

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

Leonardo Rabello Amaral

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM
CASCA, POLPA E TUBÉRCULO DE BATATA EMPREGANDO
MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS**

Santa Maria, RS
2023

Leonardo Rabello Amaral

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CASCA,
POLPA E TUBÉRCULO DE BATATA 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

2023

Ficha catalográfica

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Amaral, Leonardo
DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CASCA,
POLPA E TUBÉRCULO DE BATATA EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E
UHPLC-MS/MS / Leonardo Amaral.- 2023.
105 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella
Coorientador: Osmar Prestes
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2023

1. Cromatografia Líquida 2. Espectrometria de Massas
3. Agrotóxicos 4. Preparo de Amostras I. Zanella, Renato
II. 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, LEONARDO AMARAL, 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.

Leonardo Rabello Amaral

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CASCA,
POLPA E TUBÉRCULO DE BATATA 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.

Aprovado em 16 de fevereiro de 2023:

Renato Zanella, Dr. (UFSM) (Orientador)

Magali Kemmerich, Dra. (UNIPAMPA)

Fábio Ferreira Gonçalves, Dr. (FURG)

Santa Maria, RS

2023

Dedico à minha família e amigos, pessoas que foram essenciais para que eu conseguisse concluir com êxito.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer ao Prof. Dr. Renato Zanella pela paciência e pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP).

Ao Prof. Dr. Osmar Prestes, que não mediu esforços para me auxiliar durante essa trajetória.

A minha mãe Juçara por todas as lições de amor, dedicação, compreensão e pelo incentivo em todos os momentos da minha vida. Ao meu querido pai Roselei (*in memoriam*), que nos deixou há pouco tempo, que mesmo sem sua presença física está sempre presente em meus pensamentos.

A minha vó Maria Joaquina, que sempre se fez presente na minha formação.

Ao meu irmão Lucas, obrigado pelos conselhos e críticas, os quais me deixaram mais focado para realizar este estudo.

Aos meus afilhados Saulo, Isabella, Rafael, por tornarem minha vida mais alegre.

Agradeço aos meus tios, em especial ao Paulo Ricardo e Paulo Afonso que sempre se fizeram presentes a cada mudança, sempre dispostos para pegarem a estrada comigo.

A minha cunhada Brenda e minha colega Laidines, pelo carinho e incentivo a fazer o mestrado.

Agradeço as minhas colegas de trabalho Karina Ues e Cleusa Zanchin pela amizade, pelos momentos divertidos na trajetória acadêmica e pelo incentivo durante toda essa caminhada. Aos meus demais amigos, que apesar de estarem tão longe nunca saem dos meus pensamentos.

Agradeço aos meus Colegas Ana Barbosa, Ana Charise, Gabriel Prates, Gisele Prado, Franciele Machado, Luana Floriano, obrigado por cada momento dedicado a me ajudarem, pelo companherismo, foram grandes facilitadores deste processo de aprendizagem.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da UFSM, os quais dedicam-se à pesquisa e formação de novos profissionais, vocês são parte fundamental dessa caminhada. Aos secretários do PPGQ pela dedicação.

A todos que participaram, diretamente ou indiretamente deste trabalho, enriquecendo minha aprendizagem.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria, pelo ensino gratuito e de qualidade, a qual fico lisonjeado em fazer parte.

Agradeço a Deus pela vida, por me fortalecer, e por ser meu refúgio em momentos difíceis.

RESUMO

DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CASCA, POLPA E TUBÉRCULO DE BATATA EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS E UHPLC-MS/MS

AUTOR: Leonardo Rabello Amaral

ORIENTADOR: Prof. Dr. Renato Zanella

Agrotóxicos têm sido empregados intensivamente para o controle de pragas, ervas daninhas e de doenças associadas a diversos cultivos. Apesar desses compostos protegerem as lavouras, quando as doses recomendadas para aplicação não são respeitadas, podem causar danos à saúde e ao meio ambiente. Dessa forma, este estudo teve como objetivo o desenvolvimento e a validação de um método analítico para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em batata, bem como avaliar as concentrações na casca e polpa do tubérculo empregando o método QuEChERS original e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Para a limpeza dos extratos foi empregada a técnica de extração de fase sólida dispersiva (d-SPE) utilizando como sorvente o C18. O método foi validado para 82 compostos e os resultados comprovaram que o método tem resposta linear no intervalo de 0,5 a 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. A exatidão e precisão foram avaliadas nos níveis de fortificação 10, 25 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ($n=7$), em ensaios de repetitividade e de precisão intermediária, apresentando recuperações entre 70 e 120%, com RSD $\leq 20\%$ para a maioria dos níveis e agrotóxicos. O método apresentou limites de quantificação de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para a maioria dos agrotóxicos. O método proposto foi aplicado em amostras comerciais de batata e a ocorrência de vários agrotóxicos foi confirmada, inclusive alguns proibidos para a cultura da batata. Posteriormente, avaliou-se a distribuição de agrotóxicos na casca e na polpa, indicando que alguns agrotóxicos se concentram na casca e outros na polpa, dependendo das propriedades físico-químicas dos pesticidas. O método foi aplicado com sucesso em amostras comerciais e demonstrou ser eficaz para análises de rotina.

Palavras-chave: Batata. Agrotóxico. QuEChERS. C18. UHPLC-MS/MS

ABSTRACT

MULTIRESIDE DETERMINATION OF PESTICIDES IN POTATO PEEL, PULP AND TUBER USING QuEChERS AND UHPLC-MS/MS METHOD

AUTHOR: Leonardo Rabello Amaral

ADVISOR: Prof. Dr. Renato Zanella

Pesticides have been intensively used to control pests, weeds and diseases associated with various crops. Although these compounds protect crops, when the recommended doses for application are not respected, they can cause damage to health and the environment. Thus, this study aimed to develop and validate an analytical method for the multi-residue determination of pesticides in potatoes, as well as to evaluate the concentrations in the skin and pulp of the tuber using the original QuEChERS method and ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). To clean the extracts, the dispersive solid phase extraction technique (d-SPE) was used using C18 as a sorbent. The method was validated for 82 compounds and the results showed that the method has a linear response in the range of 0.5 to 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Accuracy and precision were evaluated at fortification levels 10, 25 and 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ($n=7$), in repeatability and intermediate precision tests, showing recoveries between 70 and 120%, with RSD \leq 20% for most levels and pesticides. The method presented quantification limits of 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for most pesticides. The proposed method was applied to commercial samples of potatoes and the occurrence of several pesticides was confirmed, including some prohibited for the potato crop. Subsequently, the distribution of pesticides in the peel and pulp was evaluated, indicating that some pesticides are concentrated in the peel and others in the pulp, depending on the physicochemical properties of the pesticides. The method was successfully applied to commercial samples and proved to be effective for routine analyses.

Keywords: Potato. Pesticides. QuEChERS. C18. UHPLC-MS/MS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Batatas de diversas cores.....	21
Figura 2 - Configurações de um sistema de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas em série tipo triplo quadrupolo.	35
Figura 3 - Representação das etapas do método QuEChERS.	39
Figura 4 - Estrutura química do PSA.....	41
Figura 5 - Estrutura química do GCB.	41
Figura 6 - Estrutura química do C18.	41
Figura 7 - Fluxograma das principais versões do método QuEChERS.....	42
Figura 8 - Mapa do Rio Grande do Sul com a localidade das amostras de batata....	60
Figura 9 - Ensaio de limpeza de preparo de amostra (T1 a T11) empregando o método QuEChERS original d-SPE com diferentes sorventes.....	65
Figura 10 - Cromatograma TIC obtido no UHPLC-MS/MS a partir de uma solução padrão de 10 µg L ⁻¹ preparada no extrato da matriz (batata).	69
Figura 11 - Comparação do efeito matriz (%), por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para os 102 compostos avaliados.....	73
Figura 12 - Comparação do efeito matriz (%) por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (Q1: original, Q2: acetato e Q3: citrato), para 71 compostos registrados no Brasil para uso na cultura de batata.	73
Figura 13 - Quantidade de compostos que apresentam resultados e exatidão e precisão satisfatórias (70-120% e RSD ≤ 20%), obtidos através da limpeza de extratos por diversos sorventes.....	75
Figura 14 - Extratos das amostras (T1 a T11) empregando o método QuEChERS realizados para avaliação da etapa de limpeza com diferentes sorventes.	75
Figura 15 - Resultado de efeito matriz (%) para os 102 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes.	76

Figura 16 - Resultados de efeito matriz (%) para 71 agrotóxicos permitidos no Brasil para a cultura da batata avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes.....	77
Figura 17 - Cromatogramas obtidos a partir de injeções no sistema GC-MS/MS no modo <i>full scan</i> , do extrato “branco” de batata após a etapa de limpeza utilizando diferentes sorventes.....	78
Figura 18 - Método QuEChERS otimizado para determinação de resíduos de agrotóxicos em batata por LC-MS/MS.	79
Figura 19 - Cromatograma TIC composto boscálica, obtido para a) “branco” da amostra de batata, b) solução analítica no extrato da matriz e na concentração de 10 µg L ⁻¹ , obtidos por UHPLC-MS/MS.....	81
Figura 20 - Gráfico representativo do efeito matriz ao comparar as curvas em solvente (acetoneitrila) e na matriz (batata), para os compostos bupropiona e fluxopiroxade.....	82
Figura 21 – Cromatograma TIC comparativo entre a amostra A12 contaminada com resíduo de imidacloprido (0,0329 mg kg ⁻¹) e uma fortificação no seu LOQ (0,01 mg kg ⁻¹).	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da batata branca crua para cada 100 g.....	22
Tabela 2 - Evolução anual da área plantada e da quantidade produzida de batata no Brasil (2010-2020).....	24
Tabela 3 - Evolução anual na área plantada e da quantidade produzida de batata no Rio Grande do Sul (2010-2020).....	25
Tabela 4 - Classificação dos agrotóxicos quanto ao seu modo de ação.....	26
Tabela 5 - Ingredientes ativos de agrotóxicos mais comercializados no Brasil em 2020.	28
Tabela 6 - Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de batata juntamente com os (LMRs), estabelecidos de acordo com a ANVISA, EU e Codex Alimentarius.....	30
Tabela 7 - Comparação dos principais métodos modernos de preparo de amostras, utilizados na extração de agrotóxicos em alimentos.	38
Tabela 8 – Trabalhos reportados na literatura empregando o método QuEChERS para extração de agrotóxicos em batatas e outras matrizes de origem vegetal.	44
Tabela 9 - Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.....	55
Tabela 10 – Identificação das amostras de batata analisadas no presente estudo e local de amostragem.....	61
Tabela 11 - Gradiente de fase móvel utilizado no sistema UHPLC.....	62
Tabela 12 - Condições empregadas no sistema UHPL MS/MS.....	62
Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLS-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produtos, e energia de colisão (EC) utilizados.	66
Tabela 14 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para 102 agrotóxicos avaliados.....	71
Tabela 15 - Resumos dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para 71 agrotóxicos registrados no Brasil para uso na cultura da batata.	71

Tabela 16 - Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em batata por QuEChERS e UHPLC-MS/MS desenvolvido neste trabalho.	83
Tabela 17 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de batata branca (tubérculo integral) , empregando o método validado neste trabalho. .	88
Tabela 18 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de batata rosa (tubérculo integral) empregando o método validado neste trabalho. ...	89
Tabela 19 - Resultados da análise das amostras reais de batata, em relação a concentração encontrada e o limite máximo de resíduos (LMR) permitidos pela ANVISA, UE e Codex Alimentarius.....	91
Tabela 20 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de casca, polpa e tubérculo, empregando o método válido neste trabalho.....	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPA	Boas Práticas Agrícolas
C18	Octadecilsilano
CEN	Comite Europeu de Normalização, do inglês <i>European Committee for Standardization</i>
CV	Coeficiente de variação
d.p.	Diâmetro de partícula
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 volt
FA	Fortificação na amostra
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization</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 mass 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	Coeficiente 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 de determinação
Rec	Recuperação
Rpm	Rotações por minuto
RS	Rio Grande do Sul
RJ	Rio de Janeiro
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>
SC	Santa Catarina
SIM	Monitoramento de íon selecionado, do inglês <i>selected ion monitoring</i>
SEM	Monitoramento de reações selecionadas, do inglês <i>selected reaction monitoring</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TIC	Cromatograma de íons totais
TPP	Trifenilfosfato
TQ	Tripla quadrupolo
t_R	Tempo de retenção
EU	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 série, do inglês <i>ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry</i>
V	Volts
v/v	Razão volume/volume
VC	Voltagem do cone
WHO	Organização Mundial da Saúde, do inglês <i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 OBJETIVOS.....	20
1.1.1 Objetivos Específicos	20
2 REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 BATATA	21
2.2 PRODUÇÃO DA CULTURA DA BATATA	23
2.3 AGROTÓXICOS E SEUS IMPACTOS	26
2.4 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS	33
2.4.1 Técnicas cromatográficas para determinação de resíduos de agrotóxicos	33
2.4.2 Preparo de amostra para análise multirresíduo de agrotóxicos	37
2.4.2.1 Método QuEChERS	39
2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	47
2.5.1 Seletividade	47
2.5.2 Exatidão	47
2.5.3 Precisão	47
2.5.4 Limite de detecção e limite de quantificação	48
2.5.5 Curva analítica e linearidade	49
2.5.6 Efeito matriz	49
2.5.7 Padrão interno e padrão de controle	50
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	51
3.2 REAGENTES, SOLVENTES E DEMAIS MATERIAIS.....	52
3.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS	53
3.3.1 Preparo das soluções analíticas	59
3.4 PREPARO E UTILIZAÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE.....	59
3.5 AMOSTRAGEM E PROCESSAMENTO	60
3.6 FASE MÓVEL UTILIZADA.....	61

3.7 CONDIÇÕES UTILIZADAS NO SISTEMA UHPLC-MS/MS	62
3.8 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM BATATA ROSA.	63
3.8.1 Avaliação das diferentes versões do método QuEChERS	63
3.8.2 Avaliação dos diferentes sorventes na etapa de d-SPE	64
3.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATAS	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATAS	66
4.2 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATA.....	70
4.2.1 Avaliação dos sorventes utilizados na etapa de limpeza do extrato	74
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO.....	79
4.3.1 Seletividade	80
4.3.2 Linearidade	81
4.3.3 Efeito matriz	81
4.3.4 Limite de detecção e de quantificação	82
4.3.5 Exatidão e precisão	82
4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS COMERCIAIS.....	87
5 CONCLUSÕES	95
6 DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS GERADOS NO LABORATÓRIO.....	96
7 REFERÊNCIAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento populacional, a agricultura tem apresentado a necessidade de melhorar a produtividade das safras, com isso produtores rurais têm recorrido cada vez mais o uso de agrotóxicos, os quais se enquadram: inseticidas, fungicidas, herbicidas, entre outros (MEIRA, 2015).

Esses compostos podem pertencer a classe química dos organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, triazinas e outros. Substâncias que podem trazer vários agravos a saúde, como o câncer, além da contaminação ambiental (SANTOS, 2017). Os agrotóxicos podem chegar à mesa dos consumidores através dos alimentos contaminados (LEHOTAY *et al.*, 2005). Para MACHADO *et al.*, 2017, os agrotóxicos podem permanecer nas culturas mesmo quando aplicadas em concentrações recomendadas. Essas concentrações são estipuladas através do limite máximo de resíduos (LMR), estabelecidos por regulamentos nacionais e internacionais a fim de manter a segurança do consumidor. No Brasil, a avaliação desses limites é realizado pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Esse monitoramento tem como parametro os limites máximos de resíduos estabelecidos pela Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA). Em outros países, existem outros órgãos responsáveis por essa avaliação, é o caso do Codex Alimentarius e a União Europeia, entre outros, que também estabelecem limites máximos de resíduos. Caso a cultura exceda o LMR, existe uma irregularidade e o produto não estará em conformidade para consumo.

Com a crescente demanda por *fast foods* e alimentos práticos, as batatas tem ganhado espaço na agricultura (GARCIA, 2015; HAAN e RODRIGUEZ, 2016). Para atender essa demanda alguns herbicidas podem ser utilizados para auxiliar na secagem das ramas e antecipar a colheita (SANTOS, 2017). Outros compostos também são utilizados para combater pragas e aumentar a produção das lavouras, prática que pode resultar em resíduos indesejáveis no produto que servirá de alimento para muitas famílias (IERNA, 2014). Dessa forma, Meira (2015), aborda a necessidade de métodos de análises cada vez mais rápidos, de baixo custo, que utilizem menor quantidade de solventes, com resultados precisos, capazes de englobar o maior número de compostos possíveis em uma única análise.

O método proposto em 2003 por Anastassiades e colaboradores, denominado QuEChERS (do inglês: *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), tem sido muito utilizado no preparo de amostras de matrizes alimentares, devido aos altos percentuais de recuperação dos compostos e facilidade de execução. O método QuEChERS é compatível com a cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS), que permite obter resultados de forma rápida e segura, com alta seletividade e sensibilidade mesmo em baixas concentrações. Nessa perspectiva esse trabalho validou o método multirresíduo para 82 compostos em batata inglesa e asterix, como também realizou a análise comparativa destes entre casca e polpa da batata, considerando que as concentrações nestas podem chegar a valores superiores (LMR) estabelecidos pela ANVISA e desta forma causar algum risco a saúde humana

1.1 OBJETIVOS

Desenvolver e validar método analítico para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em batata empregando QuEChERS e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série.

1.1.1 Objetivos Específicos

- I. Avaliar qual o procedimento de extração e partição com base nos métodos QuEChERS original, acetato e citrato apresenta maior eficiência no preparo de amostra, quanto ao maior número de compostos recuperados e menor extração de interferentes (coextrativos);
- II. Verificar a eficiência de diferentes sorventes no preparo da amostra;
- III. Validar o método desenvolvido para a matriz batata, considerando os (LMRs) estabelecidos no Brasil e na Europa;
- IV. Aplicar o método proposto em amostras reais;
- V. Avaliar a quantidade de resíduos de agrotóxicos na casca e na polpa da batata.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BATATA

A batata, conhecida cientificamente como *Solanum tuberosum* L., pertence à classe das hortaliças, dentro do grupo dos tubérculos, sendo uma espécie de caule arredondado e subterrâneo, com função de armazenar nutrientes e energia para as plantas. Esta planta é nativa da América do Sul, da cordilheira dos Andes, com adaptação na Europa em meados de 1570. Em 1620 foi levada da Europa para a América do Norte, espalhando-se para o mundo todo (EMBRAPA, 2022). Existem aproximadamente 5.000 variedades de diversas cores: brancas, amarelas, encarnadas, roxas, das mais diversas formas, arredondada, achatadas e compridas, sendo considerada a cultura com maior diversidade, da qual a composição nutricional pode variar (SAMPAIO *et al*, 2020; VAITKEVICIENE, 2019). A variedade mais produzida no mundo é a batata branca e consecutivamente a batata de casca avermelhada (HAAN e RODRIGUEZ, 2016). Como evidenciado na Figura 1, é possível encontrar uma grande variedade de tubérculo de diferentes colorações e formatos.

Figura 1 - Batatas de diversas cores.



Fonte: Google.

A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), apresenta o perfil de informações sobre a composição centesimal da batata inglesa crua. Percebe-se que em 100 g apresenta aproximadamente 83 g de água e 14,7 g de carboidratos, além de diversos minerais, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição da batata branca crua para cada 100 g.

Composição	Batata Branca
Nutrientes	
Água (g)	82,9
Energia (kcal)	64,0
Proteínas (g)	1,8
Carboidratos (g)	14,7
Colesterol (mg)	NA
Lipídios (mg)	Tr
Fibras totais (g)	1,2
Minerais	
Cálcio (mg)	4,0
Magnésio (mg)	15,0
Manganês (mg)	0,1
Fósforo (mg)	39,0
Ferro (mg)	0,4
Sódio (mg)	Tr
Potássio (mg)	302,0
Cobre (mg)	0,1
Zinco (mg)	0,2
Vitaminas	
Retinol (µg)	NA
Tiamina (mg)	0,2
Riboflavina (mg)	Tr
Piridoxina (mg)	0,2
Niacina (mg)	Tr
Vitamina C (mg)	31,1

Fonte: Adaptado de TACO, 2011. Legenda: N.A.: Não Aplicável; Tr.: Traço.

A batata asterix, de casca vermelha, possui maior teor de fibras e baixo conteúdo de açúcares redutores, características que a tornam mais adequada para frituras. São mais tolerantes ao escurecimento, sendo ideais para uso industriais (FIGUEIREDO, 2011).

As batatas após cortadas ou descascadas tendem a escurecer, um dos principais responsáveis deste fenômeno é uma enzima chamada de polifenol oxidase que catalisa a hidroxilação de monofenóis a o-difenóis, é um processo oxidativo destes na presença de oxigênio (MISHRA, 2016).

Devido às suas propriedades, a batata é uma opção indispensável na alimentação humana. Estas hortaliças são conhecidas como uma das principais fontes de carboidratos, mas também são fontes de proteínas de boa qualidade (GALDÓN, 2010). As batatas são ricas em vitaminas C e algumas do complexo B, contém

fitonutrientes como caratenóides, compostos fenólicos e flavonoides. Tais compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, contribuindo em atividades antioxidativas, anticancerígenas, antitumorais e citotóxicas (GALDÓN, 2012).

Estudos apontam que a casca da batata pode ter até 10 vezes mais nutrientes do que a polpa, são excelentes fontes de minerais e podem ser utilizadas na culinária para enriquecer a composição alimentar de pessoas com deficiência de Fe, Zn, Cu, Ca e Mg (VAITKEVICIENE, 2019). A composição nutricional da batata pode variar de acordo com as práticas agrícolas, fatores climáticos e tipos de solo. Já o processamento das batatas pode levar a perda do valor nutricional (GARCIA, 2015).

2.2 PRODUÇÃO DA CULTURA DA BATATA

A cultura da batata é a quarta mais importante do mundo, ficando atrás das culturas de trigo, arroz e milho. Este alimento pode ser consumido de diversas formas, batatas fritas, cozidas, como ingrediente de uma receita ou até mesmo em produtos industrializados (GAO, 2019; SAMPAIO, 2020).

As batatas são cultivadas durante o ano todo. A maioria dos países tem suas próprias práticas de plantio que evoluíram para melhor adaptar o cultivo das batatas as condições climáticas (DEY, 2021).

A Ásia é o continente com maior produção de batatas, correspondente a 40% da produção mundial. A batata foi introduzida na Ásia por comerciantes europeus entre os séculos XVI e XVII. Com o avanço da agricultura e o aumento da área onde são cultivadas, a produção teve uma expansão expressiva nos últimos anos. Em 2018, a China foi o maior produtor mundial de batatas, seguido da Índia (DEY, 2021).

Atualmente a China é o maior produtor de batatas, tanto em área de produção quanto em quantidades, produção a qual ainda está em expansão (WANG, 2018). Segundo as estimativas da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), em 2018 foram produzidas mais de 368 milhões de toneladas métricas de batatas em todo o mundo. Em 2014 a China produziu cerca de 95,6 milhões de toneladas de batatas, o equivalente a 25% da produção mundial (QUINAG, 2018).

Na China, batatas são consumidas principalmente na forma de tubérculos frescos, com média per capita inferior a 40 kg, correspondente a 1/3 do consumo anual de países desenvolvidos. Os produtos industrializados, que utilizam a batata como

principal componente, correspondem a menos de 10% da produção total. Os principais produtos derivados da batata são amido, amido modificado e batatas fritas (HONG, 2017).

Em 2020 o Brasil foi responsável pela produção de 3,7 milhões de toneladas de batata, com área de plantação estimada em 117.263 ha, tendo o rendimento de 32.134 kg/ha (IBGE, 2022). A Tabela 2 ilustra a evolução da produção de batata inglesa no Brasil entre 2010-2020.

Tabela 2 - Evolução anual da área plantada e da quantidade produzida de batata no Brasil (2010-2020).

Ano	Brasil	
	Área plantada/hectares	Quantidade produzida/toneladas
2010	145.682	3.547.510
2011	149.292	3.917.234
2012	136.019	3.731.798
2013	128.118	3.553.772
2014	132.077	3.689.836
2015	131.943	3.867.681
2016	129.953	3.851.396
2017	118.176	3.655.069
2018	120,43	3.728.953
2019	116,97	3.711.744
2020	117.263	3.767.769

Fonte: Adaptado de IBGE, 2022

O Rio Grande do Sul é um dos estados brasileiros com maior produção de batatas, superado pelos estados de Minas Gerais, Paraná e São Paulo. Entre os anos de 2018 e 2020, o Rio Grande do Sul produziu em média 407.667 toneladas no triênio, correspondente a 11% da produção nacional (ATLASRS, 2022). A Tabela 3 apresenta a evolução da produção de batata inglesa no Rio Grande do Sul entre 2010-2020.

Tabela 3 - Evolução anual na área plantada e da quantidade produzida de batata no Rio Grande do Sul (2010-2020).

Ano	Rio Grande do Sul	
	Área plantada/hectares	Quantidade produzida/toneladas
2010	21.447	367.406
2011	21.888	388.967
2012	19.742	359.031
2013	19.015	357.138
2014	18.242	357.221
2015	19.006	399.472
2016	18.596	426.427
2017	19.325	484.541
2018	17.485	406.796
2019	18.664	452.332
2020	17.686	363.873

Fonte: Adaptado de IBGE, 2020

Entre os municípios do Rio Grande do Sul, São Francisco de Paula se destaca pela produção de batatas, com média anual de 75 mil toneladas/ano. Em seguida Bom Jesus, com uma produção média de 67,8 mil toneladas/ano, e São José dos Ausentes com 59,3 mil/toneladas por ano (ATLASRS, 2022).

O Brasil produz tubérculos suficientes para atender a demanda doméstica, porém depende de boa parte da batata processada que o país consome (GARCIA, 2015). O consumo de batatas processadas está em crescimento, no Brasil e no mundo. Um dos fatores que contribuem para o crescimento do consumo de batatas processadas é a facilidade do preparo, além da disponibilidade e a crescente demanda por *fast food*. Chips e palitos pré-fritos são os produtos com segundo maior crescimento no setor industrial de alimentos no Brasil (GARCIA, 2015; HAAN e RODRIGUEZ, 2016).

