessado em: 18 jul 2022.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. RDC nº 166, de 24 de junho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 25 jul. 2017.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA 2017-2018**. 2019a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acessado em: 17 mai 2022.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. RDC nº 294, de 29 de julho de 2019. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 31 jul. 2019b.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Monografias Autorizadas. 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>. Acesso em: 21 jul. 2022a.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. RDC nº 739/2022 do dia 08 de agosto de 2022. Dispõe sobre a proibição do ingrediente ativo Carbendazim em produtos agrotóxicos no país e sobre as medidas transitórias de mitigação de riscos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 08 ago. 2022b.

AOAC International, Official method 2007. Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulphate. **AOAC International**; 2007.

ARAMENDIZ-TATIS, H.; CARDONA-AYALA, C.; DE ORO, R. Período de interferência de arvenses en el cultivo de berinjela (*Solanum melongena* L.). **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 28, p.81 - 88, 2010.

ARDREY, R.E. "Liquid chromatography – Mass spectrometry: An introduction." Ed. **John Wiley**. England. 2003.

ARIAS, J. **Emprego da quitosana no método QuEChERS para análise multirresíduo de medicamentos veterinários em leite**. 2016, 74 p. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

ARIAS, J.; SCHNEIDER, A.; ANDRADE, J.; VIEIRA, A.; CALDAS, S.; PRIMEL, E. Chitosan from shrimp shells: a renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. **Food Chemistry**. 2017.

ARIAS, J. L. O; ROMBALDI, C.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1360, p. 66–75, 2014.

ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-646, 1997.

AVIZ, R.O, CASAIS, L.K.N., VASCONCELOS, E.S., BORGES, L.S. **Estufas – Cultivo de berinjela é favorecido pela técnica**. 2019. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/estufas-cultivo-de-berinjela-e-favorecido-pela-tecnica/>. Acessado em: 28 mai. 2022.

AZEVEDO, C.P. de; CAFÉ FILHO, A.C.; HENZ, G.P.; REIS, A. Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas. **Embrapa Hortaliças- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

BANDEIRA, D. D.; MUNARETTO, J. S.; RIZZETTI, T. M.; FERRONATO, G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B. Determinação de resíduos de agrotóxicos em leite bovino empregando método QuEChERS modificado e GC-MS/MS. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 900-907, 2014.

BARKAI-GOLAN, R. Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control. Amsterdam, 2001.

BASUNY, A.M.M; ARAFAT, S.M.; EL-MARZOOQ, M. A. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of anthocyanins from eggplant peels. **Journal of Pharma Research & Reviews**, v. 2, n. 3, p. 50-57, 2012.

BAYER S.A. Correio Agrícola. Editado por Bayer S. A. – Proteção de Plantas. 1 ed. São Paulo, 1997. 23p.

BHANTI, M., TANEJA, A. Monitoring of organochlorine pesticide residues in summer and winter vegetables from Agra, India - **A case study Environmental Monitoring and Assessment**, v. 110, p. 341-346, 2005.

BIZERRA, P.F.V.; **Mecanismos de toxicidade do inseticida imidacloprido no fígado de rato**. 2018.. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal. Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena, 2018.

BOONJOB, W. *et al.*, Flow-through dispersed carbon nanofiber-based microsolidphase extraction coupled to liquid chromatography for automatic determination of trace levels of priority environmental pollutants. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 13: p. 5237-44, 2011.

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1 ed. – Rio de Janeiro: **LTC**, 2015.

BOUDINA, A; EMMELIN, C.; BAALIOUAMER, A.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F.; CHOVELON, J. M. Photochemical behaviour of carbendazim in aqueous solution. **Chemosphere**, v. 50, p. 649-655, 2003

BRASIL. Lei n. 7.802, de 12 de julho de 1989 (lei federal dos agrotóxicos). Brasília, Diário Oficial da União, 12 jul. 1989.

BRASIL. Decreto n. 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei n. 7.802/89 (lei federal dos agrotóxicos). Brasília, Diário Oficial da União, 8 jan. 2002.

BROUSMICHE, D. W. *et al.* Functionalization of divinylbenzene/N-vinylpyrrolidone copolymer particles: Ion exchangers for solid phase extraction. **Journal of Chromatography**, v. 1191, p. 108-117, 2012.

BRUZZONITI, M. C. *et al.* QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: A critical review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 17, p. 4089–4116, 2014.

