



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

**Magali Kemmerich**

**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMEIXA, MAÇÃ,  
PERA E PÊSSEGO: DESENVOLVIMENTO DE  
MÉTODOS DE ANÁLISE E MONITORAMENTO**

**Santa Maria – RS, Brasil**

**2017**

**Magali Kemmerich**

**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMEIXA, MAÇÃ, PERA E PÊSSEGO:  
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE E MONITORAMENTO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de pós-graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Ciências**.

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria - RS, Brasil

2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

KEMMERICH, MAGALI  
RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMEIXA, MAÇÃ, PERA E  
PÊSSEGO: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE E  
MONITORAMENTO / MAGALI KEMMERICH.- 2017.  
140 p.; 30 cm

Orientador: RENATO ZANELLA  
Coorientadora: MARTHA B. ADAIME  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Química, RS, 2017

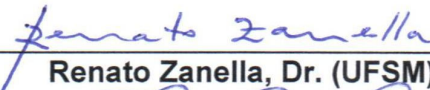
1. QuEChERS 2. MSPD 3. agrotóxicos 4. UHPLC-MS/MS 5.  
frutas I. ZANELLA, RENATO II. ADAIME, MARTHA B. III.  
Título.

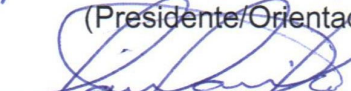
**Magali Kemmerich**

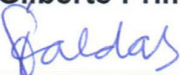
**RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMEIXA, MAÇÃ, PERA E PÊSSEGO:  
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE E MONITORAMENTO**

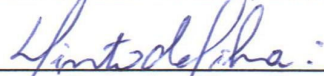
Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de pós-graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Química**.

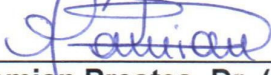
Aprovada em 06 de fevereiro de 2017:

  
\_\_\_\_\_  
**Renato Zanella, Dr. (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
**Ednei Gilberto Primel, Dr. (FURG)**

  
\_\_\_\_\_  
**Sergiane Souza Caldas, Dra. (FURG)**

  
\_\_\_\_\_  
**Gustavo Pinto da Silva, Dr. (UFSM)**

  
\_\_\_\_\_  
**Osmar Damian Prestes, Dr. (UFSM)**

Santa Maria - RS, Brasil

2017

*Dedico este trabalho à todos os colegas,  
amigos e familiares que sempre me apoiaram.  
Em especial aos meus pais, Odete e Jairo.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella, pela orientação no mestrado e doutorado e pela oportunidade que recebi para participar do grupo do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), tornando-se um grande aprendizado. Não poderia ter uma formação melhor. Obrigada pela confiança!

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Martha B. Adaime, pelo apoio na realização do trabalho desde o mestrado, além do carinho que sempre recebi. Obrigada pelo incentivo!

À banca de qualificação composta também pelos professores Dr. Fábio F. Gonçalves, Dr. Manoel L. Martins e Dr. Osmar D. Prestes e pelo pesquisador Dr. Gustavo M. Teló, agradeço às colaborações para melhor desenvolvimento deste trabalho, que foram fundamentais para obtenção dos resultados apresentados nesta tese.

À banca de defesa da tese, professores Dr. Gustavo P. da Silva, Dr. Ednei G. Primel, Dra. Sergiane S. Caldas e Dr. Osmar D. Prestes, pela disponibilidade, dedicação e por suas excelentes contribuições, as quais ajudaram a engrandecer este trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da UFSM, pelos ensinamentos no decorrer do curso e aos secretários do PPGQ, Ademir e Valéria, pela simpatia e atenção sempre prestados.

Principalmente aos professores Dr. Renato Zanella, Dr. Osmar D. Prestes e Dr. Manoel L. Martins, por todo conhecimento repassado nos anos de convivência de laboratório, sugestões e questionamentos, por me instigarem a repensar meus conceitos e propor novas soluções à ciência.

Agradeço à Superintendência no RS do MAPA foram realizadas coletas de amostras de maçã, pera, pêssigo e ameixa de origem importada que ingressam no Brasil pela cidade de São Borja/RS. Aos fiscais Leandro L. Kroth, Rosana Zanatta, Camilo Santini e demais envolvidos na coleta e transporte das amostras. Seu apoio engrandeceu este trabalho, contribuindo para gerar informações importantes para a

segurança alimentar no país. Obrigada pela confiança e atenção ao longo deste processo.