Existem diversas pragas que podem danificar as plantações de batata: besouros da batata, vírus, pulgões e outros que podem surgir com o excesso de chuva e umidade. Visando atender o consumo global e minimizar perdas no decorrer das safras, agricultores tem optados pelo uso de agrotóxicos dos mais diversos tipos, tais como herbicidas, fungicidas, nematicidas e inseticidas (PÉREZ, 2006). Os herbicidas também são utilizados para auxiliar na secagem das ramas e antecipar a colheita (SANTOS, 2017). Apesar dos agrotóxicos protegerem as lavouras contra pragas,

quando as doses de aplicação estabelecidas não são seguidas, e o tempo de colheita antecipado, pode resultar em resíduos indesejáveis no produto que servirá de alimento para muitas famílias (IERNA, 2014). Estes resíduos contêm agentes tóxicos que podem trazer vários agravos a saúde, como o câncer, além da contaminação ambiental (SANTOS, 2017).

2.3 AGROTÓXICOS E SEUS IMPACTOS

De acordo com o Codex Alimentarius (2018), qualquer substância utilizada durante a etapa de produção, armazenamento, transporte, distribuição e processamento do alimento ou ração animal para prevenir, destruir, atrair, repelir ou controlar qualquer peste, são denominados agrotóxicos. Esse termo também define substâncias utilizadas no combate de espécies de plantas indesejáveis, controle de parasitas que atuam como hospedeiros externos em animais, substâncias reguladoras do crescimento das plantas, desfolhantes, dessecantes ou inibidores de brotos, e substâncias aplicadas tanto antes quanto após a colheita, para proteger a mesma da deterioração durante o armazenamento e transporte.

A classificação dos agrotóxicos pode ser correlacionada com sua ação, praga-alvo, estrutura química e suas substâncias ativas, bem como segundo os riscos à saúde humana e ao meio ambiente (YAMASHITA, 2008; LARINI, 1999). Segundo Tsipi e colaboradores (2015), os agrotóxicos podem ser classificados conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Classificação dos agrotóxicos quanto ao seu modo de ação.

Classificação	Modo de ação
Acaricida	Combate de ácaros
Algicida	Combate ou inibição de algas
Inseticida	Controle de insetos ou o seu desenvolvimento
Avicida	Combate a aves
Bactericida	Combate ou inibição de bactérias em plantas ou solo
Fungicida	Combate ou controle de fungos
Herbicida	Combate ou inibição de plantas invasoras
Nematicida	Combate a nematoides
Raticida	Combate ou controle de roedores
Regulador de crescimento	Altera o desenvolvimento, florescimento ou taxa de reprodução de uma cultura/planta

Fonte: Tsipi et al., 2015

O processo de regulamentação do uso de agrotóxicos no Brasil passa pela avaliação de três órgãos do Governo Federal: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O IBAMA é responsável pela realização detalhada de informações sobre o potencial poluidor do produto no meio ambiente. O MAPA tem por competência avaliar a eficiência do produto e seu uso na agricultura através de informações agronômicas. Por fim, a ANVISA coordena as ações na área toxicológica e em quais condições seu uso é seguro, estabelecendo os (LMRs) permitidos no Brasil (BRASIL, 2019).

O LMR, conforme a ANVISA é definido como a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico que é legalmente permitido no alimento, por meio da aplicação adequada numa determinada fase da cultura até seu consumo, expresso em $\mu\text{g kg}^{-1}$ ou mg kg^{-1} . Conforme o decreto nº 10.833, de 2021 cabe ao MAPA e ao Ministério da Saúde a competência de monitorar os resíduos de agrotóxicos em produtos de origem vegetal e animal. Este decreto também atribui ao Ministério da Saúde a responsabilidade de avaliar o risco à saúde do uso de agrotóxicos, como também conceder o registro de agrotóxicos e afins destinado a ambientes urbanos e industriais.

Na União Europeia (EU, do inglês *European Union*), os LMRs são deliberados após uma extensa avaliação das propriedades do ingrediente ativo e seus metabólitos, além da utilização pretendida do agrotóxico, com base nas boas práticas agrícolas e na exposição mais baixa necessária para proteger os consumidores. Os LMRs foram estabelecidos para mais de 500 agrotóxicos em mais de 370 alimentos. Os alimentos importados também devem atender esses limites legais, definidos como “tolerância de importação” para atender as necessidades do mercado internacional. Os alimentos ou rações devem estar em concordância com as normas estabelecidas pela EU para serem comercializados. Os Estados membros da UE são obrigados a realizar testes em alimentos para garantir que os limites legais estão sendo respeitados. Os programas de monitoramento europeus são os mais abrangentes do mundo, determinando mais de 500 agrotóxicos em mais de 75.000 amostras de alimentos todos os anos. Os dados coletados em 2019, relatam que 96,1% do total de 96.302 amostras analisadas ficou abaixo do nível máximo de resíduos LMR, 3,9% acima do nível, cuja 2,3% excederam o LMR após levar em consideração a incerteza da medição (EFSA,2018).

No Brasil, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), criado no ano de 2001 pela ANVISA, tem monitorado os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos que chegam na mesa do consumidor. No último relatório apresentado pelo PARA (ANVISA, 2019a), realizado no período 2017-2018, apresenta os dados da determinação de 270 agrotóxicos em 4.616 amostras de 14 diferentes alimentos mais consumidos pela população brasileira. Foram analisados os seguintes alimentos: abacaxi, alface, alho, arroz, batata-doce, beterraba, cenoura, chuchu, goiaba, laranja, manga, pimentão, tomate e uva. Entre as amostras analisadas nesse período, 3.544 amostras (77%) foram consideradas satisfatórias, onde 2.254 (49%) não foram detectados resíduos, e 1.290 (28%) tiveram resíduos com concentrações iguais ou inferiores ao LMR, estabelecido pela ANVISA. Já, 1.072 amostras (23%) foram consideradas insatisfatórias.

Os agrotóxicos têm sido aplicados majoritariamente em várias culturas para inibir a ação de pragas e pestes, mas a utilização de forma inadequada, não obedecendo as instruções prescritas na bula de cada produto, pode ocasionar em problemas ambientais e a saúde humana (MARTINS et al., 2017; VIERA et al., 2017). Portanto, é de extrema importância regular tais contaminantes em alimentos e averiguar a periculosidade para a saúde e meio ambiente. Conforme o IBAMA (2022), o mercado brasileiro apresentou no ano de 2020, um aumento de 10,51 % nas vendas internas de agrotóxicos em relação a 2019. A venda total de ingredientes ativos foi de 685.745,68 toneladas, dos quais os mais comercializados estão representados na Tabela 5.

Tabela 5 - Ingredientes ativos de agrotóxicos mais comercializados no Brasil em 2020.

Ranking	Ingrediente ativo	Toneladas
1º	Glifosato	246.017,51
2º	2,4-D	57.597,57
3º	Mancozebe	50526,87
4º	Atrazina	33.321,11
5º	Acefato	29.982,50
6º	Dicloreto de paraquate	24.191,03
7º	Malationa	15.702,11
8º	Enxofre	11.390,90
9º	Imidacloprido	9.401,65
10º	Clorpirifós	8.864,88

Fonte: Adaptado de IBAMA (2020).

De acordo com os dados do IBAMA, referentes ao ano de 2020, o Brasil produziu cerca de 83.619,48 toneladas de matéria prima destinada a produção de produtos formulados e 502.848,47 toneladas de produto ativo, responsável pela eficácia do agrotóxico. A importação brasileira atingiu 278.214,69 toneladas de matéria prima e 185.721,01 toneladas de produto ativo. Foram exportadas cerca de 3.414,12 toneladas de matéria prima e 6.131,63 toneladas de produtos ativo (IBAMA, 2020).

Atualmente, no Brasil a ANVISA estabelece LMR para 128 compostos em batata, sendo que esta pesquisa visa determinar 102 compostos, dos quais 71 destes apresentam LMR autorizados pela ANVISA. A Tabela 6 apresenta os LMR dos compostos em estudo, estabelecidos para a cultura da batata pela ANVISA, pela União Europeia e pelo Codex Alimentarius, bem como o grupo químico e a classe funcional de cada composto.

Tabela 6 - Compostos registrados no Brasil para uso na cultura de batata juntamente com os (LMRs), estabelecidos de acordo com a ANVISA, EU e Codex Alimentarius.

(continua)

	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
1	Acefato	Organofosforado	Acaricida/Inseticida	0,2	0,01	-
2	Acetamiprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,5	0,01	-
3	Acibenzolar-S-metílico	Benzotiadizol	Ativador de Planta	1,00	0,01	-
4	Azoxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,10	7,0	7,0
5	Benalaxil	Acilalaninato	Fungicida	0,10	0,02	0,02
6	Boscalida	Anilida	Fungicida	0,05	2,0	-
7	Bromuconazol	Triazol	Fungicida	0,10	0,01	-
8	Carbaril	Metil Carbamato de Naftila	Inseticida	0,10	0,01	-
9	Carboxina	Carboxanilida	Fungicida	0,20	0,03	-
10	Cimoxanil	Acetamida	Fungicida	0,10	0,01	-
11	Ciprodinil	Anilinopirimidina	Fungicida	0,10	0,02	-
12	Ciromazina	Triazinamina	Inseticida	0,10	0,05	-
13	Cletodim	Oxima ciclohexanodiona	Herbicida	0,50	0,05	-
14	Clomazona	Isoxazolidinona	Herbicida	0,05	0,01	-
15	Clorfluazurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,01	-	-
16	Clorpirifós	Organofosforado	Inseticida/Formicida/Acaricida	1,00	0,01	2,0
17	Cresoxim-metílico	Estrobilurina	Fungicida	0,10	-	-
18	Difenoconazol	Triazol	Fungicida	0,10	0,1	-
19	Dimetomorfe	Morfolina	Fungicida	0,03	0,05	0,05
21	Dinotefuran	Neonicotinoide	Inseticida	0,01	-	-
22	Espinetoram	Espinosinas	Inseticida	0,01	-	0,7
23	Espinosade	Espinosinas	Inseticida	0,01	-	-
24	Espiromesifeno	Cetoenol	Inseticida/Acaricida	0,03	-	-
25	Etefon	Etileno	Regulador de Crescimento	0,10	0,05	-
26	Etofenproxi	Éter Difênílico	Inseticida	0,03	0,01	-
27	Famoxadona	Oxazolidinadiona	Fungicida	0,01	0,02	0,02

(continuação)

	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
28	Fenamidona	Imidazolinona	Fungicida	0,02	0,01	0,02
29	Fenoxaprope-P-Etílico	Ácido Ariloxifenoxipropiônico	Herbicida	0,05	0,1	-
30	Fipronil	Pirazol	Inseticida/Formicida/Cupinizida	0,05	0,005	0,02
31	Flubendiamida	Diamida do Ácido Ftálico	Inseticida	0,01	0,01	-
32	Fludioxonil	Fenilpirrol	Fungicida	0,02	5,0	5,0
33	Flufenoxurom	Benzoluréia	Acaricida/Inceticida	0,01	0,01	-
34	Flumioxazina	Ciclohexenodicarboximida	Herbicida	0,05	0,02	0,02
35	Fluopicolida	Benzamida Piridina	Fungicida	0,07	0,03	-
36	Fluopiram	Piriletilamida	Fungicida	0,10	0,08	0,15
37	Flutolanil	Carboxamida	Fungicida	0,03	0,1	-
38	Flutriafol	Triazol	Fungicida	0,10	0,01	-
39	Fostiazato	Organofosforado	Inseticida/Nematicida	0,5	0,02	-
40	Imidacloprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,05	0,01	-
41	Indoxacarbe	Oxadiazina	Inseticida/Cupinicida/Formicida	0,05	0,02	0,02
42	Iprodiona	Dicarboximida	Fungicida	0,02	0,01	-
43	Isoxaflutol	Isoxazol	Herbicida	0,01	0,02	-
44	Linurom	Uréia	Herbicida	1,00	0,01	-
45	Lufenurom	Benzoiluréia	Inseticida/Acaricida	0,02	0,01	0,01
46	Mandipropamida	Éter Mandelamida	Fungicida Sistemico	0,01	0,1	0,1
47	Metalaxil-Metílico	Acilalaninato	Fungicida	0,05	0,02	0,05
48	Metconazol	Triazol	Fungicida	0,05	0,04	-
49	Metomil	Metilcarbamato de Oxima	Inseticida/Acaricida	0,10	0,01	0,02
50	Metribuzim	Triazinona	Herbicida	0,10	0,1	-
51	Miclobutanil	Triazol	Fungicida	0,50	0,06	-
52	Pencicurorom	Feniluréia	Fungicida	0,10	-	-
53	Picoxistrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,01	0,01	-
54	Pimetrozina	Pirimidina Azometina	Inseticida	0,01	-	-

(conclusão)

	Nome Comum	Grupo Químico	Classe(S)	ANVISA (mg kg⁻¹)	UE (mg kg⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg⁻¹)
55	Piraclostrobina	Estrobilurina	Fungicida	0,02	-	-
56	Pirimetanil	Anilinopirimidina	Fungicida	0,50	-	0,05
57	Procimidona	Dicarboximida	Fungicida	0,50	0,01	-
58	Profenófos	Organofosforado	Inseticida/Acaricida	0,05	0,01	-
59	Propamocarbe	Carbamato	Fungicida	0,50	0,3	0,3
60	Quizalofope-P-Etílico	Ácido Ariloxifenoxipropiônico	Herbicida	0,03	0,1	-
61	Saflufenazil	Uracila	Herbicida	0,03	-	-
62	Tebuconazol	Triazol	Fungicida	0,10	0,02	-
63	Teflubenzurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,10	0,05	-
64	Tetraconazol	Triazol	Fungicida	0,01	0,02	-
65	Tiabendazol	Benzimidazol	Fungicida	5,00	0,04	15
66	Tiacloprido	Neonicotinóide	Inseticida	0,10	0,02	0,02
67	Tiametoxam	Neonicotinóide	Inseticida	0,02	0,07	-
68	Tiofanato-Metílico	Benzimidazol	Fungicida	0,10	0,1	-
69	Trifloxistrobina	Estrubilurina	Fungicida	0,02	0,02	0,02
70	Triflumurom	Benzoiluréia	Inseticida	0,10	0,01	-
71	Zoxamida	Benzamida	Fungicida	0,10	0,02	0,02

Fonte: Adaptado de ANVISA (2022a); EU (2022); Codex Alimentarius (2018).

2.4 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATAS

2.4.1 Técnicas cromatográficas para determinação de resíduos de agrotóxicos

A grande variedade de agrotóxicos e seus metabólitos têm se tornado um desafio na determinação de seus resíduos em alimentos. Diante disto, os cientistas buscam expandir a gama de agrotóxicos que podem ser determinados em uma única análise, bem como quantificar analitos em níveis mais baixos, com maior precisão, menor uso de solventes tóxicos e baixo custo (LEANDRO *et al.*, 2007). O escopo, os limites de detecção e quantificação, a eficiência e a velocidade dos métodos analíticos multirresíduo são parâmetros que devem ser otimizados para atingir esses requisitos (REIS, 2020).

As técnicas de cromatografia gasosa e cromatografia líquida acopladas à espectrometria de massas tem sido mundialmente aplicada na determinação destes compostos (TSIPI *et al.*, 2015). Na cromatografia gasosa, a amostra é vaporizada e carregada pela fase móvel, a separação dos seus componentes ocorre de acordo com suas propriedades físico-químicas e as da fase estacionária contida na coluna, a qual pode ser líquida ou sólida.

A cromatografia líquida de alta eficiência é capaz de separar misturas que contém muitos compostos com propriedades físico-químicas semelhantes, na qual o principal critério para a análise é que os compostos interajam com a fase móvel. Esta técnica emprega colunas recheadas com materiais especiais e uma fase móvel, eluída sob altas pressões. Nesta técnica os compostos podem ser separados em uma única análise, em uma pequena escala de tempo, com alta resolução, eficiência e detectabilidade (COLLINS *et al.*, 2006). Dentro deste contexto, por apresentar maior resolução e rapidez, a cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC, do inglês *ultra-high performance liquid chromatography*) tem ganhado destaque. Esta técnica utiliza colunas menores, com menor diâmetro e empacotadas com partículas de diâmetro $\leq 1,7 \mu\text{m}$, diminuindo o tempo de análise, com melhor resolução e picos relativamente mais estreitos quando comparados à LC convencional (CHIARADIA *et al.*, 2008). A UHPLC permite o acoplamento à espectrometria de massas. A espectrometria de massas (MS) atua na identificação dos analitos, capaz de obter

informações estruturais e massa molar do analito, características que permitem uma seletividade adicional (SANTE, 2020; CALDAS, 2011).

Os sistemas de espectrometria de massas podem ser encontrados nas configurações *single* ou triplo quadrupolo, trapeamento de íons (do inglês *ion trap*), e tempo de voo (do inglês *time of flight*). A técnica está fundamentada na formação de íons de compostos orgânicos através de fontes de ionização, para que sejam separados pela razão massa/carga (m/z) e encaminhados para o detector (GROSS, 2004; CHIARADIA *et al.*, 2008; SANTE, 2020).

Na cromatografia líquida, as fontes de ionização que apresentam maior eficiência acopladas com a espectrometria de massas são as que produzem íons a pressão atmosférica. A ionização por eletronebulização (ESI), do inglês *electrospray ionization*; ionização química à pressão atmosférica (APCI), do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*; e ionização por fótons à pressão atmosférica (APPI), do inglês *atmospheric pressure photoionization*, são as mais empregadas (LANÇAS, 2009).

O modo de ionização por eletronebulização é o mais aplicado no sistema de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS). Esta técnica baseia-se na formação de íons na pressão atmosférica. A amostra dissolvida em um solvente, não polar, pressurizada em um tubo capilar, sob uma voltagem entre 3000 e 5000 volts. Desta forma o eluente contendo os analitos emerge da coluna à pressão atmosférica, na forma de aerossol. As gotículas formadas são dessolvatadas e os íons são induzidos pelos efeitos da atração eletrostática e pelo vácuo até o espectrômetro de massas. Um dos mecanismos mais utilizados para explicar esse fenômeno consiste na “explosão” coulômbica, onde a carga do analito permanece intacta com o processo de evaporação da gotícula de solvente. As partículas são removidas da superfície pela força do campo elétrico aplicado nas mesmas, transferindo-as para a fase gasosa que é energeticamente mais favorável para íons solvatados. O processo de dessolvatação por meio de um fluxo de gás seco, no qual o gás nitrogênio é o mais utilizado (LANÇAS, 2009).

O analisador de massas do tipo triplo quadrupolo é formado por dois quadrupolos ligados a um octapolo, em série. A função do octapolo é atuar como uma cela de colisão. Os íons selecionados no primeiro quadrupolo passam para o octapolo, o qual vai fragmentar esses íons por meio da dissociação induzida promovida pela colisão com um gás inerte. Em seguida, esses íons, também chamados de íons

percursores, são direcionados por este mesmo gás para o segundo quadrupolo. Tem-se o controle do sistema para transmitir íons de uma única razão massa/carga para gerar informações analíticas mais exatas (CHIARADIA et al., 2008). Na Figura 2 tem-se a ilustração da configuração de um sistema de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas em série do tipo triplo quadrupolo.

Figura 2 - Configurações de um sistema de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas em série tipo triplo quadrupolo.



Fonte: BARCI, 2019.

Os modos de aquisição, ou seja, formas as quais o espectrômetro de massas pode ser programado para a aquisição dos dados:

a) varredura completa (do inglês *full scan*): Neste modo é programado para analisar todas as massas do seu espectro de operação, empregada quando não se sabe os componentes que a amostra possui (STASHENKO e MARTÍNEZ, 2010; VÉKEY, 2001). Este modo também opera dentro de uma faixa determinada, empregando apenas um quadrupolo. Nessas condições o cromatograma é conhecido como cromatograma do íon total (TIC, do inglês *total ion chromatogram*) (STASHENKO e MARTÍNS, 2010; GROSS, 2004).

b) monitoramento do íon selecionado (SIM, do inglês *selected ion monitoring*): O monitoramento de íons selecionados, SIM, permite a escolha de um único íon a ser monitorado ou vários íons característicos dos analitos de interesse (STACHNIUK; FORNAL, 2016). Neste modo de operação, o Q2 e o Q3 apenas transmitem os íons filtrados no Q1 (STASHENKO e MARTÍNEZ, 2010; GROSS, 2004).

c) monitoramento seletivo de reações (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*): Esta técnica também conhecida como modo de varredura do íon produto ou íon precursor, é uma técnica muito sensível e seletiva, focada na fragmentação de um íon precursor selecionado no primeiro quadrupolo e íons produtos resultantes desta fragmentação. Essa fragmentação ocorre no quadrupolo Q2, chamado de cela de colisão e consecutivamente, os íons produtos resultantes dessa fragmentação são filtrados no terceiro quadrupolo (STASHENKO e MARTÍNEZ, 2010). Basicamente, o íon precursor é isolado, fragmentado e apenas os íons produtos selecionados são monitorados.

d) monitoramento de reação múltipla (MRM, do inglês *multiple reaction monitoring*): Este modo é programado para separar dois ou mais íons (SIM) para que sejam novamente fragmentados (MS/MS). É muito eficiente quando a separação cromatográfica não é completa (VÉKEY, 2001).

O espectrômetro de massas seleciona as moléculas pela razão massa/carga, para que posteriormente seja detectado pelo detector. Existe uma grande variedade de detectores para MS, os mais empregados são Chapas fotográficas, Detector de Faraday e os detectores baseados na multiplicação de elétrons (do inglês *electron multiplier*). Os detectores baseados na multiplicação de elétrons apresentam boa razão entre custo e benefícios, qualidades o tornam o detector mais empregado (LANÇAS, 2009).

As multiplicadoras de elétrons utilizam como catodo um metal, oxido metálico, que quando é atingido por um íon, tem seus elétrons removidos e direcionados para outro eletrodo. Devido a diferença de potencial ocorrerá a remoção de outros elétrons, cada elétron gera 1 a 3 novos elétrons, e assim sucessivamente. No final do processo é coletado de cada íon um elevado número de elétrons, com um fator de ampliação bastante eficiente (LANÇAS, 2009).

2.4.2 Preparo de amostra para análise multirresíduo de agrotóxicos

O preparo de amostra é uma das etapas mais importantes e cruciais na determinação de compostos em baixa concentração e em matrizes complexas como alimentos. Desta forma, torna-se necessário o emprego de métodos multirresíduo de fácil aplicação e que seja eficiente para superar os limites impostos pela legislação. A escolha do método deve garantir: baixos limites de detecção e fornecer exatidão e precisão para um amplo número de analitos. Diversos estudos, em concordância com a sustentabilidade, vêm sendo desenvolvidos de forma a melhorar a eficiência da determinação de compostos diferentes, desenvolvendo vários métodos de extração (BARCHANSKA et al., 2018). A Tabela 7 apresenta alguns dos métodos modernos de preparo de amostras para determinação de agrotóxicos em matrizes de alimentos.

O QuEChERS é um dos métodos mais promissores, sendo de fácil execução e de alto rendimento na etapa de extração, além de requer pequena quantidade de amostra e solvente orgânico. Assim pode-se dizer que este método segue os princípios da química verde. Já outros métodos apresentam algumas desvantagens ou limitações que incluem procedimentos complicados, demorados, caros e que requerem o emprego de grande quantidade de solventes orgânicos que em alguns casos são tóxicos. A eficiência e simplicidade do QuEChERS o tornam um dos métodos de preparo de amostras mais empregados para o monitoramento de LMRs (PERESTRELO *et. al.*, 2019).

Tabela 7 - Comparação dos principais métodos modernos de preparo de amostras, utilizados na extração de agrotóxicos em alimentos.