CABRERA, L. C. *et al.* Extração em Fase Sólida Dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 3, p. 227-240. Brasil, 2012.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. Brasília: **EMBRAPA**, 2003.

CAMPOS, D. D. P. **Extração, purificação e isolamento de antocianinas de jambolão e avaliação dos seus efeitos biológicos (Syzygium cuminii)**. Dissertação, Instituto de Química, UNICAMP, SP, 2006.

CAÑAS, A.; RICHTER, P. Solid-Phase Microextraction Using Octadecyl-Bonded Silica Immobilized on the Surface of a Rotating Disk: Determination of Hexachlorobenzene in Water. **Anal. Chim. Acta**, v. 743, p. 75–79, 2012.

CANELLA, K. M. N. C.; GARCIA, R. B. Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel –influência do método de preparação e do solvente. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 13-17, 2001.

CARBO, L., MARTINS, E. L., DORES, E. F., SPADOTTO, C. A., WEBER, O. L., DELAMONICA-FREIRE, E. M. Acetamiprid, carbendazim, diuron and thiamethoxam sorption in two Brazilian tropical soils. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B, v. 42, n. 5, p. 499-507, 2007.

CARDOSO, J.M., FREITAS, S.S. Evaluation of the matrix effect on the quantitation of pesticides methyl parathion, folpet and mirex in water using gas chromatography with electron capture detection (GC/ECD). **Brazilian Journal of Development**, 98803, 2020.

CECÍLIO FILHO, A. B. Horta em casa: saúde, prazer e economia. **Unesp: Jaboticabal**, 130p., 2009.

CEN, European Committee for Standardization, CEN/TC 275 15662:2008: foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/ partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method. 2008.

CHAI, L. K., ZAIDEL, N. D., HANSEN, H. C. B. A rapid multi-residue method for the determination of pesticide residues in choy sum, yardlong beans and aubergines. **Food chemistry**, v. 131, n. 2, p. 611-616, 2012.

CHEN, X., LIU, X., DONG, B., HU, J. Simultaneous determination of pyridaben, dinotefuran, DN and UF in eggplant ecosystem under open-field conditions: Dissipation behaviour and residue distribution. **Chemosphere**, v. 195, p. 245-251, 2018.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS. Method validation, joint FAO/WHO food standards programme. **Codex on Methods of Analysis and Sampling**, Budapeste, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS. **Pesticides**. 2010. Disponível em: <<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/pesticides/es/>>. Acessado em: 01 jun. 2022.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia, 2a ed, Campinas, SP: **Ed. UNICAMP**, 2009.

CUNHA FILHO, M. *et al.* Beta-lapachona: desenvolvimento e validação de metodologia analítica para nova alternativa terapêutica antineoplásica. **Revista Farmácia Brasileira**, v. 86, n. 1, p. 39-43, 2005.

DARKO, G., AKOTO, O. Dietary intake of organophosphorus pesticide residues through vegetables from Kumasi, Ghana. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3703-3706, 2008.

DE OLIVEIRA SILVA, L., MACHADO, L. G., NETO, C. F., FORTUNATO, E. P. D., DE OLIVEIRA BARBOSA, S. Agrotóxicos: a importância do manejo adequado para a manutenção da saúde. **Nature and conservation**, v. 12 n. 1, p. 10-20, 2019.

DE OLIVEIRA, T. G., FAVARETO, A. P. A., ANTUNES, P. A. Agrotóxicos: levantamento dos mais utilizados no oeste Paulista e seus efeitos como desreguladores endócrinos. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9, n. 11, 2013.

DE SOUZA FERREIRA, S. V. C. **Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade em análises de alimentos**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

DOTTO G. L., VIEIRA M. L. G., GONÇALVES J. O., PINTO L. Remoção dos corantes azul brilhante, amarelo crepúsculo e amarelo tartrazina de soluções aquosas utilizando carvão ativado, terra ativada, terra diatomácea, quitina e quitosana: estudos de equilíbrio e termodinâmica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1193-1199, 2011.

EKMAN, J. *et al.* Transfer of *Bacillus cereus* spores from the packaging paper into food. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 2236-2242, 2009.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Berinjela (*Solanum Melongena L.*)**. Sistemas de Produção, 3 ISSN 1678-880x Versão Eletrônica. Nov./2007. Acessado em: 15 fev. 2022.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **A cultura da berinjela**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/hortalicas/berinjela>. Acessado em: 11 mai. 2022.

EMATER – DF. Programa de Olericultura. Disponível em: <https://emater.df.gov.br/programa-de-olericultura/>. Acessado em: 23 mai. 2022.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **Pest and Pesticide Management**: - about. 2005. Disponível em: <<https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/about/understanding-the-context/en/>>. Acesso em: 10 jun. 2022.

FAOSTAT 2016. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <http://faostat.fao.org>. Acessado em: 10 jun. 2022.

FERNANDEZ, M.; RODRIGUEZ, R.; PICO, Y.; MANES, J. Liquid chromatographic-mass spectrometric determination of post harvest fungicides in citrus fruits. **J. Chromatogr. A**, v. 912, p. 301-310, 2001.

FERRER, C. *et al.* Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 42, p. 7634-7639, 2011.

FIGUEIREDO, E.B.; MALHEIROS, E.B.; BRAZ, L.T. Interação genótipo x ambiente em cultivares de alface na região de Jaboticabal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p. 66-71, 2004.

FIGUEIREDO, E.C.; BORGES, K.B.; QUEIROZ, M.E.C. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1ª ed. **LTC**, Rio de Janeiro, 2015.

FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa-MG, 2ª ed., **UFV**, 2003

FILGUEIRA, F.A.R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa, **UFV**, 3ª ed. rev. e ampl., 402p., 2008.

GARCIA, E. G., BUSSACOS, M. A., FISCHER, F. M. Harmonização e classificação toxicológica de agrotóxicos em 1992 no Brasil e a necessidade de prever os impactos da futura implantação do GHS. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, p. 2279-2287, 2008.

GERAGE, J. M.; MEIRA, A. P. G.; SILVA, M. V. Food and nutrition security: pesticide residues in food. **Nutrire**, v. 42, p. 01-09, 2017.

GONÇALVES MC, DINIZ MF, BORBA JD, NUNES XP, BARBOSA-FILHO JM. Berinjela (*Solanum melongena* L.) – mito ou realidade no combate as dislipidemias? **Rev Bras Farmacogn**. V. 16, n. 2, p. 252-7, 2006.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á.; SOCAS-RODRÍGUEZ, B.; HERRERA-HERRERA, A. V.; GONZÁLEZ-SALAMO, J.; HERNÁNDEZ-BORGES, J.; RODRÍGUEZDELGADO, M. A. Evolution and applications of the QuEChERS method. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 169–185, 2015

GROSS, J. H. Mass spectrometry: a text book. 2nd ed. **Springr Science & Business Media**, 2011.

GÜDÜCÜ, H. E., İNAM, R., & ABOUL-ENEIN, H. Y. Determination of organophosphorus and triazole pesticides by gas chromatography and application to vegetable and commercial samples. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 34, n. 19, p. 2473-2483, 2011.

HAJSLOVÁ J, ZROSTLÍKOVÁ J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. **J Chromatogr A**, v. 1000 n.1-2, p. 181-97, 2003

HAJSLOVÁ, J.; HOLADOVÁ, K.; KOCOUREK, V.; POUSTKA, J.; GODULA, M.; CUHRA, P.; KEMPNÝ, M. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **J. Chromatogr. A**, v. 800, p. 283-295, 1998.

HE, Z., PENG, Y., WANG, L., LUO, M., LIU, X. Unequivocal enantiomeric identification and analysis of 10 chiral pesticides in fruit and vegetables by QuEChERS method combined with liquid chromatography-quadrupole/linear ion trap mass spectrometry determination. **Chirality**, v. 27, n. 12, p. 958-964, 2015.

HENNION MC. Graphitized carbons for solid-phase extraction. **J. Chromatogr. A**, v. 885, n. 1-2, p. 73-95, 2000;

HERRERA, J. C.; LAMBOT, C. The coffee tree-Genetic diversity and origin. In: FOLMER, B. (org.). **The Craft and Science of Coffee**, 1ª edição, Academic Press, 2016.

HO, C. S. *et al.* Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 24, no. 1, p. 3-12, Feb 2003

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. "Mass spectrometry. Principles and applications." Ed. **John Wiley**. England. 2007.