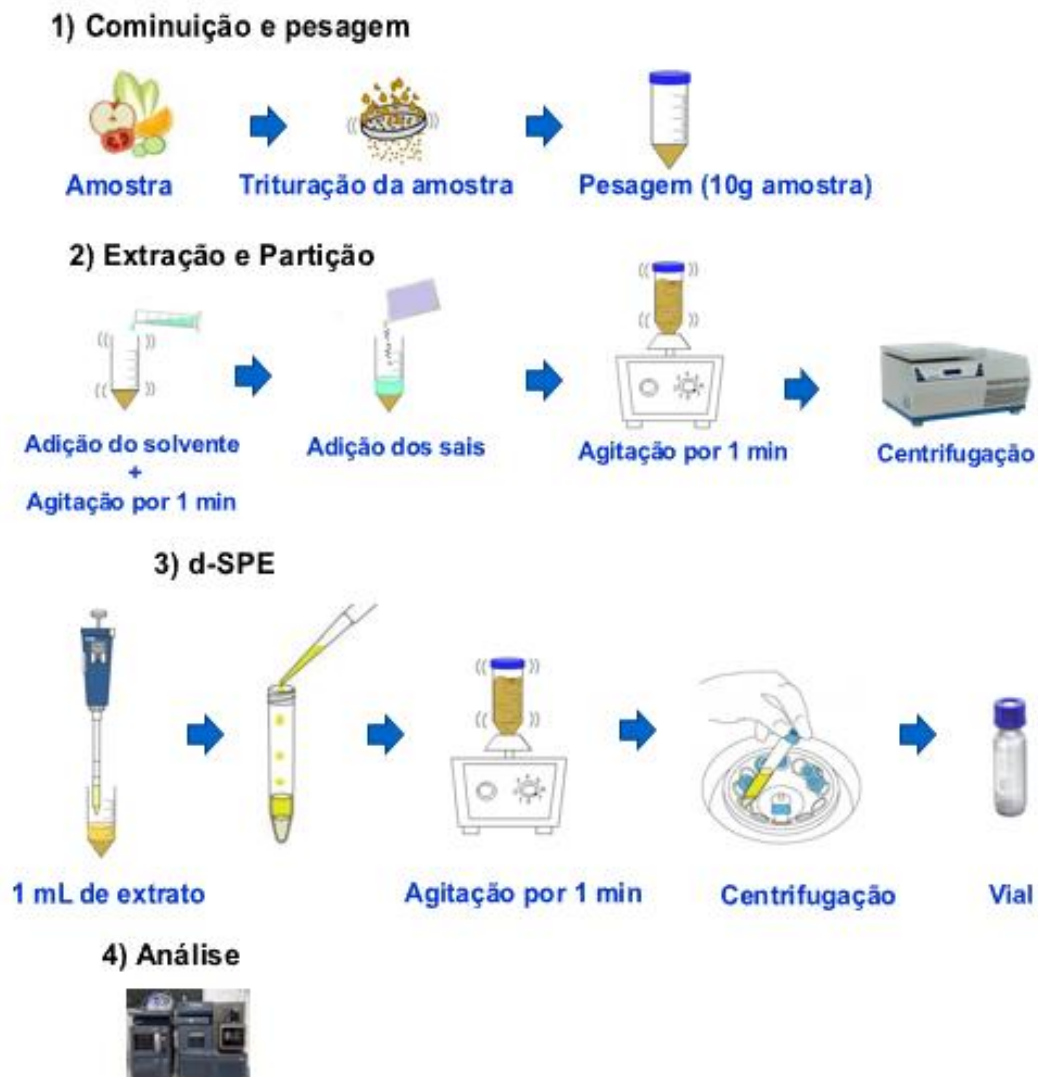
Técnica	Vantagens	Desvantagens
Extração assistida por Microondas (MAE- do inglês <i>Microwave Assisted Extraction</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Fácil; ✓ Extração simultânea de várias amostras; ✓ Pequenas quantidades de solventes; ✓ Tempo curto de extração. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Baixa seletividade; ✓ Etapa de limpeza necessária; ✓ Não aplicável para compostos termolábeis; ✓ Tempo de espera para resfriamento
Extração por solvente Acelerado (ASE- do inglês <i>Accelerated solvent Extraction</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pode ser automatizado, diminuindo possíveis erros; ✓ Tempo curto de extração; ✓ Consumo moderado de solventes; ✓ Simplicidade. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Elevados custos; ✓ Baixa seletividade; ✓ Limpeza de extrato e de equipamento após cada uso.
Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD- do inglês <i>Matrix solidphase Dispersion</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Custo relativamente baixo; ✓ Equipamento simples; ✓ Realização simultânea de várias análises; ✓ Pode ser utilizada <i>in situ</i>; ✓ Pouca quantidade de solventes. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Na maioria das vezes obtém-se LODs não muito baixos; ✓ Algumas vezes baixa recuperação dos analitos; ✓ Não recomendável para amostras secas ou ricas em lipídios.
Micro extração em fase sólida (SPME- do inglês <i>Solid-phase Microextraction</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Não requer solventes; ✓ Capacidade de adsorvente limitada; ✓ Possibilidade de reexecutar repetidamente a análise de uma amostra; ✓ Possibilidade de utilizar fibra sem perda de fase; ✓ Cromatógrafos com injetores comuns podem ser usados 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Não garante uma gama suficientemente ampla de análise em um único procedimento; ✓ Baixa reprodutibilidade; ✓ Problemas frequentes com a otimização de método; ✓ Baixa recuperação dos analitos.
Extração por fluido supercrítico (SFE- do inglês <i>Supercritical fluid extraction</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pouca quantidade de solventes; ✓ Não resulta na degradação dos compostos analisados; ✓ Realização de extração fracionada; ✓ Tempo curto de extração; ✓ Dispositivo que permite a extração no modo semiautomático. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Elevado custo; ✓ Baixa seletividade; ✓ Elevado tempo de limpeza de equipamento após cada uso; ✓ Complicado quando comparado à outras técnicas de extração.
Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME- do inglês <i>dispersive liquid-liquid microextraction</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Simplicidade de operação; ✓ Tempo de extração; ✓ Baixo custo; ✓ Alta recuperação do analito. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Uso de solventes tóxicos; ✓ Não permite automação; ✓ Preferencialmente para amostras líquidas.
QuEChERS (QuEChERS- do inglês <i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Rápido; ✓ Fácil; ✓ Econômico; ✓ Robusto; ✓ Seguro. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ a matriz não é uma fonte de ruídos na etapa de análise isto pode conduzir a valores de LQ mais elevados para o mesmo volume de injeção.

Fonte: adaptado de WILKOWSKA e BIZIUK, 2011; MOREIRA *et al.*, 2014; PRESTES *et al.* 2011

2.4.2.1 Método QuEChERS

Desenvolvido por ANASTASSIADES e colaboradores em 2003, o método QuEChERS, baseia-se em três etapas principais: extração, utilizando como solvente extrator a acetonitrila, partição, promovida pela adição de sais, como sulfato de magnésio e cloreto de sódio e limpeza do extrato que ocorre através de uma técnica conhecida como Fase Sólida Dispersiva (d-SPE, do inglês *dispersive solid phase extraction*). Este método foi realizado com sucesso para a extração de resíduo de agrotóxicos em cereais, frutas, vegetais entre outros e modificações ao método foram surgindo (PAVKOVICH e BELL, 2018; LEHOTAY *et al.*, 2010; RASCHE *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2017). A Figura 3 apresenta um fluxograma simplificado do procedimento normalmente utilizado para o método QuEChERS.

Figura 3 - Representação das etapas do método QuEChERS.



O emprego da acetonitrila como solvente possibilita a extração de uma faixa maior de agrotóxicos de diferentes polaridades, com menor quantidade de coextrativos como ceras, açúcares, lipídios e pigmentos. Outra vantagem da acetonitrila é ser adequada para o sistema LC-MS/MS e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em série (GC-MS/MS) (KIM *et al.*, 2020).

Os sais utilizados na etapa de partição promovem o efeito *salting out*, diminuindo a solubilidade das moléculas de água presentes no solvente aquoso, este processo dá início a um sistema bifásico, ou seja, essa separação de fases é induzida pelo sal. O efeito *salting out* também auxilia na migração dos analitos da fase aquosa em direção a fase líquida. A adição de sais secantes, na etapa de partição, também pode promover o aumento na recuperação dos analitos (BORGES *et al.*, 2015).

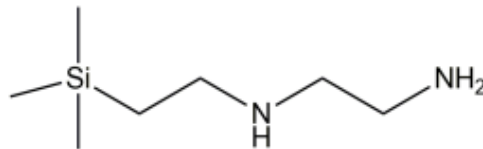
Com o passar dos anos, devido à eficiência deste método, ele passou a ser aplicado para outras matrizes e, consecutivamente, modificações foram realizadas para atender as necessidades dos diversos tipos de compostos a serem determinados. Para evitar a ionização ou degradação de alguns analitos sensíveis a alterações no pH, duas modificações do método QuEChERS original foram desenvolvidas: o método QuEChERS acetato e citrato.

No QuEChERS acetato desenvolvido por Lehotay e colaboradores (2005) emprega-se um tampão de acetato de sódio, utilizando a acetonitrila acidificada com 1% (v/v) de ácido acético para promover o tamponamento, produzindo um solvente de extração adequado para compostos que necessitam de pH ácido (pH 4,5-5) para serem extraídos (BORGES *et al.*, 2015). No QuEChERS citrato proposto por Anastassiades e colaboradores (2007) também se emprega o efeito tamponante (pH 5,0-5,5), utilizando-se quatro sais: citrato diidratado ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), hidrogenocitrato sesquiidratado ($C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1,5H_2O$), sulfato de magnésio ($MgSO_4$) e cloreto de sódio (NaCl). O efeito tamponante é causado pela adição citrato de sódio diidratado e hidrogenocitrato sesqui-hidratado.

Seguindo a etapa do processo, a limpeza, na qual é utilizada a técnica d-SPE, onde o extrato da amostra é misturado ao sorvente, tendo após etapas de agitação e centrifugação (SENES *et al.*, 2020), utilizada para remover compostos interferentes, consiste num mecanismo de partição onde os analitos são distribuídos seletivamente entre o sorvente e a fase líquida (BUSZEWSKI; SZULTKA, 2012). Os sorventes mais relatados na literatura são: a amina secundária primária (PSA), octadecilsilano (C18) e carbono grafitizado (GCB).

O PSA (Figura 4) possui uma estrutura bidentada com alto poder quelante que auxilia na remoção de ácidos graxos, açúcares, ácidos orgânicos, lipídios e alguns pigmentos e outros compostos polares da matriz. O PSA também atua como um trocador aniônico e pode interagir por ligação de hidrogênio ou dipolo-dipolo com outros compostos (ARIAS *et al.*, 2014; PRESTES *et al.*, 2011).

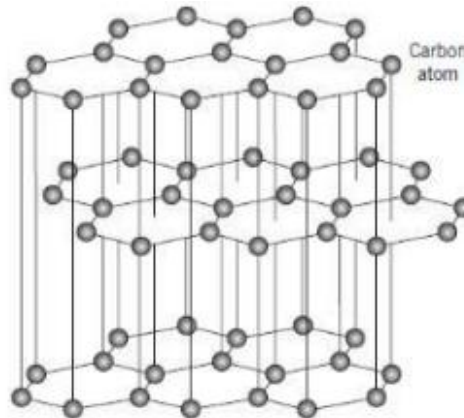
Figura 4 - Estrutura química do PSA.



Fonte: Adaptado de CABRERA *et al.*, 2012.

O GCB (Figura 5), possui uma grande área superficial e contém grupos altamente polares em sua superfície. É empregado na remoção de pigmentos coextraídos, porém o emprego deste deve ser de forma cautelosa, pois pode remover pesticidas de estruturas planares (PERESTRELO *et al.*, 2019).

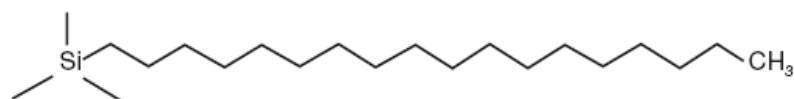
Figura 5 - Estrutura química do GCB.



Fonte: ZANELLA *et al.*, 2015.

O C18 (Figura 6) também promove a limpeza efetiva de algumas matrizes, é eficaz para amostras gordurosas, sendo eficiente na remoção de lipídios (PERESTRELO *et al.*, 2019).

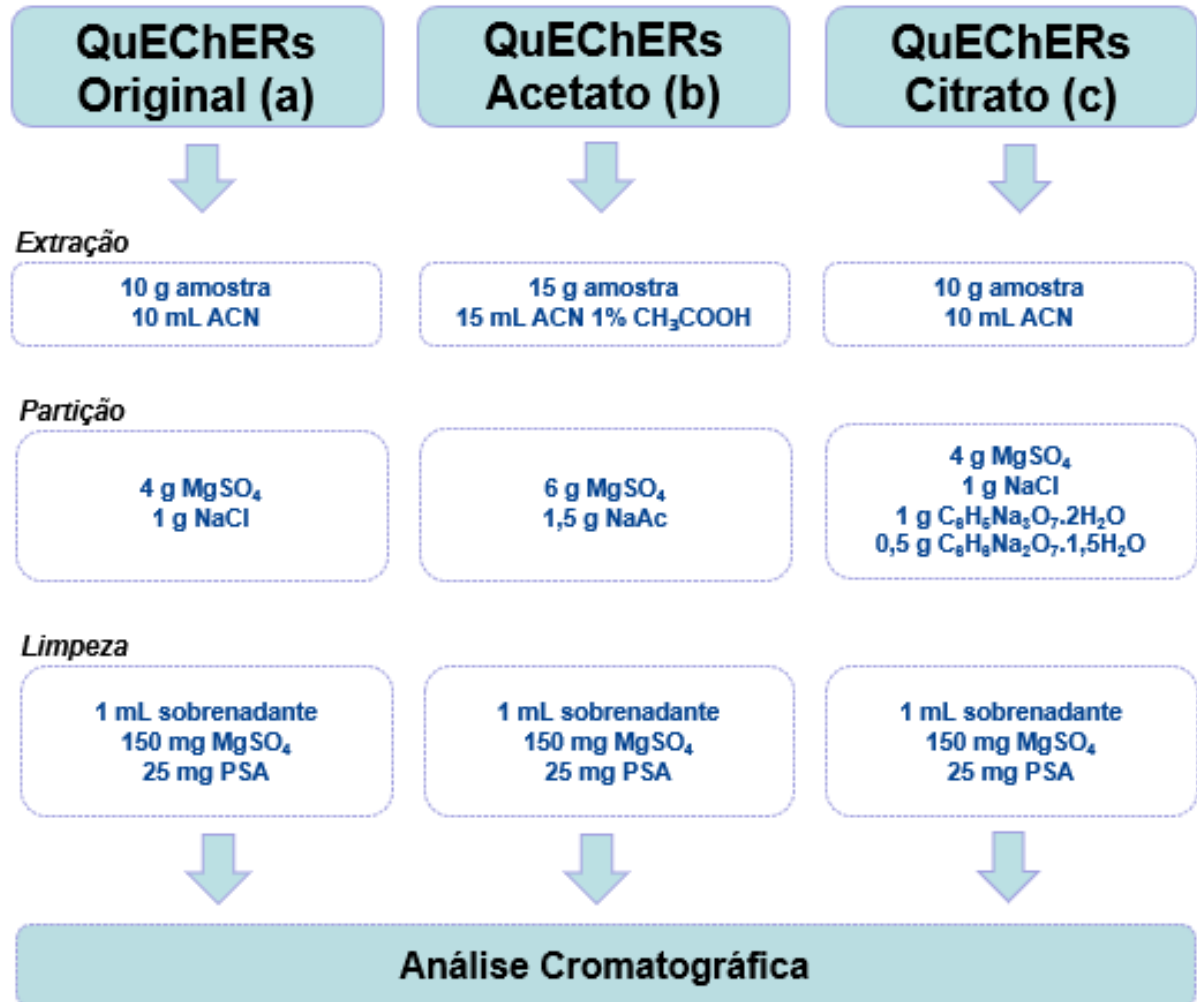
Figura 6 - Estrutura química do C18.



Fonte: ZANELLA *et al.*, 2015.

A Figura 7 exemplifica as três versões do método QuEChERS e ainda detalha as massas e volumes de amostra, solventes, sais e sorventes utilizados.

Figura 7 - Fluxograma das principais versões do método QuEChERS.



Fonte: Adaptado de PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011.

A alumina é um sorvente com características alcalinas, mas também pode ser preparada com características neutra ou ácida, isso a torna útil na separação de compostos com variação destas características (CABRERA *et al.*, 2012)

Na etapa d-SPE, sorventes poliméricos com características hidrofílicas e lipofílicas também podem ser empregados, favorecendo a extração de compostos ácidos, básicos e neutros, entre eles podemos destacar, Oasis[®] HLB, Strata[®] X, Strata[®] SDB-L, Supel[™] QuE Z-Sep+ e Bond Elut Nexus (BROUSMICHE *et al.*, 2008; CAÑAS *et al.*, 2012).

Outra opção de sorvente, são os biopolímeros renováveis como a quitosana, este sorvente é obtido através do processo de desacetilação da quitina sob altas temperaturas, esse processo influencia diretamente na pureza do produto e consecutivamente nas propriedades físico-químicas do sorvente (CANELLA; GARCIA, 2001).

Na etapa de limpeza, além do sorvente, normalmente é utilizado uma quantidade de sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$) para realizar a remoção da água residual (PRESTES *et al.*, 2011).

Para análise multirresíduo de agrotóxicos os métodos de extração vão depender muito do tipo de agrotóxico alvo, sendo necessário considerar a complexidade da matriz.

Como podemos observar na Tabela 8, o método QuEChERS se destaca entre os mais usados para a matriz vegetal, além de possibilitar a extração de maior número de agrotóxicos de forma adequada.

Tabela 8 – Trabalhos reportados na literatura empregando o método QuEChERS para extração de agrotóxicos em batatas e outras matrizes de origem vegetal.

(continua)

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
11 compostos: multirresíduo	Uva, Batata, Arroz, Trigo, Milho e Soja	QuEChERS: 10 g de amostra + 5 mL de água (somente para trigo, milho, arroz e soja) -> agitação (1 min) ->+ 10 mL de ACN-> agitação (1min) -> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl -> agitação (vórtex/1 min) -> centrifugação (5 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante + (50 mg C18 para amostras de soja, arroz, trigo e milho; 25 mg PSA e 7,5 mg GCB para amostras de batata e uva) e 150 mg MgSO ₄ anidro -> agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (5 min)->1 mL extrato -> filtração (0,22 µm)	UHPLC-MS/MS	TIAN <i>et al.</i> , 2020
2-cloroetiltrimetila mônio, 1,1-dimetil-ipiperidínio	Peras e batatas	QuEChERS: 5 g de amostra + 3,5 mL de ACN->agitação (30 s)->3 g de MgSO ₄ ->agitação (vórtex/1 min)->centrifugação (6.000 rpm/10 min)	d-SPE: 1 mL sobrenadante + 125 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA + 50 mg GCB-> agitação (vórtex/1 min)->centrifugação (10 min)->1 mL extrato->filtração (0,22 µm)	UHPLC-MS/MS	GAO <i>et al.</i> , 2015
1 organofosforados e 3 piretróides	Batata	QuEChERS: 1 g de amostra + 5 mL de ACN 1% ác. Fórmico->agitação (vortex/2 min)->1 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 ->centrifugação(4.000 rpm/5 min)	d-SPE: 1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/5 min) ->filtração (0,22 µm)	UHPLC-MS/MS-FDA	REIS e PERESTRELO, 2020
1 Piretróide (Bifentrina)	Banana: Casca, polpa	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN 1% ác. Acético (v/v) ->agitação (vortex/1 min)-> 1 g de MgSO ₄ + 1 g de acetato de sódio ->agitação (1 min)->centrifugação(4.000 rpm/9 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante + 1,5 g MgSO ₄ -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/9 min)	GC-MS	CASTRICINI <i>et al.</i> , 2019
12 compostos	Tomate cereja: Casca, polpa, fruto inteiro	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN-> 4 g de MgSO ₄ + 1 g de NaCl ->agitação (1 min) ->centrifugação(5.000 rpm/5min)	d-SPE: 5 mL sobrenadante + 750 mg MgSO ₄ + 250 mg PSA -> agitação (1min) -> centrifugação (5000 rpm/5 min) ->2 mL foram transferidos para um tubo de ensaio->evaporação (N ₂) 40°C ->reconstituição com 200 µL ACN->centrifugação (13.000 rpm/5 min) ->100 µL transferidos para um frasco de injeção	GC-MS LC-MS	SHIMSHONI <i>et al.</i> , 2019

Tabela 8 – Trabalhos reportados na literatura empregando o método QuEChERS para extração de agrotóxicos em batatas e outras matrizes de origem vegetal.

(continuação)

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
73 compostos: multirresíduo	Romã: fruto inteiro, casca, arilos (cobertura das sementes)	QuEChERS: 10 g de amostra + 20 mL de ACN ->homogenizado (homogenizador de baixo volume) -> 1,5 g de NaCl -> agitação -> centrifugação (13.416g/10 min)->separar 10 mL camada orgânica -> 5 g de Na ₂ SO ₄ anidro para remover o teor de umidade	d-SPE: 1,5 mL sobrenadante + 1000 mg MgSO ₄ anidro + 50 mg PSA -> agitação (vórtex/1 min) -> centrifugação (13.416 rpm/5 min) -> 1 mL extrato -> filtrado através de filtro de seringa de 0,2 µm	LC-MS/MS	NAIK <i>et al.</i> , 2022
13 compostos: multirresíduo	Pimentões	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN -> agitação/vórtex -> 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 -> centrifugação (5.000 rpm/5 min)	d-SPE: 7 mL sobrenadante + 1,05 g MgSO ₄ + 4, 175 g PSA -> agitação (vórtex/30 s) -> centrifugação (6000 rpm/6 min) -> 1 mL extrato -> 5 mL do sobrenadante foram transferidos para um frasco contendo 50 µL de ácido fórmico a 5% (v/v) em acetonitrila ->fluxo de nitrogênio gasoso até a secura, redissolução em 1,0 mL de metanol	LC-MS/MS	MORAIS <i>et al.</i> , 2018
14 organoclorados	Tamarindo: casca, fruta, polpa	QuEChERS: 10 g de amostra + 3 mL de água+ 7 mL de ACN-> agitação (vortex/5 min) ->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/10 min) ->banho ultrassônico (30 min) trabalhando a 50/60 Hz e 100 W->centrifugação (3500 rpm/10 min)	d-SPE: 1,5 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ anidro+ 50 mg PSA + 50 mg C18-> agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (4200/10 min) -> 1 mL extrato-> evaporN ₂ ->300 µL de n-hexano foram adicionados para redissolver o extrato	GC-ECD	PAZ <i>et al.</i> ,2015
1 Piretróide (Bifentrina)	Banana: Casca, polpa	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN 1% ác. Acético (v/v) ->agitação (vortex/1 min)-> 1 g de MgSO ₄ + 1 g de acetato de sódio ->agitação (1 min)->centrifugação(4.000 rpm/9 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante + 1,5 g MgSO ₄ -> agitação (vortex/1min) -> centrifugação (4000 rpm/9 min)	GC-MS	CASTRICINI <i>et al.</i> , 2019

Tabela 8 – Trabalhos reportados na literatura empregando o método QuEChERS para extração de agrotóxicos em batatas e outras matrizes de origem vegetal.

(continuação)

Número e classe dos agrotóxicos	Matriz	Preparo de amostra		Técnica	Referência
		Extração	Limpeza		
30 compostos multiclasse	Frutas e hortaliças	QuEChERS: 10 g de amostra + 10 mL de ACN->agitação (vortex/1 min) ->4 g de MgSO ₄ + 100mg de NaCl + 50 mg C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O + 100 mg C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O->agitação (vortex/1 min) -> centrifugação (1800g/5 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante->pré concentração sob fluxo de N ₂ até 1,5 mL -> 150 mg MgSO ₄ + 25 mg PSA -> agitação (30 s) -> centrifugação (1800 G/5 min)	GC-MS/MS	TANKIEWICZ & BERG, 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 mgFe 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)			
		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 (1 min) -> centrifugação (5000 rpm/3 min) 0,5 mL sobrenadante + 0,5 mL água -> filtração (0,2 µm)	LC-MS/MS	QI <i>et al.</i> , 2021
28 compostos multiclasse	Frutas e hortaliças	QuEChERS: 10g de amostra + 10mL de ACN->agitação (vortex/1min)->4g de MgSO ₄ + 1g de NaCl + 0,5g C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ .1,5H ₂ O + 1gC ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O->agitação (vórtex/5 min) ->centrifugação (3.000 rpm/10 min)	d-SPE: 2 mL sobrenadante -> nano tubo de carbono funcionalizado + agitação (vórtex/30s + repouso/30s) ->filtração (0,2 µm)	GC-MS/MS	WANG <i>et al.</i> , 2020
30 compostos	Frutas cítricas e vegetais	QuEChERS: 15 g de amostra + 15 mL de ACN 1% ácido acético v/v -> agitação (vortex/2-3min) ->6 g de MgSO ₄ + 1,5 g de NaCl -> agitação (vórtex/3 min) -> centrifugação (3.000 rpm/5 min)	d-SPE: 1 mL sobrenadante + 150 mg MgSO ₄ + 50 mg PSA + 7,5 mg GCB -> agitação (manual/20s) -> centrifugação (3.000 rpm/5 min) ->evaporação (N ₂) 40°C ->reconstituição com 500 µL ACN + 500 µL água ultrapura Milli-Q	LC-MS/MS	AL-NASIR <i>et al.</i> , 2022

Fonte: A autor (2023). Legenda= ACN: acetonitrila; PSA: amina primária-secundária; C18: octadecilsilano; GCB: carbono grafitizado; d-SPE: extração em fase sólida dispersiva; SPE; ECD: Detecção por captura de elétrons (do inglês *electron capture detection*); FDA: detector de arranjo de fotodiodo (do inglês *photodiode array detector*).

2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

2.5.1 Seletividade

É um parâmetro de grande importância na análise de amostras complexas, corresponde à eficiência de um método em determinar o analito de interesse, com exatidão, na presença de interferentes presentes na amostra (SANTE, 2020).

Nas técnicas cromatográficas, a seletividade é avaliada para garantir que o pico de resposta seja proveniente do analito e não de outros compostos que constituem a amostra (PASCHOAL *et al.*, 2008).

2.5.2 Exatidão

A exatidão de um método analítico é a proximidade da concordância dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor real, usando um procedimento experimental para uma mesma amostra por repetidas vezes (THOMPSON *et al.*, 2002; KRUIVE *et al.*, 2015a).

A exatidão pode ser obtida mediante uso de materiais de referência certificado, comparação de métodos ou por ensaio de recuperação. A recuperação dos analitos pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas destas (ANVISA, 2017). Os valores de recuperação aceitos para análise de substâncias a nível de traços é entre a faixa de 70 a 120%, com precisão de até $\pm 20\%$ (SANTE, 2020).

2.5.3 Precisão

Este parâmetro, corresponde ao grau de concordância de resultados e testes independentes obtidos sob condições estabelecidas e é expressa pela estimativa do desvio de padrão (DP) ou estimativa do desvio padrão relativo (RSD, do *inglês Relative Standard Deviation*) (THOMPSON *et al.*, 2002). As circunstâncias específicas de medição mais comuns são: por meio da repetibilidade, precisão intermediária e a reprodutibilidade, usualmente expressas pelo desvio padrão relativo, RSD (INMETRO, 2020).

A repetitividade é a concordância entre os resultados sucessivos de um mesmo mensurado, sob as mesmas condições de medição, ou seja, condições de

repetibilidade, as quais são: mesmo procedimento de medição, mesmo analista, mesmo equipamento utilizado sob as mesmas condições de análise, mesmo local e condições de ensaio em curto espaço de tempo.

No Brasil existem duas agências credenciadoras responsáveis pela competência de laboratórios de ensaio, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). O termo repetitividade é utilizado pelo Vocabulário Internacional de Metrologia, adotado pelo INMETRO, enquanto a ANVISA utiliza o termo repetibilidade para o mesmo conceito.

Para a repetitividade, o INMETRO (2020) recomenda seis ou mais repetições para o cálculo de desvio padrão. A ANVISA (2017) sugere que a repetitividade seja efetuada a partir de nove determinações cobrindo o limite específico do procedimento, ou seja, três repetições de três níveis diferentes ou um mínimo de seis determinações a uma concentração similar ao valor esperado. Na precisão intermediária é avaliada a variabilidade dos resultados devido a fatores como: diferentes dias, diferentes analistas, diferentes equipamentos ou a combinação desses fatores (BRASIL, 2011).

2.5.4 Limite de detecção e limite de quantificação

Quando é realizada a medida de baixos níveis de analito em amostras, ou seja, análise de traços, é importante saber qual a menor concentração do analito pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2020).

O limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*) representa a menor concentração do analito que pode ser detectado, mas não necessariamente quantificado, utilizando um determinado método experimental (SANTE, 2020). Quando se trata da detecção do analito, dois resultados falsos são possíveis – resultado falso positivo e resultado falso negativo que estão esclarecidos pela própria definição (KRUIVE *et al.*, 2015a).

O limite de quantificação (LOQ, do inglês *limit of quantification*) representa a menor concentração do analito que pode ser quantificada com precisão e exatidão confiáveis, utilizando um determinado procedimento experimental (GONZÁLEZ *et al.*, 2014). Pode ser relatada a presença do analito detectada na amostra caso o resultado de uma medição esteja entre o LOD e o LOQ, mas está abaixo do limite quantificável (KRUIVE *et al.*, 2015b).

2.5.5 Curva analítica e linearidade

A curva analítica representa a relação entre quantidades conhecidas do analito na amostra e a resposta do equipamento, essa relação deve ser contínua e reproduzível, ou seja, a curva analítica é uma equação matemática (1) que relaciona a resposta do equipamento aos padrões de calibração para uma faixa definida, expressa muitas vezes como uma equação de reta (FACHI *et al.*, 2017; GONZÁLEZ *et al.*, 2014).

$$y = ax + b \quad (1)$$

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

Normalmente, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa do analito de interesse deve ser determinada de forma empírica, a partir de sinais medidos para massas e concentrações conhecidas do analito. A partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada a estimativa dos coeficientes da curva analítica empregando o método matemático chamado de regressão linear (INMETRO, 2020; LANÇAS, 2004).

A partir desta equação é possível calcular o coeficiente de determinação (r^2), que permite estimar a qualidade da curva analítica, a qual deve apresentar valores a partir de 0,99 para se considerado satisfatório (INMETRO, 2020).

2.5.6 Efeito matriz

O efeito matriz é observado a partir da comparação entre a inclinação da curva analítica obtida com os analitos em solvente orgânico e a inclinação da curva do analito no extrato do branco (PINHO *et al.*, 2009). Para SANTE (2020), valores do efeito matriz entre +20 e -20% são os mais adequados. O cálculo do efeito matriz pode ser realizado através da Equação 3.

$$EM(\%) = \left(\frac{x_1}{x_2} - 1 \right) x 100 \quad (3)$$

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).

O efeito matriz é uma preocupação para químicos analíticos e deve ser sempre avaliado e corrigido em um método analítico (FUREY *et al.*, 2013). O espectrômetro de massas pode apresentar como efeito de interferência os fenômenos de supressão de íons, pela presença de compostos presentes na matriz capazes de mudar a eficiência de formação de partículas e alterar a quantidade de íons formados na fase gasosa que atingem o detector (GOSETTI *et al.*, 2010; FUREY *et al.*, 2013). Outro fator são os reagentes adicionados na etapa de purificação como espécies iônicas e compostos polares e moléculas apolares também são capazes de provocar supressão iônica (GOSETTI *et al.*, 2010).

Esses efeitos gerados na interface do sistema LC-MS podem ser minimizados com a otimização do pré-tratamento da amostra e processamento da amostra, assim como modificações nas condições cromatográficas. A calibração é uma estratégia interessante, utilizando-se padrão interno isotópico, pode-se compensar o efeito matriz, assim como o preparo das soluções analíticas no extrato da matriz (GOSETTI *et al.*, 2010).

2.5.7 Padrão interno e padrão de controle

O padrão interno (PI) e o padrão de controle (PC) são adicionados na amostra em diferentes etapas para garantir maior segurança na análise, resultados mais confiáveis, verificando possíveis erros. A avaliação desses padrões é feita de forma individual e distinta, podendo ter diferentes finalidades e definições, dependendo da etapa a qual é adicionado (SANTE, 2020).

O padrão interno (PI) deve ser uma substância similar à substância a ser quantificada, não faz parte da amostra, não deve reagir com os compostos presentes na matriz. Este método é extremamente útil, não depende de pequenas mudanças em variáveis experimentais, como a temperatura da coluna (RIBANI *et al.*, 2004).

O padrão de controle (PC), é definido como um composto, no qual as propriedades físico-químicas são semelhantes aos das substâncias de interesse na forma nativa. Ele também pode ser chamado de padrão de substituição porque ele

pode ser transferido para a amostra e pode não estar no mesmo equilíbrio que está na forma nativa. Para a determinação da recuperação do padrão de substituição é necessário fazer uma “correção de recuperação” para as substâncias de interesse (THOMPSON *et al.*, 2002). Normalmente, utiliza-se compostos isotopicamente modificados (deuterados), pois não são encontrados na natureza e possuem as mesmas propriedades químicas dos analitos dos não deuterados, porém, empregando espectrometria de massas podem ser identificados pela diferença de massa entre o padrão isotópico e o analito (AHMADKHANIHA *et al.*, 2010).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho consiste no desenvolvimento e validação de um método de preparo de amostra utilizando o método QuEChERS para a extração multirresíduo de agrotóxicos em 1-casca, 2-polpa e 3-tubérculo de batata, com 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 empregados durante o desenvolvimento 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);
- Centrífuga (Centribio, Brasil) e centrífuga 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 sódio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA);
- 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);
- 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);
- Citrato de sódio diidratado, pureza ≥ 99% (Sigma-Aldrich, EUA);
- Cloreto de sódio (Sigma-Aldrich, 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 $\geq 99\%$ (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;
- 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);
- Strata-X (Phenomenex, EUA);
- Sulfato de magnésio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA);
- Tubos de polipropileno, com tampas de rosca, de 50 e 15 mL (Sarstedt, Alemanha);
- Vidraria comum de laboratório.

3.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS

Para serem determinados neste trabalho, foram selecionados 102 agrotóxicos de diferentes classes: inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, entre outros. A escolha desses agrotóxicos foi estabelecida a partir dos seguintes critérios:

- agrotóxicos autorizados na cultura de batata no Brasil;
- agrotóxicos mais utilizados no Brasil;
- disponibilidade dos padrões 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

9, assim como outras informações importantes destes padrões, tais como: classe agrônômica, grupo químico, pureza e suas características físico-químicas.

Tabela 9 - 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	99,0	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	8,3	-0,8	302	790000
2	Acetamiprido	Insecticida	Nicotenoide	99,0	C ₁₀ H ₁₁ CIN ₄	0,7	0,8	20	29,50
3	Acibenzolar-S-metil	Fungicida	Benzotiadiazol	98,0	C ₈ H ₆ N ₂ OS ₂	-	3,1	1200	7,7
4	Ametrina	Herbicida	Triazina	98,2	C ₉ H ₁₇ N ₅ S	4,1	2,6	96	1,8 10 ³
5	Atrazina	Herbicida	Triazina	98,1	C ₈ H ₁₄ CIN ₅	1,7	2,6	122	30
6	Azoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99,2	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	0,9	2,5	740,2	11,61
7	Benalaxil	Fungicida	Acilalaninato	99,5	C ₂₀ H ₂₃ NO ₃	-	3,4	-	28,6
8	Boscalida	Fungicida	Anilida	99,0	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	-	4,1	-	3,8
9	Bromuconazol	Fungicida	Triazol	99,5	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	10,7	4,0	3,74 10 ⁷	2,61
10	Buprofezina	Inseticida e acaricida	Tiadiazinona	99,3	C ₁₆ H ₂₃ N ₃ OS	0,4	4,3	5741	2,43
11	Carbaril	Inseticida	Metilcarbamato de naftila	100,0	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	10,4	2,3	241,7	416,2
12	Carbendazim	Fungicida	Benzimidazol	98,5	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	4,2	1,5	175,8	2441
13	Carboxina	Fungicidas	Carboxinilida	99,0	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂ S	0,5	2,3	-	134
14	Ciantraniliprole	Inseticida	Carboxamida	97,5	C ₁₉ H ₁₄ BrCIN ₆ O ₂	-	3,1	-	-
15	Ciazofamida	Fungicida	Imidazol	99,0	C ₁₃ H ₁₃ CIN ₄ O ₂ S	-	2,8	978,5	17,01
16	Cimoxanil	Fungicida	Cianoacetamida oxima	97,0	C ₇ H ₁₀ N ₄ O ₃	9,3	4,2	38	10,62
17	Ciprodinil	Fungicida	Anilino pirimidina	99,9	C ₁₄ H ₁₅ N ₃	4,4	4,0	-	13
18	Ciromazina	Inseticida	Triazinamina	99,9	C ₆ H ₁₀ N ₆	-	-	-	-
19	Cletodim	Herbicida	Oxima ciclohexanodiona	96,1	C ₁₇ H ₂₆ CINO ₃ S	4,5	4,1	-	5450
20	Clomazone	Herbicida	Isoxazolidinona	98,5	C ₁₂ H ₁₄ CINO ₂	-	2,5	4770	197,5
21	Clorantranilipole	Inseticida	Antranilamida	97,8	C ₁₈ H ₁₄ BrCl ₂ N ₅ O ₂	10,8	3,9	2724	0,37
22	Clorfluazurom	Inseticida	Benzoiluréia	99,8	C ₂₀ H ₉ Cl ₃ F ₅ N ₃ O ₃	-	-	-	-
23	Clorpirifós-Etílico	Inseticida	Organofosforado	99,9	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	4,5	4,9	6829	0,36
24	Clorpirifós-Metilíco	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99,9	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	-	4,3	2008	1,89
25	Clotianidina	Inseticida	Neonicotinóide	99,3	C ₆ N ₅ H ₈ SO ₂ Cl	11,1	0,6	2,5	6,6 10 ³
26	Cresoxim-Metilíco	Fungicida	Estrobilurina	98,0	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-	3,4	3,8	2
27	Difenoconazol	Fungicida	Triazol	99,0	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	1,1	4,3	2,4	0,6

Tabela 9 – 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)
28	Dimetomorfe	Fungicida	Morfolina	99,0	C ₂₁ H ₂₂ ClNO ₄	1,3	2,6	1,3	41,80
29	Dimoxistrobina	Fungicida	Estrubilurina	99,0	C ₁₉ H ₂₂ N ₂ O ₃	-	5,3	486	4,30
30	Dinotefuran	Inseticida	Neonicotinóide	99,5	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₃	-	-	-	-
31	Diuron	Herbicida	Uréia	97,5	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	7,8	-	-	0,42
32	Espinetoram	Inseticida	Espinosinas	97,9	C ₄₂ H ₆₉ NO ₁₀	9,2	-	-	-
33	Espinosade A	Inseticida	Espinosinas	94,8	C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀	8,1	3,9	-	235
34	Espinosade D	Inseticida	Espinosinas	94,0	C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀	7,9	4,3	-	0,332
35	Espiromesifeno	Inseticida	Cetoenol	99,9	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	-	4,5	-	0,13
36	Etefon	Regulador de crescimento	Gerador de etileno	96,0	C ₂ H ₆ ClO ₃ P	2,5	-0,2	608	1 10 ⁶
37	Etofemproxi	Inseticida	Piretróide	98,0	C ₂₅ H ₂₈ O ₃	-	6,9	-	0,0225
38	Etoprofós	Nematicida/Inseticida	Organofosforado	93,0	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	-	2,9	-	1300
39	Famoxadona	Fungicida	Oxazolidinonas	99,0	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₄	10,0	4,6	3890	0,052
40	Fembuconazol	Fungicida	Acilalaninas	99,2	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₄	-	3,8	-	-
41	Fenpiroximato	Acaricida	Pirazol	99,4	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₄	-	5,0	12000	0,02
42	Fenamidona	Fungicida	Imidazol	99,6	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	-	2,8	2352	7,8
43	Fenamifós	Inseticida	Organofosforado	98,8	C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS	10,5	3,2	1686	400
44	Fenoxaprope-P-Etílico	Herbicida	Ácido Ariloxifenoxipropiônico	99,9	C ₁₈ H ₁₆ ClNO ₅	-	-	-	-
45	Fipronil	Inseticida, formicida e cupinicida	Pirazol	96,7	C ₁₂ H ₄ Cl ₂ F ₆ N ₄ OS	-	4,0	-	3,78
46	Flubendiamida	Inseticida	Diamida do Ácido Ftálico	99,9	C ₂₃ H ₂₂ F ₇ IN ₂ O ₄ S	-	-	-	-
47	Fludioxonil	Fungicida	Fenipirrol	98,7	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	-	-	-	-
48	Flufenoxurom	Acaricida/Incedicida	Benzoiluréia	99,8	C ₂₁ H ₁₁ ClF ₆ N ₂ O ₃	-	-	-	-
49	Flumioxazina	Herbicida	Ciclohexenodicaboximida	99,9	C ₁₉ H ₁₅ FN ₂ O ₄	-	-	-	-
50	Fluopicolida	Fungicida	Benzamida piridina	98,5	C ₁₄ H ₈ Cl ₃ F ₃ N ₂ O	-	3,2	373	2,80
51	Fluopiram	Fungicida	Piretilamida	99,9	C ₁₆ H ₁₁ ClF ₆ N ₂ O	-	-	-	-
52	Fluquinconazol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ FN ₅ O	0,9	3,2	870	1,15

Tabela 9 – 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)
53	Flutolanil	Fungicida	Carboxamida	99,5	C ₁₇ H ₁₆ F ₃ NO ₂	-	3,70	680	6,53
54	Flutriafol	Fungicida	Triazol	99,5	C ₁₆ H ₁₃ F ₂ N ₃ O	2,3	23,00	292	95,00
55	Fluxapiroxade	Fungicida	Carboxamida	99,9	C ₁₈ H ₁₂ F ₅ N ₃ O	12,6	3,06	1240	2,44
56	Formetanato	Inseticida e acaricida	Metilcarbamato de fenila	93,6	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₂	8,1	-	616	822000
57	Fostiazato	Inseticida e nematocida	Organofosforado	99,2	C ₉ H ₁₈ NO ₃ PS ₂	-	1,68	71	9850
58	Imidacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98,5	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	11,1	0,76	300	580
59	Indoxacarbe	Insecticida e formicida	Oxadiazina	97,4	C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇	-	4,65	8100	0,20
60	Iprodiona	Fungicida	Dicarboximida	99,8	C ₁₃ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ O ₃	-	3,00	-	6,80
61	Iprovalicarbe	Fungicida	Carbamato	98,0	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₃	-	3,18	106	17,80
62	Isoxaflutol	Herbicida	Isoxazol	99,9	C ₁₅ H ₁₂ F ₃ NO ₄ S	-	-	-	-
63	Linuron	Herbicida	Uréia	99,4	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	12,1	3,20	860	75,00
64	Lufenuron	Inseticida e acaricida	Benzoiluréia	99,0	C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃	6,0	8,30	0,06	-
65	Mandipropamida	Fungicida	Éter mandelamida	99,3	C ₂₃ H ₂₂ ClNO ₄	-	3,20	1294	4,20
66	Mefosfolam	Inseticida	Fosforamidato	97,0	C ₈ H ₁₆ NO ₃ PS ₂	-	1,05	-	-
67	Metalaxil	Fungicida	Acilalaninato	99,5	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	-	1,71	163	8,41
68	Metconazol	Acaricida e inseticida	Itraconazol	99,5	C ₁₇ H ₂₂ ClN ₃ O	11,3	3,85	1,71	30,40
69	Metidationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	98,0	C ₁₁ H ₁₀ O ₅ S	-	2,57	341	221
70	Metomil	Acaricida e inseticida	Metilcarbamato de oxima	99,0	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	-	0,09	43	5,5 10 ⁴
71	Metribuzim	Herbicida	Triazinona	99,5	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	1,3	1,60	106	10700
72	Metsulfurom metílico	Herbicida	Sulfolinuréia	99,0	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₆ S	3,3	0,02	57	172
73	Miclobutanil	Fungicida	Triazol	99,0	C ₁₅ H ₁₇ N ₅ ClN ₄	2,3	2,89	-	132
74	Monocrotofós	Inseticida	Organofosforado	98,0	C ₃₆ H ₆₂ O ₁₁	6,6	5,43	-	3,0x10 ⁻³
75	Monolinuron	Herbicida	Uréia	99,5	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	-	0,22	19	8,1x10 ⁵
76	Paradiona-Metíllica	Inseticida	Organofosforado	98,3	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS	7,1	2,90	1610	55
77	Pencicurom	Fungicida	Feniluréia	99,9	C ₁₉ H ₂₁ ClN ₂ O	-	-	-	-
78	Penoxsulam	Herbicida	Sulfonamida	99,0	C ₁₆ H ₁₄ F ₅ N ₅ O ₅ S	5,1	-0,60	-	408

Tabela 9 – 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)
79	Picoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	98,5	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ NO ₄	-	3,60	898	3,1
80	Pimetrozina	Inseticida	Piridina Azometina	99,9	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	-	-	-	-
81	Piraclostrobina	Fungicida	Estrobilurina	97,5	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	-	3,99	9300	20
82	Pirimetanil	Fungicida	Anilino pirimidina	99,8	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	3,5	2,84	301	121
83	Pirimicarbe	Inseticida	Dimetilcarbamato	99,3	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	4,4	1,70	388	31000
84	Piriproxifem	Inseticida	Éter piridiloxipropílico	99,9	C ₂₀ H ₁₉ NO ₃	6,9	5,37	-	0,37
85	Profenófos	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98,0	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS	-	4,44	2010	28
86	Propamocarbe	Fungicida	Carbamato	98,0	C ₉ H ₂₀ N ₂ O ₂	9,5	1,12	100	9 10 ⁵
87	Propiconazol	Fungicida	Triazol	97,5	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	1,1	3,72	656	100
88	Propoxur	Inseticida	Carbamato	99,9	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-	1,56	30	18000
89	Quizalofope-P-Etilico	Herbicida	Ácido Ariloxifenoxipropiônico	99,0	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₄	-	4,61	-	0,61
90	Saflufenacil	Herbicida	Uracila	94,2	C ₁₇ H ₁₇ ClF ₄ N ₄ O ₅ S	4,4	2,57	368,2	2100
91	Simazina	Herbicida	Triazina	98,0	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	1,6	2,10	340	6
92	Tebuconazol	Fungicida	Triazol	98,5	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	5,0	3,70	1000	-
93	Teflubezurom	Inseticida	Benzoiluréia	98,5	C ₁₄ H ₆ Cl ₂ F ₄ N ₂ O ₂	8,2	-	26062	0,02
94	Tetraconazol	Fungicida	Triazol	97,0	C ₁₃ H ₁₁ Cl ₂ F ₄ N ₃ O	-	3,56	4680	187
95	Tiabendazol	Fungicida	Benzimidazol	99,0	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	-	2,39	2500	30
96	Tiacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98,0	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S	-	-	615	184
97	Tiametoxam	Insecticida	Tiocarbamato	99,8	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S	-	-0,10	-	-
98	Tiofanato-Metílico	Fungicida	Benzimidazol (precursor de)	99,0	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	7,4	1,50	225	25
99	Triazofós	Inseticida, acaricida e nematocida	Organofosforado	98,5	C ₁₂ H ₁₆ N ₃ O ₃ PS	-	3,34	358	35
100	Trifloxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	98,8	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	-	4,50	2377	0,61
101	Triflumurom	Inseticida	Benzoiluréia	99,0	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₃	-	4,91	11891	0,04
102	Zoxamida	Inseticida	Organofosforado	99,0	C ₁₄ H ₁₆ Cl ₃ ON ₂	3,8	5,06	1240	18

Fonte: adaptado (2023). 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.

3.3.1 Preparo das soluções analíticas

A partir dos padrões analíticos foram preparados 10 mL de soluções estoque individuais de cada composto, na concentração aproximada de 1000 mg L⁻¹. Essas soluções foram preparadas em solvente adequado (acetonitrila, metanol ou outro). Das soluções estoque, preparou-se uma solução mistura (*mix*), contendo todos os compostos do estudo (Tabela 9), na concentração de 5 mg L⁻¹, diluída em acetonitrila, armazenada em frascos âmbar a temperatura de ≤ -10 °C.

Essa mistura de compostos foi utilizada para realizar os ensaios de fortificação e avaliar a linearidade do método, sendo adicionada na fortificação das amostras “branco” e também para o preparo das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente. As concentrações finais das curvas avaliadas para a injeção no sistema UHPLC-MS/MS foram 0,5; 1; 2, 5, 10 e 20 µg L⁻¹.

3.4 PREPARO E UTILIZAÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE

As soluções de atrazina-d5 (PC) e de trifenilfosfato (PI) foram preparadas individualmente em acetonitrila, na concentração de 10 mg L⁻¹, armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração (≤ -10 °C).

A atrazina deuterada (atrazina-d5) foi utilizada como padrão de controle, com o objetivo de avaliar a eficiência do procedimento de extração na forma de resultados de recuperação (70-120% e RSD ≤ 20%). Esta solução foi adicionada nas amostras “branco” fortificadas e nas amostras analisadas antes da etapa de extração. Para a fortificação e amostras reais utilizou-se a concentração final de 10 µg kg⁻¹.

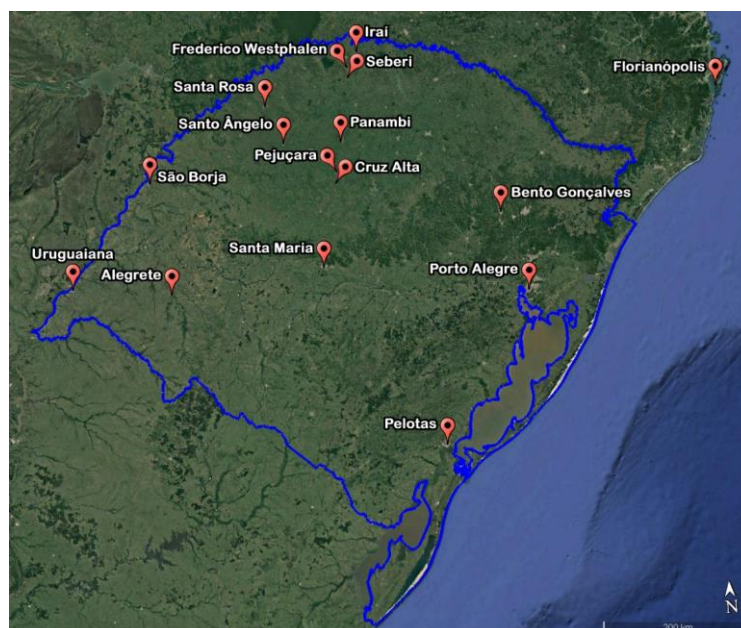
Para verificar a eficiência da análise cromatográfica empregou-se o trifenilfosfato (TPP) como padrão de controle. Esta solução foi adicionada aos brancos fortificados, amostras e soluções de trabalho no solvente e na matriz fortificada, antes da análise cromatográfica, na concentração 20 µg L⁻¹. O trifenilfosfato é empregado apenas para avaliar a estabilidade da resposta do equipamento através do sinal analítico, não sendo aplicado para fins de quantificação.

3.5 AMOSTRAGEM E PROCESSAMENTO

Os ensaios foram realizados com “branco” de batata rosa (asterix), adquiridas da produção orgânica local, cultivadas sem aplicação dos compostos avaliados. As amostras foram submetidas a análise em UHPLC-MS/MS para averiguar a possível presença de algum resíduo dos agrotóxicos em estudo. Como um dos objetivos deste estudo era avaliar a quantidade de resíduos de agrotóxicos no tubérculo, casca e na polpa da batata, o processamento foi realizado de três maneiras distintas para a mesma amostra. Para a análise do tubérculo, o mesmo foi picado de forma integral e posteriormente homogenização e processado em mixer, conforme descrito no Codex Alimentarius (2001). Já para a análise das cascas e da polpa, estes foram separados com uma faca, picados e processados separadamente. Após processadas, as amostras foram armazenadas em potes de polipropileno e acondicionadas no freezer a temperatura de aproximadamente ($\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a sua utilização.

O método foi aplicado em 17 amostras comerciais de batata branca e 17 de batata rosa, oriundas de diferentes pontos comerciais do estado do Rio Grande do Sul, como também de Florianópolis-SC e de Volta Redonda-RJ conforme a Figura 8. O processamento e armazenamento das amostras procederam da mesma maneira que a amostra “branco”. Para a realização dos ensaios, aguardou-se até que as amostras atingissem temperatura ambiente.

Figura 8 - Mapa do Rio Grande do Sul com a localidade das amostras de batata.



Fonte: O autor (2023).

Na Tabela 10 são identificadas as amostras de batata avaliadas no estudo e seus diversos locais de origem.

Tabela 10 – Identificação das amostras de batata analisadas no presente estudo e local de amostragem.

Identificação/Batata Branca			Identificação/Batata Rosa			Localidade
Tubérculo	Polpa	Casca	Tubérculo	Polpa	Casca	
AT1	AP1	AC1	BT1	BP1	BC1	Porto Alegre – RS
AT 2	AP2	AC 2	BT2	BP2	BC2	Santa Maria – RS
AT 3	AP3	AC 3	BT3	BP3	BC3	Santa Rosa – RS
AT 4	AP4	AC 4	BT4	BP4	BC4	Frederico Westphalen - RS
AT 5	AP5	AC 5	BT5	BP5	BC5	Bento Gonçalves - RS
AT 6	AP6	AC 6	BT6	BP6	BC6	Alegrete – RS
AT 7	AP7	AC 7	BT7	BP7	BC7	Cruz Alta – RS
AT 8	AP8	AC 8	BT8	BP8	BC8	Uruguaiana – RS
AT 9	AP9	AC 9	BT9	BP9	BC9	Pelotas – RS
AT 10	AP10	AC10	BT10	BP10	BC10	Panambi – RS
AT 11	AP11	AC 11	BT11	BP11	BC11	Iraí– RS
AT12	AP12	AC12	BT12	BP12	BC12	Seberi – RS
AT 13	AP13	AC 13	BT13	BP13	BC13	São Borja – RS
AT 14	AP14	AC 14	BT14	BP14	BC14	Frederico Westphalen – RS
AT 15	AP15	AC 15	BT15	BP15	BC15	Santo Ângelo – RS
AT 16	AP16	AC 16	BT16	BP16	BC16	Florianópolis – SC
AT 17	AP17	AC 17	BT17	BP17	BC17	Volta Redonda – RJ

Fonte: O autor (2023). Legenda= AT: Amostra Tubérculo; AP: Amostra Polpa; AC: Amostra Casca; BT: Amostra Tubérculo; BP: Amostra Polpa; BC: Amostra Casca.

3.6 FASE MÓVEL UTILIZADA

A escolha da fase móvel tem influência significativa no sinal analítico e na separação do analitos, e por isso, pode ser considerada uma etapa muito importante no processo cromatográfico. Desta maneira, a fase móvel em gradiente foi composta por: A) metanol:água (98:2, v/v) e B) metanol:água (98:2, v/v), ambas com ácido fórmico 0,1% (v/v) e formiato de amônio 5 mmol L⁻¹, conforme Tabela 11. A fase móvel já era utilizada no LARP para análise de outros agrotóxicos. O tempo total de análise foi de 10 min.

Tabela 11 - Gradiente de fase móvel utilizado no sistema UHPLC.

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: O autor (2023).