HORTI&FRUTI. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2021. Anual. Disponível em: <https://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wpcontent/uploads/2021/04/HORTIFRUTI_2021.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2022.

IBAMA – INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Boletins Anuais de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil**. 2020. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>. Acessado em 12 ago. 2022.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário, 2017**. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?=&t=resultados> > Acesso em: 04 nov. 2021.

INCA - INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Agrotóxicos**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/agrotoxico>. Acesso em 01 ago. 2022.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. Norma nº DOQ-CGCRE-008: **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. rev. 09. Rio de Janeiro. Jun. 2020

ISLAM, M.S.I; PRODHAN, M.D.H.; UDDIN, M.K. Determination of major organophosphorus pesticide residues in eggplant using QuEChERS extraction and gas chromatography. **Int. J. Innov. Sci. Res. Technol**, v. 4, p. 212-219, 2019.

ISLAM, S., HOSSAIN, M. S., NAHAR, N., MOSIHUZZAMAN, M., MAMUN, M. I. R. Application of high performance liquid chromatography to the analysis of pesticide residues in eggplants. **Journal of Applied Sciences**, v. 9, n. 5, p. 973-977, 2009.

JORGE, P.A.R.; NEYRA, L.C.; OSAKI, R.M.; ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N. Efeito da berinjela sobre os lípidos plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 70, n. 2, p. 87-91, 1998.

KO, A.Y.; RAHMAN, M.; EL-ATY, A.M.; JANG, J.; PARK, J.H.; CHO, K.; SHIM, J.H. Development of a simple extraction and oxidation procedure for the residue analysis of imidacloprid and its metabolites in lettuce using gas chromatography. **Food Chemistry**, v.148, p.402-409, 2014.

KOESUKWIWAT U, LEHOTAY SJ, MASTOVSKA K, DORWEILER KJ, LEEPIPATPIBOON N. Extension of the QuEChERS Method for Pesticide Residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, p. 5950-8, 2010.

KRYSCZUN, D.K. et al. 2018. Sample size, plot size and number of replications for trials with *Solanum melongena* L. **Scientia Horticulturae**, v. 233, p. 220-224.

KWON, Y.-I.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 8, p. 2981-2988, 2008.

LAMBROPOULOU, D.A.; ALBANIS, T.A. Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography–mass spectrometry-based techniques: a review. **Anal Bioanal Chem**, p. 1663-1683, Grécia, 2007.

LANÇAS, F. M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LEHOTAY SJ, HIEMSTRA M, BODEGRAVEN P, KOK A. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**; v. 88, n. 595, 2005.

LEHOTAY, S.J. Determination os Pesticide Residues in Food by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborativ Study. **Journal of AOAC International**, v. 90, n. 2, p. 485-520, 2007.

LI, M.; LIU, X.; DONG, F.; XU, J.; KONG, Z.; LI, Y.; ZHENG, Y. Simultaneous determination of cyflumetofen and its main metabolite residues in samples of plant and animal origin using multi-walled carbon nanotubes in dispersive solid-phase extraction and ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**. v. 1300, p. 95–103, 2013.

LIAO, Q.G.; ZHOU, Y.M.; LUO, L.G.; WANG, L.B.; FENG, X, H. Determination of twelve herbicides in tobacco by a combination of solid-liquid-solid dispersive extraction using multi-walled carbon nanotubes, dispersive liquid-liquid micro-extraction, and detection by GC with triple quadrupole mass spectrometry. **Microchimica Acta**. v. 181, n. 1–2, p. 163–169, 2014.

LIMA, M. E.; CARVALHO, D. F.; SOUZA, A. P. S.; ROCHA, H. S.; GUERRA, J. G. M. Desempenho do cultivo da berinjela em plantio direto submetida a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.6, p.604–610, 2012.

LIU, Y., ZHAO, Y., LI, S., & LIU, D. Multi-residue analysis, dissipation behavior, and final residues of four insecticides in supervised eggplant field. **Food Additives & Contaminants: Part A**, p. 1-14, 2022.

LOOSE, R. **Desenvolvimento de método para determinação multirresíduo de agrotóxicos em ovos empregando método QuEChERS e UHPLC-MS/MS**. 2020. dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. Doenças do pimentão: diagnose e controle. Brasília: **Editora Embrapa**, 2003.