3.7 CONDIÇÕES UTILIZADAS NO SISTEMA UHPLC-MS/MS

As condições de um sistema para as análises cromatográficas devem ser otimizadas para maximizar a sensibilidade e desempenho na análise das massas dos íons percursores e produtos, utilizando condições necessárias de acordo com a classe química dos compostos, contribuindo assim para aumentar o número de compostos que podem ser detectados com boa repetibilidade na análise da amostra. As condições gerais utilizadas foram estabelecidas através de métodos realizados no LARP-UFSM e são amplamente utilizadas em análises de rotina para diferentes compostos e matrizes. A Tabela 12 apresenta as condições do sistema de análise.

Tabela 12 - Condições empregadas no sistema UHPL 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: O autor (2023).

3.8 AVALIAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM BATATA ROSA.

3.8.1 Avaliação das diferentes versões do método QuEChERS

Para a realização dos testes propostos neste trabalho foram considerados trabalhos da literatura sobre a determinação multirresíduo de agrotóxicos em frutas, hortaliças e vegetais. Inicialmente foram realizados testes empregando as três versões do método QuEChERS: Original (ANASTASSIADES et al., 2003); acetato (LEHOTAY et al., 2005) e citrato (ANASTASSIADES et al., 2007). Nestes testes, foi avaliada a eficiência que cada método apresenta a partir da recuperação do número de compostos, com resultados de recuperação na faixa de 70-120% e com RSD \leq 20%.

Os testes foram realizados em triplicata (n=3) com ensaios de fortificação no nível de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, equivalentes a 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ na amostra (diluição 5x). Tendo como finalidade avaliar as interferências da matriz, os testes foram realizados com etapas de adição de padrão nas amostras antes (FA, fortificação na amostra) e após a etapa de extração (PA, padrão na amostra). Ressalta-se que os extratos de FA e PA foram diluídas 5 vezes em água ultra pura e consecutivamente filtradas utilizando filtros de *nylon* de 13 mm e porosidade de 0,22 μm e injetadas no sistema cromatográfico. O cálculo de recuperação foi realizado de acordo com a Equação 3.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{X_1}{X_2} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

X_1 = média da áreas do composto na fortificação da amostra;

X_2 = média das áreas do composto no extrato da amostra.

A presença de coextrativos no extrato “branco” também foi avaliada, considerando significativos os valores maiores que $\pm 20\%$ (SANTE, 2020). O efeito matriz foi estimado comparando as áreas (resposta cromatográfica) obtidas com soluções analíticas preparadas na matriz branco do extrato e de solvente (acetoneitrila).

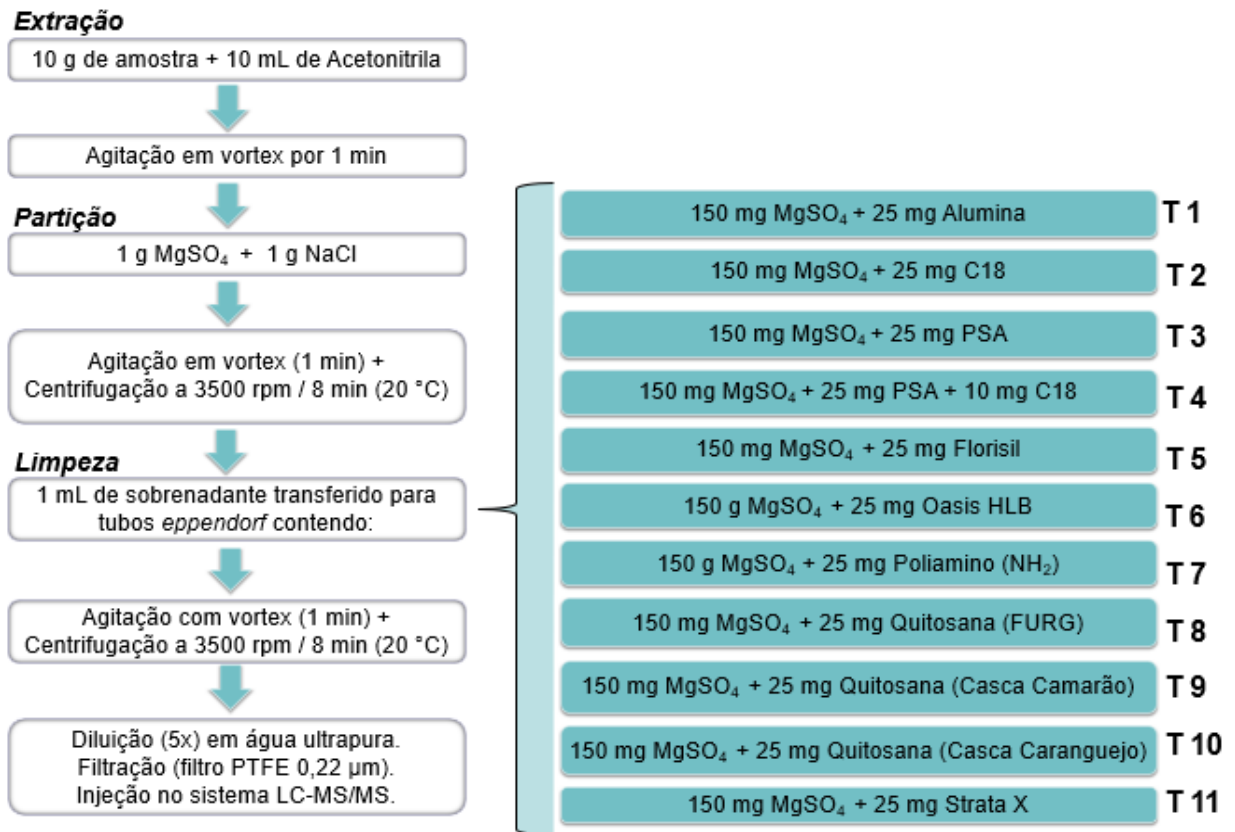
3.8.2 Avaliação dos diferentes sorventes na etapa de d-SPE

Após definir o melhor QuEChERS, realizou-se testes para avaliar a eficiência de limpeza de diferentes sorventes, sendo eles: PSA, C18, strata X, Oasis HLB, Quitosana – FURG, Alumina, Quitosana casca de camarão, Quitosana casaca de caranquejo, Florisil, Poliamino (NH₂), também testou-se a combinação dos sorventes PSA+C18 que são os mais empregados conforme literatura. Para a escolha dos sorventes foram adotados os seguintes critérios:

- Mais utilizados na literatua;
- Mais empregados na rotina do LARP;
- Disponibilidade no LARP;
- Composição da amostra.

Nesta etapa, avaliou-se o comportamento dos sorventes na efetividade de limpeza do extrato final. Para que não ocorresse perdas do analito na etapa de extração, optou-se em realizar a fortificação diretamente no extrato (amostra de “branco”). A fortificação foi realizada no nível de 50 µg kg⁻¹, equivalente a 10 µg L⁻¹ do extrato diluído (diluição 5 vezes do extrato final). Os sorventes foram testados em triplicata, avaliando o número de compostos que apresentaram resultados aceitáveis de recuperação (70-120%) de acordo com a Equação 1. O efeito matriz foi calculado através da Equação 2. A Figura 9 ilustra o fluxograma do procedimento do preparo da amostra empregando o método QuEChERS realizados para a avaliação da etapa de limpeza dos extratos d-SPE com diferentes sorventes. Para eliminar a água residual na etapa de limpeza, utilizou-se 150 mg de MgSO₄ anidro juntamente com os sorventes. A Figura 9 exemplifica os testes (T1 a T11) realizados para avaliar a etapa de limpeza empregando diferentes sorventes.

Figura 9 - Ensaio de limpeza de preparo de amostra (T1 a T11) empregando o método QuEChERS original d-SPE com diferentes sorventes.



Fonte: O autor (2023).

3.9 VALIDAÇÃO DO MÉTODO QUECHERS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATAS

A validação foi baseada nos guias disponibilizados pela SANTE (2020), INMETRO (2020) e ANVISA (2017), cujos parâmetros estabelecidos são: 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.

O limite de quantificação (LOQ) foi determinado a partir dos ensaios de fortificação, considerado como LOQ, o nível fortificado mais baixo com precisão e exatidão aceitáveis, que tenha sinal/ruído >10, no qual a precisão e a exatidão dos compostos em estudo encontraram-se dentro dos níveis aceitáveis de recuperação e desvio padrão relativo (SANTE, 2020). Obteve-se o limite de detecção (LOD) dividindo-se o valor de LOQ por 3,33.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Nesta etapa, foram avaliadas as condições analíticas 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 no modo SEM. 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. Os parâmetros tempo de retenção, voltagem do cone e energia de colisão para as transições SRM para os compostos do método já válidos estão descritos na Tabela 13. Utilizou-se o modo de ionização ESI positivo, exceto para o fipronil, que foi determinado no modo de ionização ESI negativo.

Tabela 13 - Compostos determinados por UHPLS-MS/MS, com seus respectivos tempos de retenção (t_R), voltagem do cone (VC), íons precursores e produtos, e energia 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	1.78	8	184,1	125,1	18	143	8
2	Acetamiprido	3.73	23	223	56,1	15	126	20
3	Acibenzolar-S-metil	6.12	41	210,9	69	52	135,9	30
4	Ametrina	5.74	32	228,1	68,1	36	186,1	18
5	Atrazina	5.57	30	216,1	96,1	23	174,1	18
6	Azoxistrobina	6.03	17	404	329	30	372	15
7	Benalaxil	6.98	17	326	148	21	91	34
8	Boscalida	6.25	32	342,9	139,9	20	307	20
9	Bromoconazol	6.47	32	376	70,1	25	158,9	35
10	Buprofezina	7.58	22	306,1	57,4	20	201	12
11	Carbaril	5.19	19	202	117	28	145	22
12	Carbendazim	2.82	24	192,1	132,1	28	160,1	18
13	Carboxina	5.13	25	236	87	22	143	16
14	Ciantraniliprole	5.30	20	475	444	17	286	13

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)
15	Clotianidina	3.42	95	250	169	8	131,9	8
16	Cletodim	7.41	25	360	164	20	268,1	10
17	Clomazone	5.96	23	240	89	46	125	18
18	Clorantraniliprole	5.87	20	481,6	451,1	22	283,9	14
19	Clorpirifós	7.78	27	349,9	198	20	97	32
20	Clorpirifós-metil	7.27	23	321,8	125	20	289,9	16
21	Ciprodinil	6.74	11,0	226,1	79,6	50	166,1	56
22	Ciazofamida	6.65	50	325,0	65,1	52	343,2	24
23	Difenoconazol	7.26	37	406	111,1	60	251,1	25
24	Dimoxistrobina	6.86	10,5	327,2	116,0	20	205,1	12
25	Dimetomorfe	6.34	30	388,1	300,9	20	165	30
26	Dinotefuram	2.19	15	203	113	15	129	10
27	Diurum	5.72	27	233	46,3	14	72,1	18
28	Espiromesifen	7.33	24	371,1	255,1	7	273,1	10
29	Etefon	7.33	25	409	145	40	186	16
30	Etoprofos	6.65	18	243	97	31	131	20
31	Fenbuconazol	7.04	10,02	337,1	70	33	125,1	40
32	Fenamidona	6.20	22	312,1	236,1	14	92	25
33	Fenamifós	6.76	27	304,1	202,1	36	217,1	24
34	Fenpiroximato	7.94	23	422,2	138,1	32	336,1	15
35	Fipronil	6.84	25	435,3	250,1	26	330,2	16
36	Fluopiram	6.55	30	397	173	41	208	36
37	Fluopicolida	6.34	40	383	365	15	172,9	20
38	Fluquiconazol	6.51	37	376	348,8	18	306,9	30
39	Flutolanil	6.32	23	324,1	65	40	262,1	18
40	Flutriafol	5.61	23	302,1	123,1	29	70,2	18
41	Fluxaproxade	6.38	44	380	248	21	131	24
42	Formetanato	1.97	21	222	165	15	42	26
43	Fostiazato	5.33	19	284	228	10	104	22
44	Imidacloprido	3.33	23	256,1	175,1	20	209,1	15
45	Indoxacarbe	7.24	25	528	150	22	203	40
46	lprovalecarbe	6.46	19	321,1	203,1	10	119,1	16
47	Isoxaflutole	5.69	22	360	219	40	250	14
48	Kresoxim-metil	6.90	15	314,1	206,0	7	116,0	12
49	Linuron	6.07	25	249,1	181,1	16	160,1	18
50	Mandipropamida	6.20	16	412	328	16	125	34
51	Metalaxil	5.62	15	280,1	192,1	17	220,1	13
52	Metribuzin	6,94	25	215,1	187,2	25	187,1	15

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.

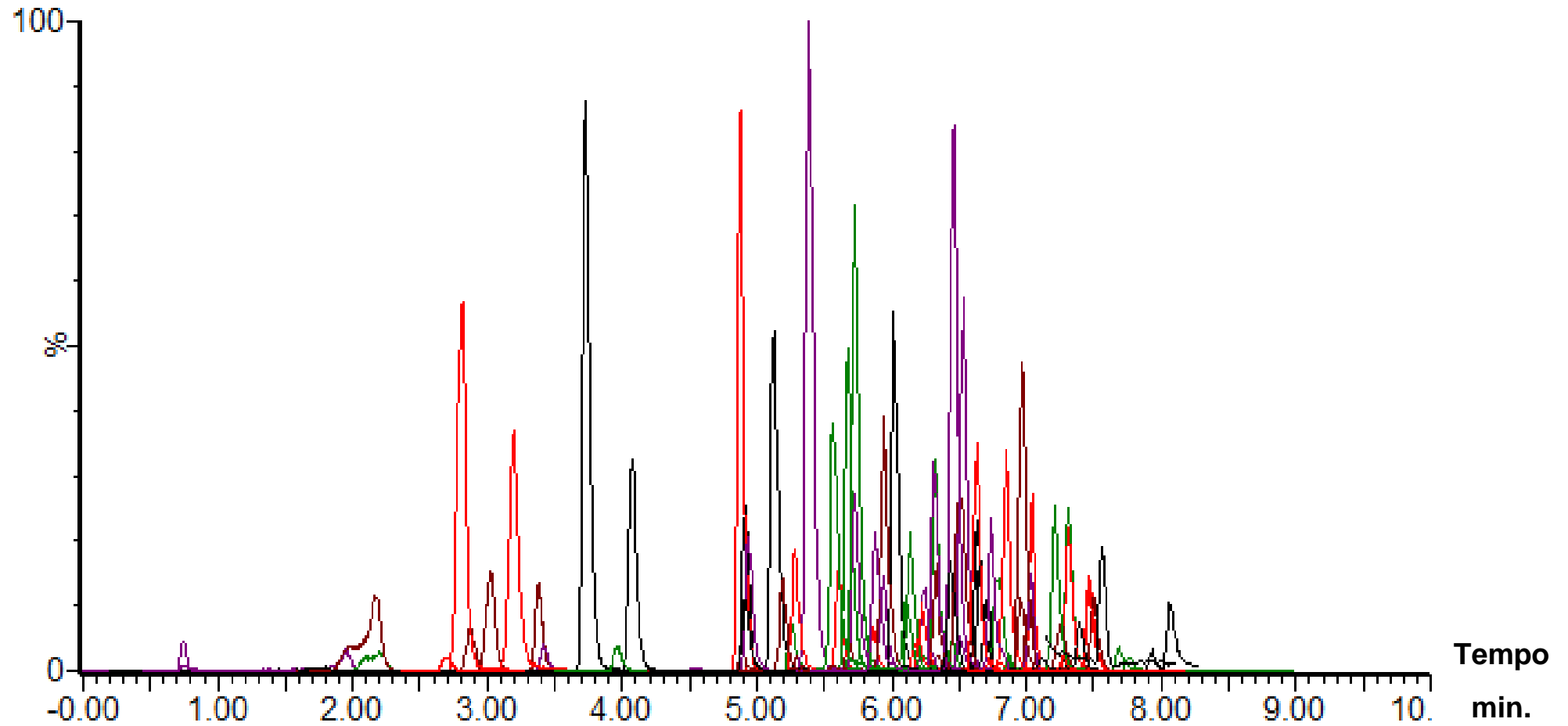
(continuação)

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)
53	Metconazol	7.08	29	320,1	125	36	70	22
54	Metidationa	5.63	10	303	145	10	85	20
55	Metomil	2.65	17	163	106	10	88	10
56	Mefosfolam	6.48	25	270	140	25	168	15
57	Metsulfuron metil	4.88	22	382	198,9	22	167	16
58	Monocrotofós	2.97	15	224,1	98,1	12	127,1	16
59	Miclobutanil	6.46	25	289,1	70,1	18	125,1	32
60	Monolinuron	5.24	23	215	99	34	126	22
61	Pencicrom	7.22	20	329,1	125,1	24	89,1	60
62	Penoxsulam	7,67	35	484,1	195,1	40	194,1	40
63	Picoxistrobina	6.75	10	368	205,1	10	145,1	22
64	Piraclostrobina	7.02	20	388,1	193,9	12	163	25
65	Pirimetanil	5.83	42	200	107	24	82	24
66	Piriproxifeno	7.66	23	322,1	227,1	14	96	14
67	Profenofos	7.35	25	373	128	40	303	20
68	Propamocarbe	2.12	22	189,1	144	12	102	17
69	Propiconazol	6.98	37	342	69	22	159	34
70	Propoxur	4.88	12	210	168	10	111	16
71	Quizalofope-p-etil	7.47	25	373,1	271,2	24	255,1	36
72	Saflufenacil	5.89	30	501,1	349	30	198	49
73	Simazina	4.87	34	202	96	22	124	16
74	Tebuconazol	6.79	31	308	70	22	125	40
75	Tetraconazol	6.48	32	372	159	30	70	20
76	Tiabendazol	3.14	42	202	131	30	175	25
77	Tiacloprido	4.02	32	253	90,1	40	126	20
78	Tiametoxam	2.81	19	292	132	22	211,2	12
79	Triazofós	6.41	22	314,1	118,9	18	161,9	35
80	Trifloxistrobina	7.27	25	409	145	40	186	16
81	Triflumurom	7.07	23	359	139,1	35	156,1	16
82	Zoxamide	7.00	15	336	159	35	187,1	20

Fonte: O autor (2023). PC: padrão de controle; PI: padrão interno

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

Figura 10 - Cromatograma TIC obtido no UHPLC-MS/MS a partir de uma solução padrão de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ preparada no extrato da matriz (batata).



Fonte: O autor (2023).

A separação dos compostos foi realizada pelo sistema cromatográfico (UHPLC), já a identificação e quantificação dos compostos foi efetuada pela espectrometria de massas em série (MS/MS), no total de análise de 10 minutos.

4.2 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM BATATA

Devido à baixa concentração dos analitos, suas distintas propriedades químicas e complexidade das amostras, tornou necessário o desenvolvimento de etapa prévia de preparo de amostra, que seja simples e capaz de extrair maior número de classes de agrotóxicos. Sendo assim, avaliou-se a capacidade de recuperar os compostos de interesse apresentada pelas três variações do método QuEChERS, original (Qo), acetato (Qa) e citrato (Qc).

Inicialmente, tentou-se avaliar as três versões do QuEChERS sem a etapa de limpeza, na qual os extratos foram filtrados e diluídos em água, porém observou-se a turvação dos extratos obtidos nas três versões do QuEChERS. Em seguida, avaliou-se a diluição do extrato em água e logo após, os extratos diluídos foram filtrados, mesmo assim os QuEChERS Citrato e acetato apresentaram turvação, já o QuEChERS original apresentou coloração rosa transparente, ou seja, ficou límpido. As diluições também foram realizadas em fase móvel, porém não houve mudança visual no comportamento dos extratos obtidos nas três versões do QuEChERS. Como os extratos dos QuEChERS Citrato e Acetato apresentaram turvação, para não correr o risco de danificar a coluna cromatográfica, optou-se em realizar a etapa de limpeza por d-SPE, no qual 1 mL do sobrenadante do extrato foi transferido para um outro tubo contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 25 mg de PSA. A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de fortificação para os 102 compostos avaliados em cada versão do QuEChERS. Os resultados que apresentaram recuperação de 70 a 120%, com $RSD \leq 20\%$ foram considerados satisfatórios.

Tabela 14 - Resumo dos resultados dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS (Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para 102 agrotóxicos avaliados.

Recuperação (%)	Número de compostos		
	Qo: QuEChERS Original	Qa: QuEChERS Acetato	Qc: QuEChERS Citrato
70-120%	83 (74)	69 (63)	82 (73)
60-70 / 120-130%	9	4	7
50-60 / 130-140%	5	4	1
50< / <140%	5	25	12
RSD > 20	19	33	20

Fonte: O autor (2023).

Dos valores apresentados na Tabela 14, apenas os representados entre parentêses denotam resultados de recuperação 70 - 120%, com RSD \leq 20%, sendo considerados satisfatórios.

Tabela 15 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de fortificação para 71 agrotóxicos registrados no Brasil para uso na cultura da batata avaliados em cada versão do QuEChERS.

Tabela 15 - Resumos dos ensaios de fortificação em cada versão do método QuEChERS Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para 71 agrotóxicos registrados no Brasil para uso na cultura da batata.

Recuperação (%)	Número de compostos		
	Qo: QuEChERS Original	Qa: QuEChERS Acetato	Qc: QuEChERS Citrato
70-120%	48 (43)	44 (42)	55 (43)
60-70 / 120-130%	8	4	3
50-60 / 130-140%	5	4	1
50< / <140%	10	19	12
RSD > 20	8	16	18

Fonte: O autor (2023).

Dos valores apresentados na Tabela 15, apenas os representados entre parentêses denotam resultados de recuperação 70 - 120%, com RSD \leq 20%, sendo considerados satisfatórios.

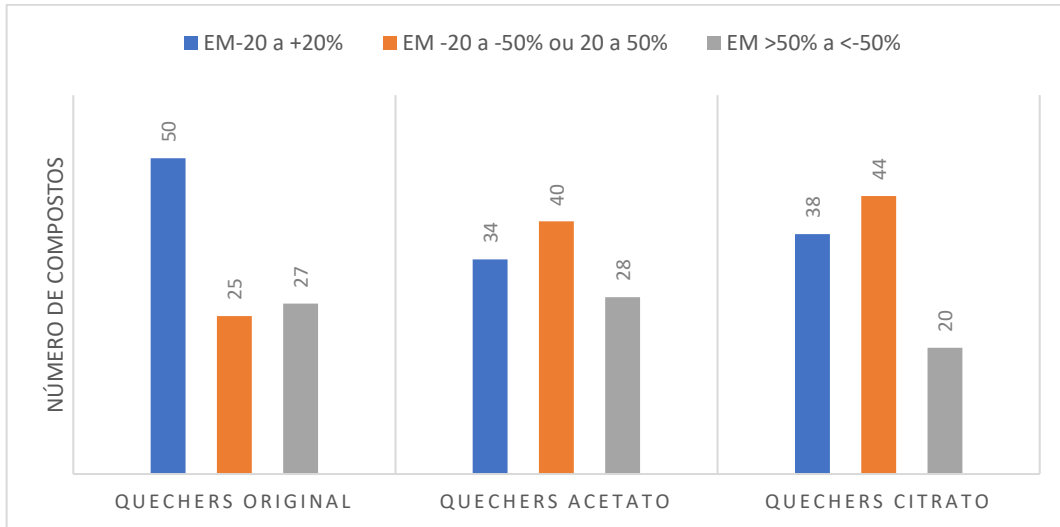
A recuperação dos compostos testados em cada um dos métodos pode estar relacionada com às influências do pH sobre o equilíbrio químico que cada composto apresenta na solução de extração, visto que muitos compostos são sensíveis ao pH do meio e requerem condições analíticas para evitar perdas. A maioria dos

agrotóxicos são estáveis em pH ácido, no entanto, alguns apresentam baixa recuperação, por estarem protonados e solubilizados na fase aquosa e não serem recuperados na etapa de partição (PRESTES *et al.*, 2009).

Dentre os métodos testados, o QuEChERS acetato mostrou-se menos adequado para a recuperação dos agrotóxicos no extrato da matriz batata. O efeito matriz para as três versões do QuEChERS (Qo, Qa, Qc) foi avaliado. Os resultados apresentados pelos 102 agrotóxicos, nas diferentes versões do QuEChERS, podem ser comparados na Figura 11. Já a Figura 12 apresenta os resultados para 71 agrotóxicos registrados no Brasil para o uso na cultura da batata. Nota-se que para o método QuEChERS original (Qo), 50 agrotóxicos dos 102 compostos avaliados apresentaram resultados de efeito matriz de $\pm 20\%$, segundo a literatura, esse valor apresenta um efeito matriz leve, o qual pode ser desprezado (SANTE, 2020). Ainda 25 agrotóxicos apresentaram efeito matriz considerado moderado, com valores entre -50 a 50%. Já 27 agrotóxicos apresentaram efeito matriz elevado, com valores de $< -50\%$ ou $> 50\%$. Para os 71 agrotóxicos permitidos para a cultura da batata presentes neste estudo, 30 apresentaram resultados de efeito matriz leve de $\pm 20\%$, 19 apresentaram efeito matriz moderado, com valores entre -50 a 50% e 22 agrotóxicos apresentaram efeito matriz elevado, com valores entre -50 a 50%.

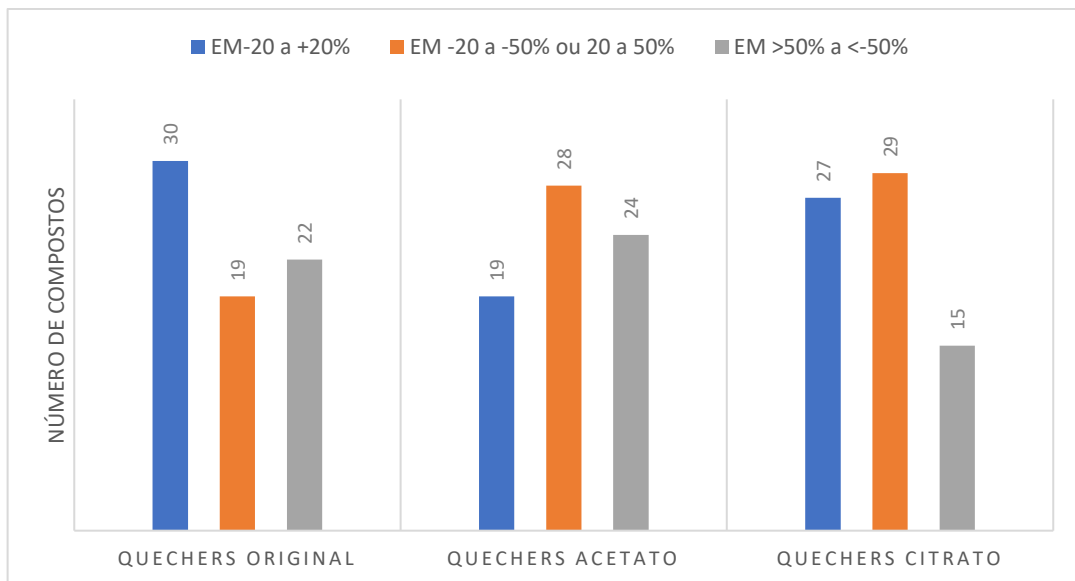
Para os 102 agrotóxicos avaliados no método QuEChERS citrato (Qc), percebe-se que, 34 apresentaram valores de efeito matriz leve de $\pm 20\%$, 40 apresentaram valores moderados (-50 a 50%), outros 28 apresentaram valores elevados ($< -50\%$ ou $> 50\%$). Dos 71 agrotóxicos permitidos para a cultura da batata presentes neste estudo, 19 apresentaram resultados de efeito matriz leve de $\pm 20\%$, 28 apresentaram efeito matriz moderado, com valores entre -50 a 50% e 24 agrotóxicos apresentaram efeito matriz elevado, com valores entre -50 a 50%. Já o QuEChERS acetato (Qa), dos 102 agrotóxicos avaliados, 38 apresentam resultados de efeito matriz leve de $\pm 20\%$, outros 44 apresentam efeito matriz moderado entre -50 a 50% e 20 apresentam valores de efeito matriz elevado de $< -50\%$ ou $> 50\%$. Considerando apenas os 71 compostos permitidos para a cultura da batata presentes neste estudo, 27 apresentaram resultados de efeito matriz leve de $\pm 20\%$, 29 apresentaram efeito matriz moderado, com valores entre -50 a 50% e 15 agrotóxicos apresentaram efeito matriz elevado, com valores entre -50 a 50%.

Figura 11 - Comparação do efeito matriz (%), por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (Qo: original, Qa: acetato e Qc: citrato), para os 102 compostos avaliados.



Fonte: O autor (2023).

Figura 12 - Comparação do efeito matriz (%) por faixa percentual e calculado nos métodos QuEChERS (Q1: original, Q2: acetato e Q3: citrato), para 71 compostos registrados no Brasil para uso na cultura de batata.



Fonte: O autor (2023).

A presença do efeito matriz pode ser percebida pela supressão no sinal, cuja valor do efeito matriz é negativo, como também no aumento da resposta cromatográfica para quase todos os agrotóxicos, gerando efeito matriz positivo.

Analisando a figura 11, nota-se que os métodos tamponados, utilizados para manter o pH mais baixo, extraem quantidades maiores de coextrativos na fase

orgânica. Observa-se que o QuEChERS acetato foi o que apresentou maior efeito matriz, possivelmente, a adição de solvente extrator acidificado tenha extraído boa parte dos compostos coextrativos presentes na amostra. Para Prestes *et al.*, 2009, a presença de coextrativos na fase orgânica está relacionada quando a extração é feita em meio ácido.

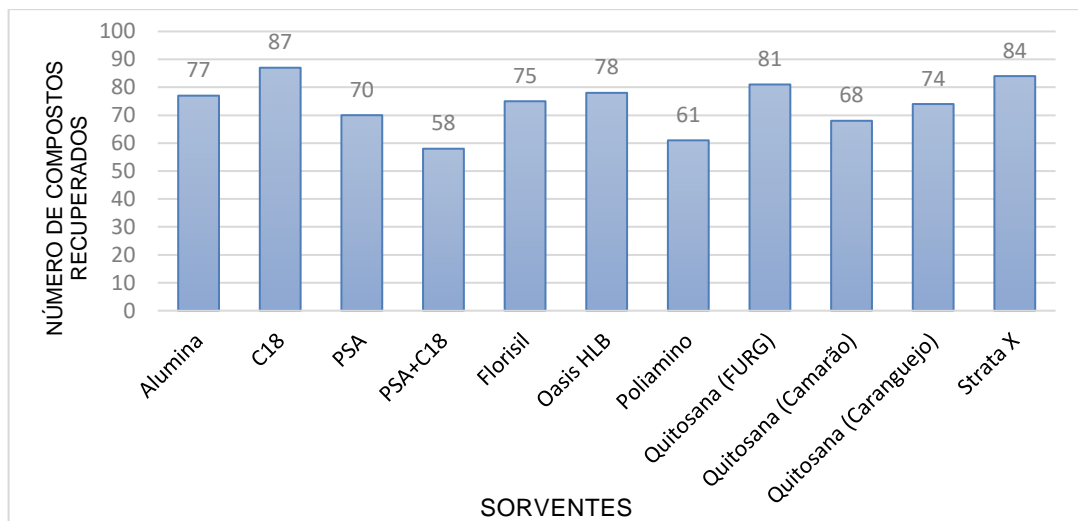
Apesar dos resultados do efeito matriz apresentados pelas três versões do QuEChERS serem semelhantes, o QuEChERS original foi escolhido para dar continuidade dos experimentos, pois este método mostrou-se mais eficiente para o preparo de amostra da matriz batata, pois é o método que possibilita a recuperação do maior número de compostos, além de ser o mais rápido e barato, também gera menos resíduos, pois requer menor quantidade de sais e solventes na etapa de extração, ou seja, apresenta maior concordância com a sustentabilidade ambiental.

4.2.1 Avaliação dos sorventes utilizados na etapa de limpeza do extrato.

Após definir o melhor procedimento de extração, avaliou-se a utilização de diferentes sorventes na etapa de limpeza d-SPE. Ainda que essa etapa possa ocasionar perda de alguns compostos e tornar o processo mais longo e caro, é a alternativa mais recomendada para diminuir o efeito matriz (HAJSLOVÁ *et al.*, 1998), o qual pode gerar resultado falso positivo, causado quando impurezas são eluídas com mesmo tempo de retenção do analito em estudo, o mesmo também pode danificar o sistema cromatográfico (PINHO *et al.*, 2009).

Devido à grande variedade de sorventes disponíveis no LARP, optou-se em realizar ensaios com os mais empregados na literatura, mas também com diferentes materiais (testes Figura 9), a fim de avaliar a remoção efetiva de coextrativos presentes na matriz, sem comprometer a recuperação dos compostos. Os resultados de recuperação são apresentados na Figura 13.

Figura 13 - Quantidade de compostos que apresentam resultados e exatidão e precisão satisfatórias (70-120% e $RSD \leq 20\%$), obtidos através da limpeza de extratos por diversos sorventes.



Fonte: O autor (2023).

Nota-se que o sorvente que apresentou maior número de compostos com recuperação satisfatória foi o C18, consecutivamente a quitosana (FURG) e o Strata-X. Já a combinação dos sorventes C18+PSA, seguido o poliamino, tiveram o menor número de compostos com recuperação considerada satisfatória.

Na Figura 14 pode-se observar os extratos obtidos na avaliação dos sorventes mencionados acima, nota-se que os extratos obtidos são incolores, porém os extratos T2 e T5 apresentam coloração intermediária entre roxo e azul ou quase incolor.

Figura 14 - Extratos das amostras (T1 a T11) empregando o método QuEChERS realizados para avaliação da etapa de limpeza com diferentes sorventes.

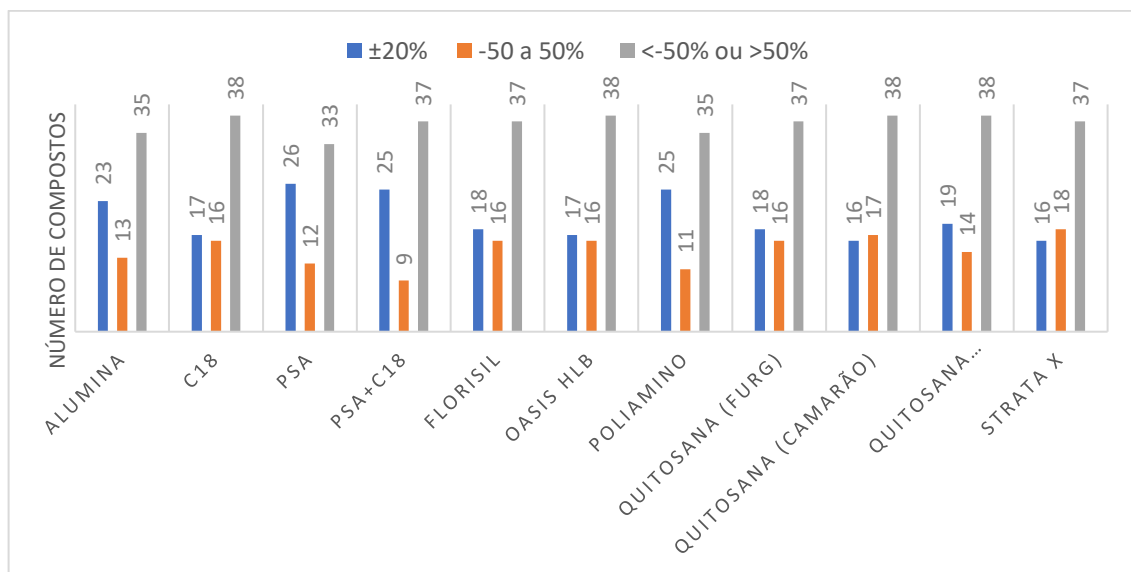


Fonte: O autor (2023). Legenda: T1: Alumina, T2: C18, T3: PSA, T4: PSA+C18, T5: Florisil, T6: Oasis HLB, T7: Poliamino (NH_2), T8: Quitosana (FURG), T9: Quitosana (Camarão), T10: Quitosana (Caranguejo), T11: Strata X.

A capacidade de remover os compostos coextrativos foi avaliada através do efeito matriz, os resultados estão apresentados na Figura 15, o poliamino foi o sorvente que apresentou melhor resultado para o efeito matriz, porém não apresentou boa eficiência na recuperação dos compostos em estudo. Como o sorvente Poliamino

é indicado para remoção de ácidos orgânicos, como ácidos graxos, pode apresentar perdas dos analitos com características ácidas (GAO *et al.*, 2015). Observa-se na Tabela 10 que os compostos Carbaril e Metsulfuron, não recuperados nesse teste, apresentam caráter ácido. A alumina também apresentou baixos valores para efeito matriz em relação aos demais sorventes, mas recuperou 10 compostos a menos em relação ao C18. Apesar do C18, quitosana (FURG), quitosana (camarão), quitosana (caranguejo), Oasis HLB® e Strata® X apresentarem valores similares para o efeito matriz, o sorvente C18 foi o que proporcionou maior recuperação dos analitos em estudo. Conforme a Figura 14, o sorvente C18 apresenta diferença significativa em relação aos demais sorvente avaliados com resultados considerados satisfatórios (recuperação 70-120% e RSD $\leq 20\%$). Já o PSA apresentou valores de efeito matriz melhores em relação ao C18, porém recuperou 17 compostos a menos em relação ao mesmo que possui custo inferior.

Figura 15 - Resultado de efeito matriz (%) para os 102 agrotóxicos avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes.

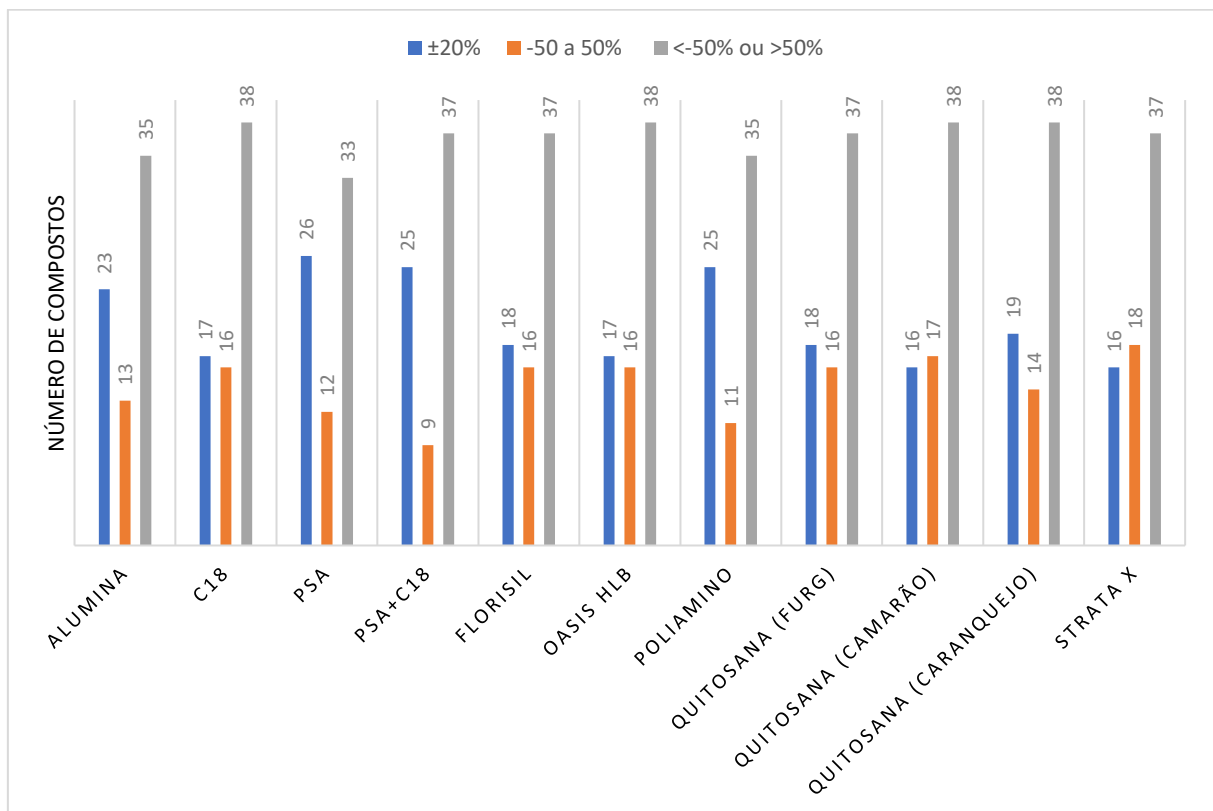


Fonte: O autor (2023).

Segundo Prestes *et al.*, 2011, a estrutura bidentada apresentada pelo sorvente PSA auxilia na remoção de ácidos orgânicos, possivelmente essa característica pode ocasionar na perda da recuperação de alguns compostos com características ácidas. O sorvente Florisil® apresentou valores de efeito matriz similares ao C18, porém os resultados de recuperação para os compostos em estudo foram inferiores. Para CABRERA *et al.*, 2012, o Florisil® é utilizado para a separação de compostos com

baixa polaridade. O Carbaril é um composto de alta polaridade e apresentou baixas recuperações com o Florisil®. Apesar do C18 não apresentar os melhores resultados para o efeito matriz, este foi escolhido como sorvente ideal para a etapa de limpeza do extarto de amostras de batata. A Figura 17 apresenta os resultados do efeito matriz para 71 agrotóxicos registrados no Brasil para a cultura da batata presentes nesse estudo.

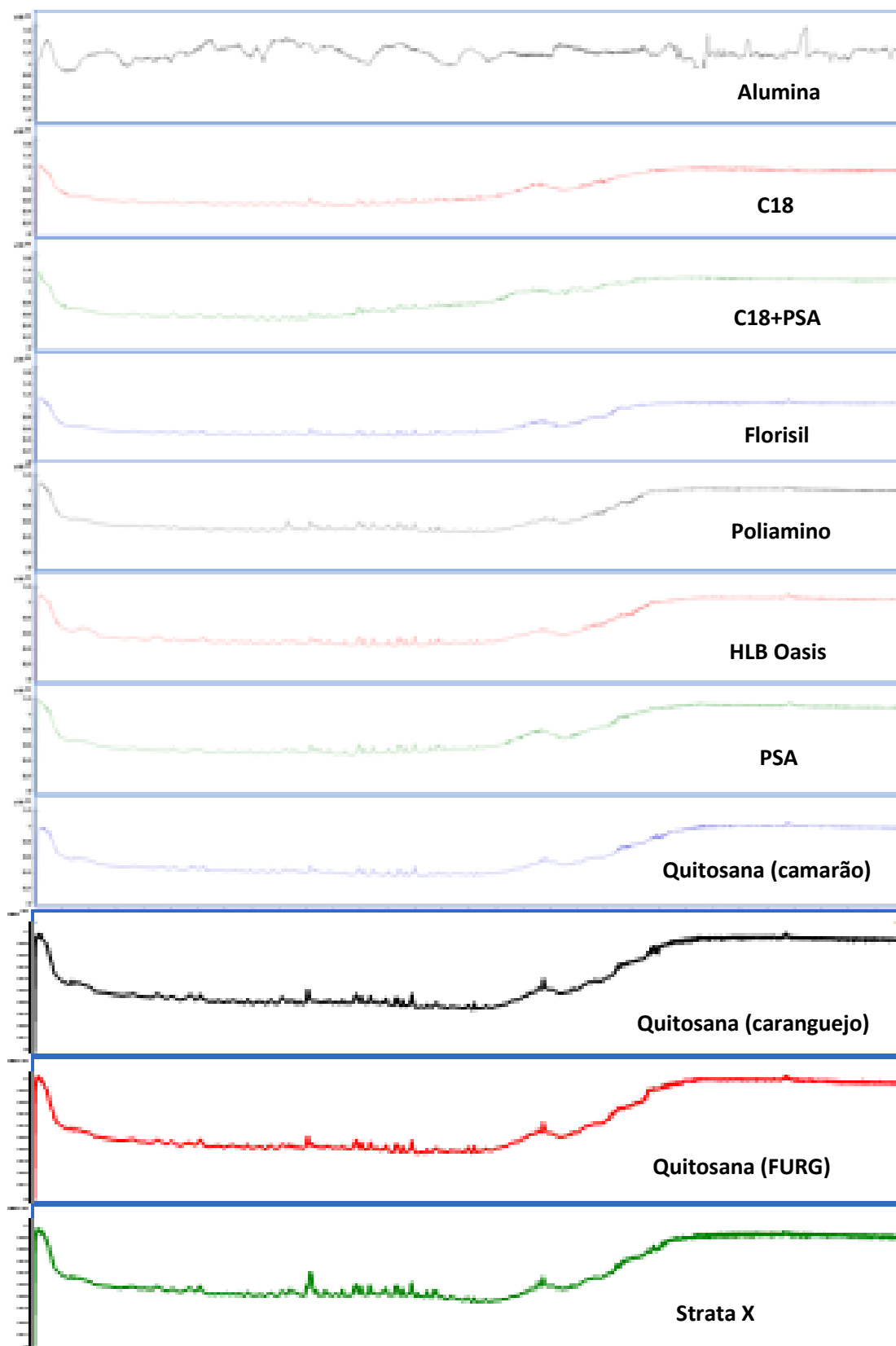
Figura 16 - Resultados de efeito matriz (%) para 71 agrotóxicos permitidos no Brasil para a cultura da batata avaliados na etapa de limpeza, empregando diferentes tipos de sorventes.



Fonte: O autor (2023).

A Figura 17 apresenta os cromatogramas obtidos a partir de injeções no sistema GC-MS/MS no modo *full scan*, nota-se que o Poliamino foi o sorvente que apresentou maior capacidade de remoção de coextrativos, porém não proporcionou recuperação satisfatória dos compostos de interesse.

Figura 17 - Cromatogramas obtidos a partir de injeções no sistema GC-MS/MS no modo *full scan*, do extrato “branco” de batata após a etapa de limpeza utilizando diferentes sorventes.

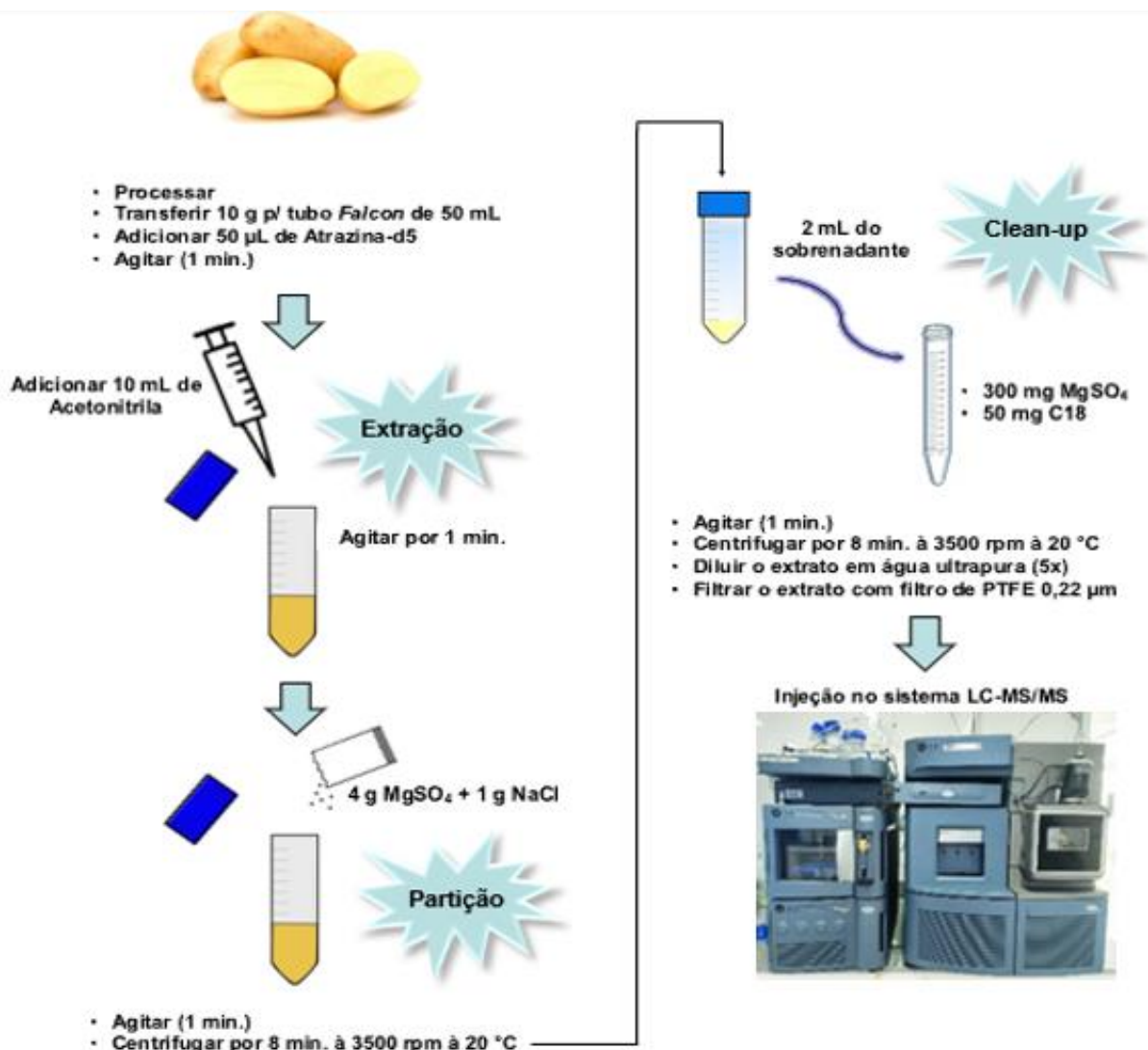


Fonte: O autor (2023).

4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PROPOSTO

A validação do método analítico tem como objetivo comprovar que ele é apropriado à finalidade a que se destina e a capacidade de produzir resultados confiáveis, ou seja, a validação é uma etapa importante para assegurar a qualidade dos resultados analíticos, garantindo a confiabilidade, rastreabilidade, precisão e confiabilidade (ANVISA, 2017). O método proposto foi testado para 102 compostos, dos quais 82 apresentaram resultados satisfatórios para validação. A figura 18 representa o esquema do método QuEChERS otimizado e validado para determinação de resíduos de agrotóxicos em batatas.

Figura 18 - Método QuEChERS otimizado para determinação de resíduos de agrotóxicos em batata por LC-MS/MS.



Fonte: O autor, 2023.

O método validado consiste em pesar 10 g da amostra de batata, onde são adicionados 50 µL de padrão de controle e na sequência, adicionado 10 mL de acetonitrila. Entre a adição de padrão de controle e acetonitrila agita-se a amostra manualmente por 1 minuto. Em seguida, os sais de extração (4 g de MgSO₄ e 1 g de NaCl) são adicionados e novamente é realizada uma agitação manual por 1 minuto com posterior centrifugação (8 min, 2140g a 20 °C). Após a extração, ocorre a etapa de limpeza (*clean-up*), onde 1 mL do extrato sobrenadante é adicionado a uma mistura de sorventes contendo 150 mg de MgSO₄ e 25 mg de C18, com agitação por 1 minuto em vortex e centrifugação (8 min, 2140 g a 20 °C), o extrato de batata é diluído 5 vezes em água ultrapura e filtrado (filtros de nylon de 13 mm e porosidade de 0,2 µm), então, realizada a análise por UHPLC-MS/MS.

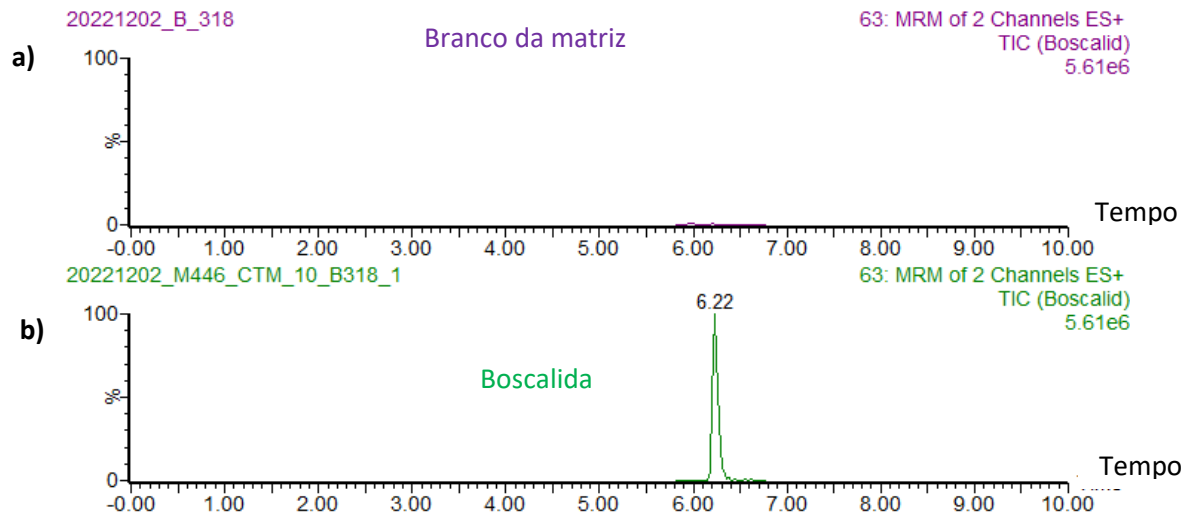
Desta maneira, avaliou-se os parâmetros de validação do método analítico para os 82 agrotóxicos em estudo para os seguintes critérios: seletividade, faixa de trabalho, efeito matriz, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão (repetibilidade e precisão intermediária).