MACHADO, I. et al. Determination of pesticide residues in globe artichoke leaves and fruits by GC–MS and LC–MS/MS using the same QuEChERS procedure. **Food Chemistry**, v. 227, p. 227-236, 2017

MALDANER, L.; JARDIM, I. UHPLC Uma abordagem atual: desenvolvimentos e desafios recentes. **Scientia Chromatographica**. v. 4, p. 197-207, 2012

MALVIYA, R.; BANSAL, V.; PAL, O. P.; SHARMA, P. K. (2010). “High performance liquid chromatography: a short review”. **Journal of Global Pharma Technology**. 2: 2226, 2010

MARQUELLI, W.A., BRAGA, M.B., SILVA, H.R., RIBEIRO, C.S.C. Irrigação na cultura da berinjela, **circular técnica EMBRAPA** 135, ISSN 1415-3033, Brasília, DF Outubro, 2014

MARQUES, D.J.; BROETTO, F.; SILVA, E.C. Efeito do estresse mineral induzido por fontes e doses de potássio na produção de raízes em plantas de berinjela (*Solanum Melongena L.*). **Revista Caatinga**, v. 23, p.7-12, 2010.

MARTIN-ESTEBAN, A.; HERNANDO, P.F. Preparación de la muestra para la determinación de analitos orgánicos. **Toma y Tratamiento de Muestra**, 2004.

MASIÁ, A. *et al.* Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 936, p. 40-61, 2016

MAŠTOVSKÁ K, LEHOTAY SJ. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. **Journal of Chromatography**. A 2004; 259:1040.

MERCK, 2022. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/solid-phase-extraction>. Acesso em: 28 jul. 2022.

MOREIRA, J. C.; JACOB, S. C.; PERES, F. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 7, n.2, p.299-311, 2002.

MOREIRA, J.C. et al. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola em Nova Friburgo-RJ, **Ciência e Saúde Coletiva**, 7, 1-22, 2002.

MÜHLEN, C.V.; LANÇAS, F.M. Cromatografia unificada. **Química Nova** [online], v. 27, n. 5, p. 747-753, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500014>>. Acessado em: 20 jul 2022.

NASCIMENTO, R. F. DO *et al.* Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. Fortaleza: **Imprensa Universitária**, 2018

NUNES, G. S.; RIBEIRO, M. L. Pesticidas: Uso, Legislação e Controle. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.9, p.31-44, 1999.

OBANA, H., OKIHASHI, M., AKUTSU, K., KITAGAWA, Y., HORI, S. Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2501-2505, 2003.

OBANA, H., OKIHASHI, M., AKUTSU, K., KITAGAWA, Y., HORI, S. Determination of acetamiprid, imidacloprid, and nitenpyram residues in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4464-4467, 2002.

OPAS. Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. Brasília, 1997.

OSHITA, D.; JARDIM, I. C. S. F.; Evaluation of dispersive and cartridge SPE clean-up procedures using the modified QuEChERS method for the analysis of pesticides in strawberries; **Anal. Methods**, v. 7, p. 982, 2015.

PARVIN, R. A. W. S. H. O. N. A., AL-SUBEIHI, A. A. A., MAHMUD, M. C., CHOWDHURY, M. T. I., PRODHAN, M. D. H., ISLAM, M. A. Determination of pesticide residues and health risk assessment in cucumber and eggplant sold in northern part of Bangladesh. **Poll Res**, v. 40, p. 1180-1187, 2021.

PERESTRELO, R.; SILVA, P.; PORTO-FIGUEIRA, P.; PEREIRA, J.A.M.; SILVA, C.; MEDINA, S.; CAMARA, J.S. QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica Chimica Acta**. v. 1070, p. 1-28, 2019.

PICÓ, Y.; FARRÉ, M.; SOLER, C.; BARCELÓ, D. Identification of unknown pesticides in fruits using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass

spectrometry imazalil as a case study of quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 1176, p. 123-134, 2007.

PINHO, G. P. *et al.* Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987–995, 2009.

POSPISCHIL, R. Imidacloprid fly bait: a fast acting formulation against flies in livestock. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON URBAN PESTS, 4., 2002, Charleston. Proceedings.. Charleston: Pocahontas Press. 2002. p. 457-458.

PRADO-LU, D.; LEILANIE, J. Insecticide residues in soil, water, and eggplant fruits and farmers' health effects due to exposure to pesticides. **Environmental health and preventive medicine**, v. 20, n. 1, p. 53-62, 2015.