4.3.1 Seletividade

Para garantir a seletividade do método, comparou-se os cromatogramas do extrato “branco” da matriz da batata e da solução analítica no extrato da matriz, na concentração de 10 µg L⁻¹, feita a análise, não foi verificada a presença de interferentes no mesmo tempo de retenção dos agrotóxicos selecionados. Desta forma, pode-se assegurar a seletividade do método proposto.

A Figura 20 apresenta os cromatogramas obtidos por UHPLC-MS/MS para a amostra “branco” da batata e da solução analítica no extrato da matriz para o composto boscalida, na concentração de 10 µg L⁻¹. Nota-se que não há presença de interferentes no mesmo tempo de retenção (t_R 6,22 min) do agrotóxico.

Figura 19 - Cromatograma TIC composto boscalida, obtido para a) “branco” da amostra de batata, b) solução analítica no extrato da matriz e na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$, obtidos por UHPLC-MS/MS.



Fonte: O autor (2023).

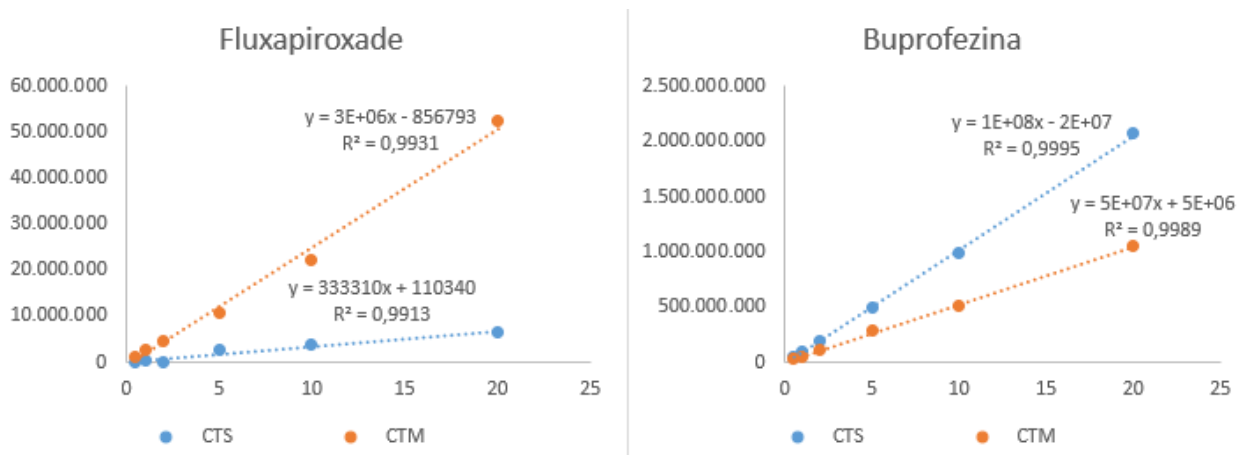
4.3.2 Linearidade

A avaliação da linearidade foi realizada por meio da curva analítica. Para isso, preparou-se curva analítica em solvente (acetonitrila) e no extrato branco da matriz. Nesta etapa, avaliou-se seis níveis de concentração, em triplicata, sendo eles: 0,5, 1, 2, 5, 10 e $20 \mu\text{g L}^{-1}$. A partir da área de cada compostos apresentada pela análise cromatográfica, obtem-se o coeficiente de determinação (r^2). A linearidade foi considerada satisfatória para os compostos que apresentaram de $r^2 \geq 0,990$, como pode ser observado na Tabela 17.

4.3.3 Efeito matriz

Comparando os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas no solvente (acetonitrila) e no extrato da amostra “branco” de batata obteve-se o efeito matriz. Avaliou-se a faixa de concentração de 0,5 a $20 \mu\text{g L}^{-1}$. Através das curvas analíticas na matriz e no solvente de extração, conforme figura 20, quando comparado o coeficiente angular destas, para o composto buprofezina, que apresentou efeito matriz de -48,9%, nota-se que o coeficiente angular do solvente é maior do que na matriz. Quando não há presença de interferência na matriz, as áreas dos pontos da curva no solvente são maiores.

Figura 20 - Gráfico representativo do efeito matriz ao comparar as curvas em solvente (acetonitrila) e na matriz (batata), para os compostos buprofezina e fluxapiroxade.



Fonte: O autor (2023).

Para compostos como fluxapiroxade, que apresentou efeito matriz de 551,9%, o coeficiente angular da matriz é superior ao coeficiente angular do solvente, isso ocorre devido à maior quantidade de coextrativos na fase orgânica. A presença de coextrativos provoca o aumento da resposta analítica, razão pela qual optou-se em preparar as curvas analíticas no extrato da matriz para a quantificação dos analitos. A Tabela 17 apresenta os resultados que a matriz exerce sobre o sinal analítico.

4.3.4 Limite de detecção e de quantificação

Na Tabela 17 pode-se observar os valores de LOQ e LOD apresentados pelo método. Estes valores são considerados satisfatórios para o método desenvolvido e validado, pois os valores de LOQ obtidos na validação do método proposto estão abaixo dos limites estabelecidos para a cultura da batata, tanto pela ANVISA, como pela EU e Codex Alimentarius.

4.3.5 Exatidão e precisão

Para avaliar a exatidão do método realizaram-se ensaios de recuperação dos compostos selecionados nos níveis de fortificação 10, 25 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, os ensaios foram realizados em 7 replicatas. Na Tabela 16 mostra detalhadamente os resultados obtidos em cada nível de fortificação. Após avaliar a precisão do método, no intervalo de 4 dias, avaliou-se a precisão intermediária em relação ao primeiro teste.

Tabela 16 - Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em batata por QuEChERS e UHPLC-MS/MS desenvolvido neste trabalho.

(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)			
					10	25	50	10	25	50	
1	Acefato*	10	3	0,9982	70 (19)	91 (10)	90 (5)	70 (7)	74 (7)	83 (2)	6,8
2	Acetamiprido*	10	3	0,9997	101 (3)	104 (3)	102 (4)	100 (1)	93 (4)	98 (3)	21,4
3	Acibenzolar-S-metil*	25	7,5	0,9996	95 (19)	102 (9)	98 (12)	99 (30)	90 (6)	86 (8)	2,4
4	Ametria	10	3	0,9985	96 (8)	94 (4)	92 (4)	97 (3)	89 (4)	93 (4)	16,6
5	Atrazina	10	3	0,9983	91 (7)	91 (2)	91 (3)	98 (5)	89 (5)	93 (3)	4,6
6	Azoxistrobina*	10	3	0,9992	101 (3)	100 (4)	98 (3)	102 (3)	93 (5)	99 (3)	28,2
7	Benalaxil*	10	3	0,9993	107 (5)	102 (5)	98 (4)	102 (5)	93 (4)	98 (4)	-31,1
8	Boscalida*	10	3	0,9992	109 (7)	106 (3)	101 (5)	94 (7)	89 (5)	97 (4)	-35,6
9	Bromoconazol*	10	3	0,9998	99 (14)	101 (4)	95 (5)	97 (8)	88 (7)	95 (1)	-21,6
10	Buprofezina	10	3	0,9989	98 (8)	85 (6)	88 (11)	87 (8)	93 (6)	102 (5)	-48,9
11	Carbaril*	10	3	0,9998	100 (17)	107 (4)	100 (16)	92 (11)	92 (6)	90 (8)	96,7
12	Carbendazim	10	3	0,9981	100 (4)	104 (4)	104 (5)	96 (2)	87 (6)	96 (5)	6,7
13	Carboxina*	10	3	0,9999	92 (10)	97 (3)	93 (5)	96 (2)	91 (4)	91 (5)	16,4
14	Ciantraniliprole	25	7,5	0,9998	70 (30)	102 (15)	89 (12)	96 (12)	92 (12)	91 (4)	60,6
15	Clotianidina	10	3	1,0000	101 (13)	108 (4)	101 (9)	99 (11)	92 (8)	95 (6)	49,4
16	Clomazone*	10	3	0,9993	102 (4)	98 (2)	99 (4)	100 (5)	91 (3)	97 (3)	25,8
17	Cletodim*	10	3	0,9994	98 (8)	97 (6)	102 (4)	107 (7)	105 (3)	107 (7)	-8,7
18	Clorantiraniliprole	10	3	0,9992	105 (7)	103(7)	99 (5)	92 (14)	90 (3)	94 (4)	13,6
19	Clorpirifós*	50	15	0,9949	106 (56)	107 (17)	110 (9)	77 (21)	77 (21)	117 (10)	-67,2
20	Clorpirifós-metil	10	3	0,9975	98 (18)	94 (17)	98 (9)	114 (17)	98 (10)	116 (6)	-39
21	Ciprodinil	25	7,5	0,9977	116 (39)	101 (17)	106 (11)	103 (6)	102 (8)	111 (14)	-67,4
22	Ciazofamida	10	3	0,9996	107 (6)	105 (4)	104 (4)	103 (5)	96 (6)	102 (3)	-16,1

Tabela 16 – Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em batata por QuEChERS e UHPLC-MS/MS desenvolvido neste trabalho.

(continuação)

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)			
					10	25	50	10	25	50	
23	Difenoconazol	10	3	0,9991	97 (9)	96 (6)	98 (6)	105 (7)	100 (3)	101 (2)	-11,8
24	Dimoxostrobina	10	3	0,9996	110 (5)	105 (5)	101 (3)	104 (5)	96 (4)	104 (3)	-12,9
25	Dimetomorfe	10	3	0,9999	100 (7)	99 (6)	91 (7)	95 (6)	88 (9)	97 (6)	28,8
26	Dinotefuram	10	3	0,9984	96 (7)	98 (6)	96 (6)	102 (4)	90 (5)	95 (1)	23,8
27	Diuron	10	3	1,0000	101 (4)	102 (3)	100 (4)	96 (4)	93 (4)	101 (3)	-16,7
28	Espiromesifen	10	3	0,9995	109 (17)	100 (31)	86 (41)	114 (13)	89 (8)	139 (15)	-66,6
29	Etefon*	10	3	0,9998	102 (6)	96 (4)	99 (3)	101 (4)	96 (3)	103 (3)	-24,9
30	Etoprofos	10	3	0,9956	100 (4)	94 (3)	95 (4)	102 (3)	87 (5)	93 (3)	11,8
31	Fenbuconazol	10	3	0,9974	119 (8)	113 (14)	119 (6)	112 (14)	106 (7)	107 (6)	-13,2
32	Fenamidona*	25	7,5	0,9988	106 (22)	112 (13)	109 (13)	129 (6)	96 (8)	94 (7)	-21,1
33	Fenamifós	25	7,5	0,9987	80 (25)	95 (15)	100 (12)	102 (11)	96 (7)	109 (12)	-71,6
34	Fenpiroximato	50	15	0,9976	103 (25)	98 (17)	105 (19)	105 (19)	112 (52)	160 (17)	-72,4
35	Fipronil*	10	3	0,9928	106 (11)	91 (9)	89 (8)	103 (13)	90 (6)	88 (7)	63,6
36	Fluopiram*	10	3	0,9998	104 (3)	105 (4)	101 (2)	99 (1)	91 (4)	100 (3)	-17,5
37	Fluopicolida	10	3	0,9998	108 (5)	93 (18)	90 (18)	91 (7)	82 (7)	103 (14)	-48,5
38	Fluquiconazol	25	7,5	0,9999	105 (19)	101 (7)	94 (8)	88 (22)	84 (12)	97 (8)	-11,1
39	Flutolanil*	10	3	0,9997	109 (11)	98 (9)	91 (9)	98 (4)	89 (5)	98 (3)	-14,9
40	Flutriafol*	10	3	0,9999	95 (5)	98 (5)	95 (2)	97 (7)	91 (3)	92 (3)	38,9
41	Fluxaproxade	50	15	0,9931	105 (25)	98 (18)	102 (20)	110 (31)	83 (22)	76 (14)	551,9
42	Formetanato	50	15	0,9965	79 (31)	87 (27)	101 (3)	88 (12)	85 (5)	76 (19)	-10,7
43	Fostiazato	10	3	0,9996	101 (4)	103 (3)	101 (3)	101 (2)	93 (4)	98 (3)	17,5
44	Imidacloprido*	10	3	0,9999	108 (10)	106 (5)	108 (4)	102 (4)	97 (7)	102 (5)	76,7

Tabela 16 – Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em batata por QuEChERS e UHPLC-MS/MS desenvolvido neste trabalho.

(continuação)

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)			
					10	25	50	10	25	50	
45	Indoxacarbe*	10	3	0,9999	108 (10)	99 (10)	97 (8)	114 (11)	115 (8)	115 (7)	-8,3
46	Iprovalecarbe	10	3	0,9982	105 (3)	102 (5)	99 (4)	103 (4)	93 (4)	96 (2)	23,8
47	Isoxaflutol*	10	3	0,9967	95 (18)	116 (6)	100 (14)	83 (17)	91 (10)	94 (15)	102,7
48	kresoxim-metil*	25	7,5	0,9996	109 (16)	103 (12)	100 (19)	99 (24)	82 (20)	95 (18)	0,9
49	Linuron*	10	3	1,0000	109 (13)	104 (3)	100 (4)	90 (16)	88 (8)	93 (7)	23,0
50	Mandipropamida*	10	3	0,9980	98 (11)	102 (2)	100 (3)	99 (10)	92 (6)	98 (11)	-24,5
51	Metalaxil*	10	3	0,9994	101 (5)	99 (3)	99 (4)	98 (5)	93 (5)	98 (3)	24,0
52	Metribuzin*	10	3	0,9994	108 (12)	106 (6)	111 (7)	106 (12)	101 (6)	100 (2)	-5,3
53	Metconazol*	10	3	1,0000	94 (15)	94 (11)	90 (8)	90 (9)	80 (4)	90 (5)	-2,8
54	Methidathional	10	3	0,9997	102 (8)	101 (4)	101 (6)	100 (9)	90 (5)	99 (6)	5,6
55	Metomil*	10	3	0,9964	99 (7)	95 (5)	92 (6)	103 (6)	94 (6)	91 (4)	31,6
56	Mefosfolam	10	3	0,9999	109 (4)	103 (3)	102 (3)	101 (2)	96 (4)	101 (2)	-21,4
57	Metsulfuron metil	10	3	1,0000	108 (5)	98 (7)	95 (4)	102 (2)	110 (5)	107 (5)	70,8
58	Monocrotofós	10	3	0,9979	98 (5)	97 (4)	94 (5)	98 (3)	86 (5)	88 (2)	24,3
59	Miclobutanil*	10	3	0,9999	98 (10)	102 (6)	100 (4)	89 (6)	89 (5)	96 (5)	-21,6
60	Monolinuron	10	3	0,9995	98 (6)	99 (3)	98 (2)	99 (2)	93 (5)	95 (1)	20,2
61	Pencicrom*	10	3	0,9997	104 (5)	95 (2)	98 (6)	92 (4)	91 (2)	100 (4)	-47,7
62	Penoxsulam	10	3	0,9997	102 (7)	100 (4)	96 (4)	101 (3)	96 (5)	98 (4)	161,7
63	Picoxistrobina*	10	3	0,9999	108 (6)	106 (5)	108 (3)	104 (8)	95 (8)	105 (2)	-64,7
64	Piraclostrobina*	10	3	0,9995	108 (6)	92 (8)	92 (8)	89 (10)	88 (2)	98 (1)	-42,8
65	Pirimetanil*	10	3	0,9994	100 (12)	97 (3)	97 (3)	100 (3)	85 (4)	93 (3)	11,7
66	Piriproxifeno	10	3	0,9999	106 (14)	90 (8)	92 (13)	104 (9)	101 (5)	128 (4)	-72,7
67	Profenofos*	10	3	0,9998	101 (9)	102 (3)	100 (4)	97 (5)	91 (4)	94 (4)	-20,4

Tabela 16 – Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em batata por QuEChERS e UHPLC-MS/MS desenvolvido neste trabalho.

(continuação)

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)			
					10	25	50	10	25	50	
68	Propamocarbe*	10	3	0,9953	82 (7)	83 (5)	78 (10)	88 (5)	75 (5)	78 (7)	13,8
69	Propiconazol	10	3	0,9999	97 (6)	97 (6)	92 (3)	93 (6)	84 (3)	91 (2)	-2,0
70	Propoxur	10	3	0,9996	105 (8)	97 (5)	98 (3)	108 (2)	100 (1)	98 (5)	9,9
71	Quizalofope-p-etil*	25	7,5	0,9998	60 (13)	71 (6)	50 (14)	77 (5)	83 (4)	43 (21)	-34,8
72	Saflufenacil*	10	3	0,9998	104 (6)	107 (3)	104 (4)	102 (4)	97 (4)	101 (3)	68,2
73	Simazina	10	3	0,9999	100 (7)	100 (4)	99 (3)	103 (2)	93 (2)	97 (3)	17,0
74	Tebuconazol*	25	7,5	0,9985	105 (41)	106 (10)	100 (5)	97 (6)	100 (3)	101 (5)	-36,5
75	Tetraconazol*	10	3	0,9932	103 (7)	107 (4)	106 (3)	99 (5)	93 (4)	97 (2)	-15,9
76	Tiabendazol*	10	3	0,9978	79 (9)	84 (9)	85 (17)	91 (8)	76 (9)	83 (3)	-20,1
77	Tiacloprido*	10	3	0,9998	102 (4)	103 (3)	101 (3)	99 (1)	91 (4)	95 (2)	52,2
78	Tiamethoxam*	10	3	0,9994	96 (7)	100 (4)	98 (5)	94 (6)	91 (5)	97(4)	21,8
79	Triazofós	10	3	0,9991	105 (4)	100 (4)	98 (3)	98 (2)	90 (3)	95 (2)	9,4
80	Trifloxistrobina*	10	3	0,9997	97 (4)	97 (5)	99 (3)	101 (4)	95 (3)	100 (4)	-26,2
81	Triflumurom	50	15	0,9991	90 (30)	84 (23)	101 (9)	78 (32)	75 (21)	89 (17)	-35,3
82	Zoxamida*	10	3	0,9998	100 (6)	98 (7)	93 (2)	87 (8)	82 (5)	89 (2)	-34,7

Fonte: O autor, 2023. Legenda: LOQ: Limite de Quantificação; LOD: Limite de Detecção; r^2 : Coeficiente de Determinação; EM(%): Efeito Matriz; RSD: Desvio Padrão Relativo; *Agrotóxicos Permitidos para a Cultura da Batata no Brasil.

4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS COMERCIAIS

O método foi aplicado em 17 amostras de batata branca e 17 amostras de batata rosa. As amostras foram obtidas em mercados de cidades localizadas nos estados: Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Rio de Janeiro. De acordo com as Tabelas 17 e 18, de 17 amostras de batata rosa, 10 apresentaram resíduos de agrotóxicos, já entre as 17 amostras de batata branca, 16 apresentaram resíduo de agrotóxicos. Observa-se que as maiores concentrações de resíduos são encontrados nas amostras de batata branca. Para as amostras de batata branca, os compostos encontrados em maior concentração foram: acefato, fipronil, flutolanil, imidacloprido e tiametoxam.

Tabela 17 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de batata branca (tubérculo integral) , empregando o método validado neste trabalho.

Agrotóxicos	Concentração nas amostras (mg kg ⁻¹) dos agrotóxicos detectados																
	AT1	AT2	AT3	AT4	AT5	AT6	AT7	AT8	AT9	AT10	AT11	AT12	AT13	AT14	AT15	AT16	AT17
Acefato	n.d.	0,0597	n.d.	0,0298	n.d.	<LOQ	n.d.	0,0101	n.d.	n.d.	0,0293	n.d.	0,0153	0,0229	n.d.	0,0196	n.d.
Atrazina	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	0,0149	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0127	0,0163
Fipronil	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	0,0259	n.d.	n.d.	0,0152	<LOQ	<LOQ
Fluopiram	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0428	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ
Fluopicolida	n.d.	<LOQ	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.
Flutolanil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0202	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Imidacloprido	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0100	n.d.	0,0101	n.d.	0,0428	n.d.	0,0379	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metalaxil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.
Propamocarbe	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ
Tiametoxam	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	0,0222	n.d.	<LOQ	0,0164	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.

Fonte: O autor (2023). Legenda= AT: Amostra batata branca (integral); n.d.: não detectado.

Tabela 18 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de batata rosa (tubérculo integral) empregando o método validado neste trabalho.

Agrotóxicos	Concentração nas amostras (mg kg ⁻¹) dos agrotóxicos detectados																
	BT1	BT2	BT3	BT4	BT5	BT6	BT7	BT8	BT9	BT10	BT11	BT12	BT13	BT14	BT15	BT16	BT17
Acefato	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0987	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0826	0,0571	0,0324	n.d.	n.d.	n.d.	0,0327	0,0393
Atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	0,0238	n.d.
Clotianidina	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.
Clorpirifós	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.
Dimetomorfe	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0109	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.
Fipronil	n.d.	n.d.	n.d.	0,0185	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.
Fluopicolida	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.
Fluxapiroxade	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Imidacloprido	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	0,0165	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.
Propamocarbe	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.
Tiametoxam	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.

Fonte: O autor (2023). Legenda= BT: Amostra batata rosa (integral); n.d.: não detectado.

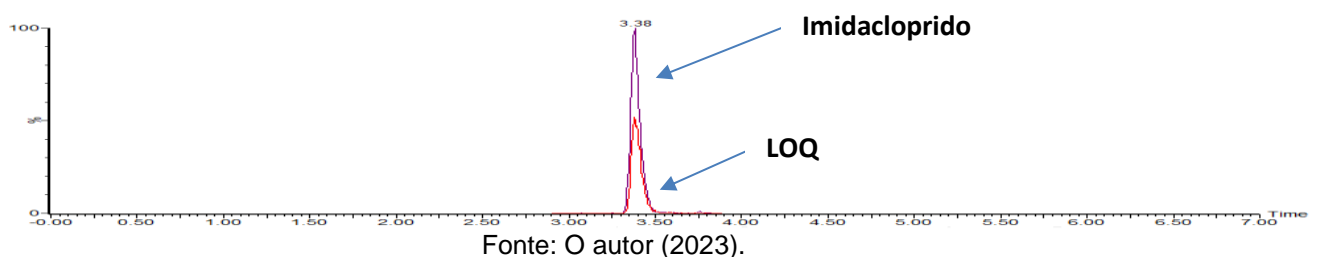
O acefato é um inseticida e acaricida, com ação sistêmica, que pertence ao grupo dos organofosforados, empregado no combate de insetos em plantações, dentre os compostos em estudo foi o que apresentou maior concentração nas amostras reais com valores abaixo dos estabelecidos pela ANVISA. Este agrotóxico foi detectado em cinco das amostras analisadas, numa faixa de concentração 0,0101 mg kg⁻¹ a 0,0987 mg kg⁻¹, com maiores concentrações em batata rosa.

O inseticida e cupinicida fipronil foi detectado e quantificado em 6 amostras de batata branca, numa faixa de concentração de <LOQ a 0,0259 mg kg⁻¹. Já nas amostras de batata rosa esse número passa para 5, com faixa de concentração de <LOQ a 0,0185 mg kg⁻¹.

O imidacloprido é outro inseticida, com ação sistêmica, encontrado em grandes quantidades nas amostras analisadas, numa faixa de Concentração de <LOQ a 0,0428 mg kg⁻¹, cuja maior concentração é encontrada em amostras de batata branca. Para o fungicida propamocarbe a faixa de concentração encontrada foi de <LOQ a 0,0266 mg kg⁻¹, a maior concentração desse composto foi encontrada em batatas brancas. O inseticida tiometaxam também foi encontrado em maior concentração em batatas brancas, com faixa de concentração de <LOQ a 0,0222 mg kg⁻¹.

Nas amostras das batatas rosa, os compostos encontrados em concentrações mais elevadas foram: acefato, atrazina, dimetomorfe, fipronil e imidacloprido. A atrazina é um herbicida, com ação sistêmica, pertencente ao grupo das triazinas, o qual não é autorizado para a cultura da batata, porém foi um dos compostos encontrado na maioria das amostras, a faixa de concentração <LOQ a 0,0238 mg kg⁻¹, as concentrações mais elevadas são percebidas nas amostras de batata rosa. A Figura 21 apresenta o cromatograma comparativo do sinal analítico da amostra de batata contaminada com imidacloprido e o LOQ do mesmo para o método desenvolvido.

Figura 21 – Cromatograma TIC comparativo entre a amostra A12 contaminada com resíduo de imidacloprido (0,0329 mg kg⁻¹) e uma fortificação no seu LOQ (0,01 mg kg⁻¹).



Outros agrotóxicos também foram detectados, mas em concentrações baixas ou abaixo do LOQ do método. A Tabela 19 apresenta os resultados resumidos, nesta encontra-se o número de amostras em que cada um dos compostos foi encontrado, faixa de concentração, o LOQ e os LMRs de cada um dos agrotóxicos.

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

Agrotóxicos	Número de amostras		Concentração encontrada amostra	Concentração encontrada amostra	ANVISA (mg kg ⁻¹)	UE (mg kg ⁻¹)	Codex Alimentarius (mg kg ⁻¹)
	Batata Branca	Batata Rosa	(mg kg ⁻¹) Batata Branca	(mg kg ⁻¹) Batata Rosa			
Acefato	8	6	0,0101 a 0,0597	0,0324 a 0,0987	0,2	0,01	-
Atrazina	6	5	<LOQ a 0,0163	<LOQ a 0,0238	-	-	-
Clotianidina	n.d.	1	n.d.	<LOQ	-	-	-
Clorpirifós	0	1	n.d.	<LOQ	1,00	-	-
Dimetomorfe	0	2	n.d.	<LOQ a 0,0109	0,2	0,05	0,05
Fipronil	8	5	<LOQ a 0,0152	<LOQ a 0,0185	0,05	0,005	0,02
Fluopiram	2	n.d.	<LOQ a 0,0428	n.d.	0,10	0,08	0,15
Fluopicolida	2	1	<LOQ	<LOQ	0,10	0,03	-
Flutolanil	2	0	0,0202	n.d.	0,03	0,1	-
Fluxaproxade	0	2	n.d.	<LOQ	0,03	-	-
Imidacloprido	4	4	<LOQ a 0,0428	<LOQ a 0,0165	0,05	0,01	-
Metalaxil	4	0	<LOQ	n.d.	0,05	0,02	0,05
Propamocarbe	6	1	<LOQ	<LOQ	0,5	0,3	0,3
Tiametoxam	5	1	<LOQ a 0,0222	<LOQ	0,02	-	-

Fonte: O autor, 2023, ANVISA (2022a); EU (2022); FAO (2022). Legenda: LOQ: Limite de Quantificação; n.d.: não detectado.