PRESTES, O. D., FRIGGI, C. A., ADAIME, M. B., & ZANELLA, R. 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, p. 1620-1634, 2009.

PRESTES, O.D.; ADAIME, M.B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidade e tendências no preparo de amostras para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**. v. 3, n. 1, p. 51-64. Brasil, 2011.

PRODHAN, M D.H.; PAPADAKIS, E.N.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Determination of multiple pesticide residues in eggplant with liquid chromatography-mass spectrometry. **Food analytical methods**, v. 8, n. 1, p. 229-235, 2015.

PRODHAN, M. D. H., PAPADAKIS, E. N., PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Variability of pesticide residues in eggplant units collected from a field trial and marketplaces in Greece. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 6, p. 2277-2284, 2018.

QI, P., WANG, J., LIU, Z., WANG, Z., XU, H., DI, S, WANG, X. Integrated QuEChERS strategy for high-throughput multi-pesticide residues analysis of vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1659, p. 462589, 2021.

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS e UPLC-MS/MS. **Química Nova**, v.35, p. 185-192, 2012

RAHMAN, M., HOQUE, M. S., BHOWMIK, S., FERDOUSI, S., KABIRAZ, M. P., VAN BRAKEL, M. L. Monitoring of pesticide residues from fish feed, fish and vegetables in Bangladesh by GC-MS using the QuEChERS method. **Heliyon**, v. 7, n. 3, p. e06390, 2021.

RAMA, E.M.; BORTOLAN, s.; VIEIRA, M.L.; GERARDIN, D.C.C.; MOREIRA, E.G.; Reproductive and possible hormonal effects of carbendazim Regulatory. **Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n 3, p. 476-486, 2014.

REIS, A. *et al.*, **EMBRAPA HORTALIÇAS, Berinjela (*Solanum melongena* L.)**, ISSN 1678-880x Versão Eletrônica, Nov./ 2007

REIS, A.; BOITEUX, L.S. Murcha-de-Verticillium: um sério problema para o cultivo de hortaliças no Brasil. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2006. 11p. (Circular Técnica, 40).

REIS, A.; BOITEUX, L.S.; LOPES, C.A. Doenças da berinjela no Brasil. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2011. 8p. (Circular Técnica, 97).

REYNOLDS, S.L. Sample handing and clean-up procedures I. in: FERNANDEZ-ALBA, A. Chromatographic-mass spectrometric food analysis for the trace determination of pesticides residues. In. *Comprehensive analytical chemistry*. **The Netherlands: Elsevier**. 2005, 287 p.

RIBANI, M.; BETTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, C. S. da C.; BRUNE, S.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Ed.). Cultivo da berinjela (*Solanum melongena* L.). Brasília: EMBRAPA, 1998. (**Instruções Técnicas da Embrapa Hortaliças**, n. 15).

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Progress in Polymer Scienc**. v. 31, p. 603-632, 2006.

ROCCA, L. M. *et al.* Veterinary drugs residues: a review of the latest analytical research on sample preparation and LCMS based methods. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 34, p. 766-784, 2017.

ROSA, G.; PIMENTEL, A. C.; MONTEIRO, W. A. Comparação da suplementação de farinha de linhaça marrom desengordurada e farinha de berinjela na redução dos fatores de risco cardiovascular. **Revista Brasileira Cardiologia**, v. 24, 2011.

SANTÉ, EUROPEAN COMMISSION. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. **Document nº SANTE/12682/2019**.

SANTOS K, KARAM LM, FREITAS RJS, STERTZ SC. Composição química da berinjela (*Solanum Melongena* L.). **Bol Ceppa**. v. 20, n. 2, p. 247-56, 2002.

SANTOS, C.A., RIBEIRO, C.R., CARMO, M.G.F. Berinjela desperta atenção do mercado. 2021. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/berinjela-desperta-atencao-do-mercado/>. Acessado em: 18 fev. 2022.

SANTOS, H. V.; FONSECA, J. M.; FREITAS, R. F.; ROYO, V. de A. Caracterização laboratorial das dislipidemias e o uso de fitoterápicos. **Revista Multitexto**, v. 3, n. 1, p. 21-28, 2015.

SILVA, C.M.M.S.; MELO, I.S. Biodegradação de fungicidas benzimidazóis. **Microbiologia Ambiental**, cap. 6, p. 142. [s.d.]. Disponível em: <

https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Melo_BiodegradacaoFungicidas-Benzimidazois_000fdqbaqe302wx5eo0a2ndxyjebw1mn.pdf> Acesso em: 16 jun. 2022.

SILVA, W. B. da. Os riscos no uso indiscriminado de agrotóxicos: uma contaminação invisível. **INTESA** – Informativo Técnico do Semiárido, v. 11, p. 11-19, 2017

SILVA-BARRETO, F.A. *et al.* Associação de *Rhizoctonia solani* Grupo de Anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII) à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.36, n.2, p.145-154, 2010.

SIMÕES C.M.O., organizadora. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Florianópolis: **UFRGS**; 2007. 1104 p

SINHA, S. N., RAO, M. V. V., VASUDEV, K. Distribution of pesticides in different commonly used vegetables from Hyderabad, India. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 161-169, 2012.

SINHA, S. N., VASUDEV, K., RAO, M. V. V. Quantification of organophosphate insecticides and herbicides in vegetable samples using the “Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe” (QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography–electrospray ionisation–mass spectrometry (LC–MS/MS) technique. **Food chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1574-1584, 2012.

SKOOG, D. A. *et al.* **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

STACHNIUK, A.; FORMAL, E. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Analysis of Pesticide Residues in Food. **Food Analytical Methods**. v. 9, p. 1654–1665, 2016.

STHAN, H. J. Pesticide residue analysis in foodstuffs applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection: State-of-the-art use of modified DFG-multimethod S19 and automated data evaluation. **Journal of Chromatography A**, v.892, p.347 – 377, 2000.

TBCA - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.1. São Paulo, 2020. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acessado em: 15 mai. 2022.

TAVEIRA, B. L. S., ALBUQUERQUE, G. S. C. D. Análise das notificações de intoxicações agudas, por agrotóxicos, em 38 municípios do estado do Paraná. **Saúde em Debate**, v. 42, p. 211-222, 2018.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, Viçosa, ano 55, n.4, p.297-304, agosto, 2008.

TETTE, P. A. S. *et al.* Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. **Talanta**. v. 149, p. 124-141, 2016.

THANKI, N., JOSHI, P., JOSHI, H. Effect of household processing on reduction of pesticide residues in Brinjal (Eggplant, *Solanum melongena*). **Advances in Applied Science Research**, v. 3, n. 5, p. 2860-2865, 2012.

VALVERDE-GARCIA, A.; GONZALEZ-PRADAS, E.; AGUILERA-DEL REAL, A. Analysis of buprofezin residues in vegetables. Application to the degradation study on eggplant grown in a greenhouse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 12, p. 2319-2323, 1993.

VIANA, F.M.P. *et al.* Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na região do Nordeste. Fortaleza: **Editora Embrapa Agroindústria Tropical**, 2001. 24p. (Circular Técnica, 12).

VIDAL, J. M., ARREBOLA, F. J., MATEU-SÁNCHEZ, M. Application of gas chromatography–tandem mass spectrometry to the analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 959, n.1-2, p. 203-213, 2002.

WANG, X.; WANG, S.; CAI, Z. The latest developments and applications of mass spectrometry in food-safety and quality analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 170-185, 2013

WATANABE, E., KOBARA, Y., BABA, K., EUN, H. Determination of seven neonicotinoid insecticides in cucumber and eggplant by water-based extraction and high-performance liquid chromatography. **Analytical Letters**, v. 48, n. 2, p. 213-220, 2015.

WATERS CORPORATIONS. Solid-Phase Extraction with Oasis® HLB Sorbent: Simple Procedures for Superior Sample Preparation. [s.d.]. Disponível em: https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/my_oas98.pdf. Acesso em: 18 jul. 2022.

WILKOWSKA, A.; BIZIUK, M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 803-812, 2011.

ZANELLA, R.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; MARTINS, M. L. QuEChERS. In: BORGES, K. B. et al. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 1. ed. Rio de Janeiro, **LTC**, 2015. cap. 24.

ZHOU, Q., LIU, Z., LIU, F., GUO, Y., LI, X. Determination of desmedipham residue in 21 foods by HPLC-MS/MS combined with a modified QuEChERS and mixed-mode SPE clean-up method. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 102, p. 104004, 2021.