Os resíduos de agrotóxicos tendem a se depositar nas cascas das culturas e se transferir para as polpas em processos de longo prazo e causar algum risco a saúde humana, portanto a determinação de multirresíduos, bem como a análise comparativa da mobilidade destes em diferentes partes da cultura, é de extrema importância para a saúde humana (MATSADIQA *et. al*, 2010).

Considerando que a casca da batata é comestível e que muitas pessoas fazem chips ou torram para consumir como suplemento alimentar, estas foram separadas da polpa e foram analisadas separadamente para avaliar a diferença da concentração entre a casca e polpa. Apenas algumas amostras representativas foram

avaliadas. Os resultados podem ser comparados na Tabela 20, a concentração está expressa em mg kg^{-1} . Na tabela 20, quando comparado os níveis de concentração de resíduos de agrotóxicos entre tubérculo, polpa e casca, pode-se perceber que as concentrações encontradas nas cascas são próximas ou superiores aos limites máximos de resíduos estabelecidos pela ANVISA. Ao comparar o resultado da amostra da batata integral AT8 com o resultado da parte que corresponde a casca (AC8) e polpa (AP8), analisadas individualmente, na Tabela 20, nota-se que o composto fipronil concentra-se na casca, parte onde sua concentração pode ser até quatro vezes maior. Já na amostra AT5 a concentração encontrada para o fipronil foi $< \text{LOQ} = 0,01 \text{ mg kg}^{-1}$, enquanto na casa esse valor passa para $0,0456 \text{ mg kg}^{-1}$, esta diferença exorbitante se dá pelo fato do fipronil não proporcionar ação sistêmica, além da baixa solubilidade apresentada pelo composto na Tabela 10.

Vários fatores podem afetar o mecanismo de migração e distribuição de agrotóxicos da casca para a polpa, dos quais incluem as propriedades físico-químicas das casca, a quantidade de enzimas metabolizadoras da planta, as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos como coeficiente de partição octanol/água, constante de dissociação ácido/base, peso molecular e solubilidade em água, tempo de contato entre o agrotóxico e a matriz, condições climáticas e capacidade de resistir a degradação (SHIMSHONI *et al.*, 2019, HENDAWI *et al.*, 2013; TOMER *et al.*, 2013).

O acefato, por exemplo, é um agrotóxico sistêmico, ou seja, circula por todo o tecido da planta através da seiva, porém o principal mecanismo de degradação deste é aeróbico, produzindo metamidofós que é outro agrotóxico também com ação sistêmica, porém com toxicidade superior à do acefato, capaz de provocar danos ainda maiores à saúde humana. Outro subproduto do acefato é o fungicida clorotalonil, porém não possui ação sistêmica. O pH elevado é outro fator que também pode levar a formação desses subprodutos (CETESP-SP, 2020). A degradação do acefato é oportuno para explicar como degradação dos compostos diante da ação de fatores químicos e físicos podem influenciar na migração ou distribuição de alguns compostos da casca para a polpa de frutos, tubérculos e raízes.

Tabela 20 - Resíduos de agrotóxicos encontrados nas amostras de casca, polpa e tubérculo, empregando o método válido neste trabalho.

Agrotóxicos	Concentração nas amostras (mg kg ⁻¹) dos agrotóxicos detectados														
	AT5	AP5	AC5	AT7	AP7	AC7	AT8	AP8	AC8	AT10	AP10	AC10	BT5	BP5	BC5
Acefato	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0101	0,0175	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	0,0987	0,0982	0,0955
Atrazina	n.d.	n.d.	n.d.	0,149	0,0135	0,0274	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
Clotianidina	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.	<LOQ
Clorpirifós	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Fipronil	<LOQ	<LOQ	0,0456	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	<LOQ	0,0178	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ
Fluopiram	0,0428	0,0425	0,0777	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Flutolanil	<LOQ	n.d.	0,0829	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,0202	<LOQ	0,0276	n.d.	n.d.	n.d.
Imidacloprido	n.d.	n.d.	n.d.	0,0421	0,0418	0,0461	0,0101	0,010	0,0139	0,0428	0,0218	0,0522	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.	n.d.
Tiametoxam	<LOQ	0,0134	<LOQ	0,0222	0,0267	0,0214	n.d.	n.d.	n.d.	0,0164	0,0161	0,0117	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Fonte: O autor (2023). Legenda= AT: Amostra batata branca; BT: Amostra batata rosa AP: Amostra Polpa batata branca; AC: Amostra Casca batata branca; BP: Amostra Polpa batata rosa; BC: Amostra Casca batata rosa; LOQ: Limite de Quantificação; n.d.: não detectado.

Na Tabela 20, nota-se que o tiametoxam e o acefato encontram-se em maior concentração na polpa, enquanto a concentração dos demais se concentram na casca.

O tiametoxam é um inseticida sistêmico, ou seja, tem capacidade de ser absorvido e transportado pelas partes da planta e redistribuído em quantidades maiores (TORRES, 2009). Conforme Ghidui (2013) a afinidade de um composto entre o solo e a água é medida por $\log K_{oc}$ (Coeficiente de sorção referenciados ao carbono orgânico). Ainda, para Ghidui (2013), a umidade no solo facilita a ligação entre os colóides presentes no solo e os materiais com maior $\log K_{oc}$ e assim são liberados de uma forma mais lenta afetando a disponibilidade para absorção pelas raízes, portanto, os compostos com maior solubilidade entram nas raízes das plantas com maior facilidade em relação aos compostos de baixa solubilidade, mas isso ocorre somente com compostos sistêmicos quando o solo possui umidade suficientes para solubilizar os compostos e permitir que as raízes absorvam rapidamente esses compostos.

Para Torres e Rigitano (2012), os inseticidas polares, com coeficiente de partição entre octanol e água ($\log K_{ow}$) abaixo de zero são transportados via floema para folhas novas, caule e raízes. O tiametoxam, composto polar, apresenta $\log K_{ow}$ igual a -0,13 (ANTUNESKENYON e KENNEDY, 2001), seu transporte é via floema, características que esclarecem sua concentração na polpa do tubérculo. O imidacloprido é outro inseticida sistêmico, porém sua absorção via floema é dificultada, visto que este composto apresenta $\log K_{ow}$ igual a 0,76. Em suma, os compostos sistêmicos capazes de apresentar maior concentração na polpa, devem exibir coeficiente de partição entre octanol e água ($\log K_{ow}$) abaixo de zero, além de serem resistentes as possíveis degradações que podem ocorrer quando expostos ao meio.

5 CONCLUSÕES

O preparo de amostra usando a extração QuEChERS original com uma etapa de limpeza usando o sorvente C18 é muito simples e eficaz para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em batata, e também em casca e polpa separadamente, usando UHPLC-MS/MS com sistema triplo quadrupolo no modo SRM. Os parâmetros de validação provaram que o método é adequado para a análise de 82 agrotóxicos em amostras de batata, proporcionando boa linearidade ($r^2 > 0,990$), exatidão (recuperações entre 70 e 120%) e precisão ($RSD \leq 20\%$), com valores LOQ do método variando de 0,01 a 0,05 mg kg⁻¹.

O método validado foi aplicado em 34 amostras de batata branca e batata rosa, das quais 26 apresentaram resíduos de um ou mais agrotóxicos. A batata branca foi a que apresentou maior quantidade de agrotóxicos, com 16 amostras com resíduos de 17 amostras analisadas. A batata rosa apresentou 10 amostras com resíduos dentre as 17 analisadas. Dentre os compostos detectados, apenas a atrazina e clotianidina não são autorizados no Brasil para a cultura da batata. Quando comparados os níveis de concentração de resíduos de agrotóxicos entre tubérculo, polpa e casca, pode-se perceber que as concentrações encontradas nas cascas são próximas ou superiores aos limites máximos de resíduos estabelecidos pela ANVISA, indicando a importância da determinação de resíduos de agrotóxicos em diferentes partes do tubérculo, uma vez que o consumo pode ser integral ou apenas por partes como casca e polpa. A partir da validação e aplicação do método, pode-se concluir que o método é adequado para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em batata e pode ser aplicado em análises de rotina.

6 DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS GERADOS NO LABORATÓRIO

Os resíduos gerados durante a realização deste trabalho foram separados, identificados e encaminhados ao almoxarifado do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria. Os resíduos são encaminhados para uma empresa terceirizada, a qual realiza o tratamento e descarte adequado.

7 REFERÊNCIAS

AGA, D. S., LENCZEWSKI, M., SNOW, D., MUURINEN, J., SALLACH, J. B., WALLACE, J. S. Challenges in the Measurement of Antibiotics and in Evaluating Their Impacts in Agroecosystems: A Critical Review. **Journal of Environmental Quality**, p. 407-419, 2016.

AHMADKHANIHA, R. *et al.* Quantification of endogenous steroids in human urine by gas chromatography mass spectrometry using a surrogate analyte approach. **Journal of Chromatography B**, v. 875, p. 845-856, 2010.

AL-NASIR *et al.* Determination of pesticide residues in selected citrus fruits and vegetables cultivated in the Jordan Valley. **LWT - Food Science and Technology**, v. 123, p. 109005, 2020.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 86, nº 2, p.412-431, 2003.

ANASTASSIADES, M.; SCHERBAUM, E.; TASDELEN, B.; STAJNBAHER, D. Crop protection, public health, environmental safety. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, p.439-458, 2007.

ANTUNES-KENYON, S.E.; KENNEDY, G. Tiametoxam: a new active ingredient review. **Massachusetts: Massachusetts Pesticide Bureau**, p. 37, 2001.

ANVISA, 2017. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>. Acesso em: 24 de ago. 2022.

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: 03 out. 2022.

ARIAS, J. L. de 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.

ATLAS-Socioeconômico do Rio Grande do Sul. Disponível em: https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/batata-doce-e-batata-inglesa?fbclid=IwAR3RGEytWALn7m4ntatzrMzIAOFpp2CBTM_Y6kA2HojOLndvKI9kEbz54w#:~:text=Entre%20os%20munic%C3%ADpios%20do%20Estado,%2C2%20mil%20toneladas%2Fano. Acessado em: 18 abr. 2022.

BARCHANSKA, H., DANEK, M., SAJDAK, M., TUREK, M. Review of Sample Preparation Techniques for the Analysis of Selected Classes of Pesticides in Plant Matrices. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, p. 1-25, 2018.

BARCI, P. E. P. **DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM NÓZ-PECÃ EMPREGANDO MÉTODO QuEChERS MODIFICADO E LC-MS/MS.** 2019. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019.

BORGES, K.B; FIGUEIREDO, E.C.; QUEIROZ, " M.C.(Org). **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**, capítulo 24, 1ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA. **Regularização de Produtos – Agrotóxicos: Monografias de Agrotóxicos. Brasília, 2019.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-deagrotoxicos>>. Acesso em: 8 mai. 2022.

BRASIL. **Decreto nº 10.833, de 07 de outubro de 2021.** Brasília, 2021. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2021/d10833.htm>. Acesso em: 29 mai. 2022.

BRASIL, 2011. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.** Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica: Fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 72p.

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, 2008.

BUSZEWSKI, B.; SZULTKA, M. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 42, p. 198-213, 2012.

CABRERA, L. C. C. et al. Extração em Fase Sólida Dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 277, 2012.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p.1604-1617, 2011.

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.

CASTRICINI, A. et al. Pyrethroid insecticide residue in 'Grande Naine' banana peel and pulp during maturation. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 68-73, 2019.

CETESP-SP. **Acefato**. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2020/07/Acefato.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2023.

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, p. 623-636, 2008.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudos de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica em chama. **Química Nova**, v. 24, p. 374, 2001.

CODEX ALIMENTARIUS, 2018: Glossary of Terms: Pesticides. **Food and Agriculture Organization of the United States**. Disponível em: [:<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/pesticides/es/>](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/themes/pesticides/es/). Acesso em: 5 maio. 2022.

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

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de Cromatografia, 2 ed, Unicamp, cap: 8 e 9, 2006.

DEY, T.; ROY, S. G.; COOKE, D. E. L.; COOKE, L. R. The dynamics of Phytophthora infestans populations in the major potato-growing regions of Asia – A review. **WILEY**, 2021.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS. Disponível em: https://www.embrapa.br/hortalicas/batata/colheita-e-pos-colheita?fbclid=IwAR3UNHwZ8GKoFIBZcfQBHH_TpZADV2nPUr423o4ZV0ToPRIX-9mHcO91to. Acessado em: 15 abr. 2022.

FACHI, M. M., LEONART, L. P., CERQUEIRA, L. B., PONTES, F. L. D., CAMPOS, M. L. de PONTAROLO, R. A systematic and critical review on bioanalytical method validation using the example of simultaneous quantitation of antidiabetic agents in blood. **Journal of Chromatography B**, v. 1055-1056, p. 61-71, 2017.

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/>](https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/about/understanding-the-context/en/). Acesso em: 10 nov. 2022.

FIGUEIREDO, P. G.; TANAMATI, F. Y.; MARTINS, D.; BICUDO, S. J.; CURCELLI, F. CULTIVARES, QUALIDADE DE TUBÉRCULOS E COMERCIALIZAÇÃO DA BATATA NO BRASIL. **REVISTA RAÍZES AMIDOS TROPICAIS**. V. 7, p. 42-52, 2011.

FUREY, A., MORYART, M., BANE, V., KINSELLA, B. LEHANE, M. Ion suppression; A critical review on causes, evaluation, prevention and applications. **Talanta**, p. 104-122, 2013.

GALDÓN, B. R.; MESA, D. R.; RODRÍGUEZ, E. M. R.; ROMERO, C. D. Amino acid content in traditional potato cultivars from the Canary Islands. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 148–153, 2010.

GARCIA, E. L.; CARMO, E. L. PÁDUA, J. G.; LEONEL, M. Potencialidade de processamento industrial de cultivares de batatas. **FITOTECNIA**, V. 45, p.1742-1747, 2015.

GANDÓN, B. R.; RODRÍGUEZ, L. H.; MESA, D. R.; LEÓN, H. L.; PÉREZ, N. L.; RODRÍGUEZ, E. M. R.; ROMERO, C. D. Differentiation of potato cultivars experimentally cultivated based on their chemical composition and by applying linear discriminant analysis. **SciVerse ScienceDirect**, v. 133, p. 1241-1248, 2012.

GAO, B.; HUANG, W.; XUE, X.; HU, Y.; HUANG, Y. WANG, L.; DING, S.; CUI, S. Comprehensive Environmental Assessment of Potato as Staple Food Policy in China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2019.

GAO, J. *et al.* A highly sensitive method for simultaneous determination of the quaternary ammonium pesticides chlormequat and mepiquat in pears and potatoes by modified QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **RSC Advances**, v. 5, p.5895-5903, 2015.

GHIDIU, G. M. Efeito da chuva simulada no controle do besouro da batata do Colorado (Coleoptera: (Homoptera: Cicadellidae) com At-Plant Chrysomelidae) e cigarrinha da batata Aplicações de Imidacloprid, Thiamethoxam ou Dinotefuran em Batatas em Laboratório e Ensaios de Campo. **Access Books**, 2013.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á., SOCAS-RODRIGUÉZ, B., HERRERA-HERRERA, A. V., GONZÁLEZ-SÁLAMO, J., HERNÁNDEZ-BORGES, J., RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A. Evolution and applications of the QuEChERS method. **Trends in Analytical Chemistry**, p 1-39, 2015.

GOSETTI, F. *et al.*, Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. A**, v. 1217, p. 2929-2933, 2010.

GROSS, J. H. Mass spectrometry. A textbook. **Springer**, 1ª edição, p.415-478, 2004.

HAAN, S.; RODRIGUES, F. Advances in Potato Chemistry and Technolog. 2016, p. 1-32.

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.

HENDAWI, M. Y.; ROMEH, A. A.; MEKKY, T. M. Effect of food processing on residue of imidacloprid in strawberry fruits. **Journal of Agricultural Science and Technology**. v. 15, n. 5, p. 951-959, 2013.

HONG, Z.; FEN, X.; YU, W, HONG-HAI, H.; XIAO-FENG, D. Progress of potato staple food research and industry development in China. **ScienceDirect**, v.16, p. 2924–2932, 2017.

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.

IERNA, A.; PARISINI, B. Crop growth and tuber yield of “early” potato crop under organic and conventional farming. **SciVerse ScienceDirect**, v.165, p.260-265, 2014.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. Disponível em:<
<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10233?fbclid=IwAR0wf5fKvUuCDdkQOoYNkin0lg3jIKXRXCzbddSkie74ohfZz8EAe-C1sQ0&ano=2020>>. Acesso em: 15 abr. 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.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, rev. 7, 2018.

KIM, L.; BAEK, S.; SON, K.; KIM, E; NOH, H.H.; KIM, D.; OH, M.S.; MOON, B.C.; RO, J.H. Optimization of a simplified and effective analytical method of pesticide residues in mealworms (*Tenebrio molitor* Larvae) combined with GC–MS/MS and LC–MS/MS. **Molecules**. v. 25, n. 15, 2020.

KRUBE, A., REBANE, R., KIPPER, K., OLDEKOP, M-L., EVARD, H., HERODES, K., RAVIO, P., LEITO, I. Tutorial review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: Part I. **Analytica Chimica Acta**, v. 870, p. 29-44, 2015a.

KRUBE, A., REBANE, R., KIPPER, K., OLDEKOP, M-L., EVARD, H., HERODES, K., RAVIO, P., LEITO, I. Tutorial review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: Part II. **Analytica Chimica Acta**, v. 870, p. 8-28, 2015b.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v.1, p. 35-61, 2009.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**, v.5 (1), p. 27-46, 2013.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos: Editora RiMa, 2004, pag. 62.

LEANDRO, C. C.; HANCOCK, P.; FUSSELL, R. J.; KEELY, B. J. Ultra-performance liquid chromatography for the determination of pesticide residues in foods by tandem

quadrupole mass spectrometry with polarity switching. **JOURNAL OF CHROMATOGRAPHYA**, v.1144, n. 2, p. 161-169, 2007.

LEHOTAY, S.J.; MASTOVSKÁ, K.; LIGHTFIELD, A. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.88, p.615-630, 2005.

LEHOTAY, S. J.; SON, K. A.; KWON, H.; KOESUKWIWAT, U.; FU, W.; MASTOVSKA, K.; HOH, E.; LEEPIPATPIBOON, N. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v.1217, p.2548–2560, 2010.

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

MARTINS, M. L. **Determinação de resíduos de compostos orgânicos em água por micro extração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e GC-(TQ)MS/MS**. 2010. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

MATSADIQA, G. *et. al.* Quantification of multi-residue levels in peach juices, pulps and peels using dispersive liquid–liquid microextraction based on floating organic droplet coupled with gas chromatography-electron capture detection. **Journal of Chromatography B**. v. 819, p2113-2118, 2010.

MEIRA, A. P. G. Técnicas de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal: uma revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 22 (2): p. 766-777, 2015.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. G.; Polyphenol Oxidases: Biochemical and Molecular Characterization, Distribution, Role and its Control. **Enzyme Engineering**. v. 5, n. 1, p. 141-149, 2016.

MOREIRA, B. J. *et al.* Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. **Scientia Chromatographica**, v. 6, p. 186-204, 2014.

MORAIS, E. H. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Pesticide determination in sweet peppers using QuEChERS and LC–MS/MS. **Food Chemistry**, v. 249, p. 77-83, 2018.

MUNARETTO, J. S. **Determinação de disruptores endócrinos em filé de peixe utilizando QuEChERS modificado e GC-(TQ)MS/MS**. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

NAIK, R. H. *et al.* Simultaneous determination of pesticide residues in pomegranate whole fruit and arils using LC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 387, p. 132865, 2022.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLD, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para determinação de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, v. 31, p. 1190-1198, 2008.

PAZ, M. *et al.* Validation of QuEChERS method for organochlorine pesticides analysis in tamarind (*Tamarindus indica*) products: peel, fruit and commercial pul. **ScienceDirect Journals**. v. 54, p.374-382, 2015.

PAVKOVICH, A. M.; BELL, D. S. QuEChERS. **Encyclopedia of Analytical Science**, v.3, p.1- 6, 2018.

PÉREZ, L. C. G.; ESTÉVEZ, M. A.; PERIAGO, E. L.; GONZÁLEZ, B. S.; GRANDE, B. C.; GÁNDARA, J. S. Dynamics of Pesticides in Potato Crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 1797-1803, 2006.

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

PRESTES, D. P.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: Possibilidades e tendências no preparo de amostras para a determinação de multirresíduos de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 3, p. 51-64, 2011.

PRESTES, D. P.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de agrotóxicos em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, p. 1620-1624, 2009.

PINHO, G. P. *et al.* Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, p. 987-998, 2009.

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.

QUIANG, L.; HONGBING, L.; ZHANGA, L.; SUIQ, Z.; YINGLONG, C. Mulching improves yield and water-use efficiency of potato cropping in China: A meta-analysis. **Field Crops Research**, v. 221, p. 50-60, 2018.

RASCHE, C.; FOURNES, B.; DIRKS, U.; SPEER, K. Multi-residue pesticide analysis (gas chromatography–tandem mass spectrometry detection) - Improvement of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method for dried fruits and fat-rich cereals -Benefit and limit of a standardized apple purée calibration (screening). **Journal of Chromatography A**, v. 1403, p.21–31, 2015.

REIS, D.; SILVA, P.; PERESTRELO, R.; CÂMARA, J. Residue Analysis of Insecticides in Potatoes by QuEChERS-dSPE/UHPLC-PDA. **FOODS**, V. 9 (8): p. 1000, 2020.

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.

ROZET, E. *et al.* Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, p. 111-125, 2007.

SAMPAIO, S. L. *et al.* Potato peels as sources of functional compounds for the food industry: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 103, p.118-129, 2020.

SANTE 12682/2019. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. **European Commission**, p.1-49, 2020.

SANTOS, E. O. **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS UTILIZANDO AREIA COMO SUPORTE SÓLIDO NA MSPD PARA EXTRAÇÃO MULTICLASSES DE AGROTÓXICOS POR GC-MS E LC-MS/MS EM FRUTAS E HORTALIÇAS**. 2017. 162 f. Tese (Doutorado em Química Tecnológica e Ambiental) - Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2017.

SENES, C.E.R.; NICÁCIO, A.E.; RODRIGUES, C.A.; MANIN, L.P.; MALDANER, L.; VISENTAINER, J.V. Evaluation of Dispersive Solid-Phase Extraction (d-SPE) as a Clean-up Step for Phenolic Compound Determination of *Myrciaria cauliflora* Peel. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 155-165, 2020.

SHIMSHONI, J. A. *et al.*, Residual Distribution Kinetics of Pesticides in Cherry Tomato Peel, Pulp, and Fruit as a Function of Irrigation Water Salinity, Household Rinsing, and Storage Regimen. **Agronomy**. v. 9, p. 800, 2019.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. GC-MS: Más de um analizador de massas, ¿para qué? **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 25-33, 2010.

TACO, 2011. Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos. Composição de alimentos por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, minerais, vitaminas e colesterol. **Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP**. Disponível em: http://www.cfn.org.br/wpcontent/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisa_da.pdf. Acesso em: 11 mai. 2022.

TANKIEWICZ, M., BERG, A. Improvement of the QuEChERS method coupled with GC–MS/MS for the determination of pesticide residues in fresh fruit and vegetables. **Microchemical Journal**. v. 181, p. 107794, 2022.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. (IUPAC Technical Report). **Pure Appl. Chem.**, v. 74, p. 835-843, 2002.

TIAN, F. *et al.* Development of a fast multi-residue method for the determination of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in cereals, vegetables and fruits by modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 1152, p. 122261, 2020.

TOMER, V.; SANGHA, J. K. Vegetable Processing At Household Level: Effective Tool Against Pesticide Residue Exposure. **Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology**. v. 6, n. 2, p 43-53, 2013.

TORRES, F. Z. V. *et al.* OCORRÊNCIA DE TIAMETOXAM EM FOLHAS E FRUTOS DE CAFEIRO (*Coffea arabica* L.) APÓS APLICAÇÃO NA MODALIDADE DE ESGUICHO NO SOLO. **Coffee Science**, v. 5, n. 2, p. 148-153, 2009.

TORRES, F. Z. V., RIGITANO, R. L. de O. TRANSLOCAÇÃO DO INSETICIDA TIAMETOXAM NO FLOEMA DE MAMONEIRAS, UTILIZADAS COMO PLANTAS-MODELO. **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**. v. 22, p.51-64, 2012.

TSIPI, D.; BOTITSI, H.; ECONOMOU, A. Pesticide chemistry and risk assessment. Mass Spectrometry for the Analysis of Pesticide Residues and Their Metabolites, 1ª edição, John Wiley & Sons, 2015.

VAITKEVICIENE, N. A comparative study on proximate and mineral composition of coloured potato peel and flesh. **Research Article**. v. 99, p. 6227-6233, 2019.

VÉKEY, K., Mass spectrometry and mass selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 921, p. 227-236, 2001.

ZANELLA, R.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; MARTINS, M. L. QuEChERS. In: BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C (Org.). Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos, 1a ed., Rio de Janeiro: **LTC**, 2015a, p. 230-244.

WANG, N.; REIDSMA, P.; PRONK, A. A.; WIT, A. J. W.; ITTERSUM, M. K. Can potato add to China's food self-sufficiency? The scope for increasing potato production in China. **SciVerse ScienceDirect**, v. 101, p. 20-29, 2018.

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

WANG, J.; GONG, Z.; ZHANG, T.; FENG, S.; WANG, J.; ZHANG, Y. Simultaneous determination of 106 pesticides in nuts by LC–MS/MS using freeze-out combined with dispersive solid-phase extraction purification. **Journal of Separation Science**, v. 40, p.2398- 2405, 2017.

YAMASHITA, M. G. N. Análise de rótulos e bulas de agrotóxicos segundo dados exigidos pela legislação federal de agrotóxicos e afins e de acordo com parâmetros de legibilidade tipográfica. 2008 Dissertação (Mestrado em Desenho Industrial) - Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2008.