Aos meus colegas, integrantes do LARP que se propuseram a me ajudar no decorrer do desenvolvimento do trabalho: Marisa Demarco, pelas discussões e execução de inúmeros testes; Gabriel C. dos Santos e Brian Rodriguez, pela extração das 100 amostras de monitoramento; Tiele M. Rizzetti e Maiara P. de Souza, pela disponibilidade de injetar as amostras quando foi necessário; e, especialmente, Gabrieli Bernardi, pelas inúmeras discussões, revisão de texto, paciência e carinho, que a tornaram uma grande amiga além de colega.

Agradeço, aos demais colegas que ao longo de 6 anos contribuíram para minha formação profissional e também pessoal, em especial Filipe F. Donato, Janice F. Facco, Lucila C. Ribeiro, Nathália Saibt, Nelson M. G. Bandeira e Pimperelli Jonco, por se tornarem meus amigos o longo desta jornada. Também, aos ex-colegas de laboratório com quem tive as primeiras noções de cromatografia e preparo de amostra e por quem tenho muito carinho, em especial Débora Orso e Caroline do A. Friggi.

Aos meus demais amigos, que apesar de estarem tão longe nunca saem dos meus pensamentos e me dão a certeza de que apesar dos dias ruins, os bons valem a espera.

Aos meus pais, a quem nunca terei palavras para agradecer o suficiente. Muito obrigada pelos anos de apoio e compreensão, por sonharem comigo e entenderem minha ausência em momentos importantes. Aos meus demais familiares, que torcem e me incentivam, vocês também moram no meu coração.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro fornecido e pela bolsa de desenvolvimento tecnológico industrial.

## RESUMO

### RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMEIXA, MAÇÃ, PERA E PÊSSEGO: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE E MONITORAMENTO

Autora: Magali Kemmerich  
Orientador: Renato Zanella

Nos últimos anos, o uso indiscriminado de agrotóxicos e a não adoção das boas práticas agrícolas têm sido evidenciados pelos resultados de análises de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar dois métodos para determinação de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssigo, com análise por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). No desenvolvimento do método QuEChERS, diferentes condições da limpeza do extrato foram testadas. Nos resultados de validação, o intervalo linear do método foi de 5 a 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , com recuperações entre 70 e 120% e  $\text{RSD} \leq 20\%$ . O limite de quantificação prático (LOQ) para 161 compostos foi de 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . No desenvolvimento da técnica MSPD foram testados diferentes sorventes (C18, florisil<sup>®</sup>, PSA, alumina, amino, sílica, quitosana, Oasis<sup>®</sup> HLB, Strata<sup>™</sup>-X e fase fluorada) como suporte sólido em diferentes proporções com a amostra. A homogeneização foi realizada com auxílio de esferas metálicas e a extração com acetonitrila e ultrassom. Os resultados de exatidão e precisão obtidos por MSPD foram adequados para resíduos de 131 agrotóxicos, com resultados de recuperação entre 70 e 120%, with  $\text{RSD} \leq 20\%$ . Os compostos estudados apresentaram LOQ prático de 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Na análise de 100 amostras das frutas estudadas, foram quantificados resíduos de diferentes agrotóxicos em concentrações entre  $<\text{LOQ}$  e 2.334,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

**Palavras-chave:** QuEChERS, MSPD, preparo de amostra, UHPLC-MS/MS, agrotóxicos, frutas



**ABSTRACT****PESTICIDES RESIDUES IN PLUM, APPLE, PEAR AND PEACH: DEVELOPMENT OF ANALYTICAL METHODS AND MONITORING**

Author: Magali Kemmerich

Advisor: Renato Zanella

In recent years, the indiscriminate use of pesticides and a lack of adoption of good agricultural practices have been evidenced by the results of analyzes of residues of pesticides in food. Thus, the goal of this work was to develop and validate two methods for determination of pesticide residues in plum, apple, pear and peach, with analysis by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). In the development of the QuEChERS method, different conditions of the extract clean-up were tested. In the validation results, the linear range of the method was 5 to 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  with recoveries were between 70 and 120% and RSD  $\leq 20\%$ . The practical limit of quantification (LOQ) for 161 compounds was 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . In MSPD optimization, different sorbents (C18, florisil<sup>®</sup>, PSA, alumina, amino, silica, chitosan, Oasis<sup>®</sup> HLB, Strata<sup>TM</sup>-X and fluoridated) were tested as solid support in different proportions with the sample. The homogenization was carried out with metallic spheres and extraction with acetonitrile and ultrasound. Accuracy and precision results obtained by MSPD were adequate for 131 pesticides residues studied, with recovery results ranging between 70 and 120%, with RSD  $\leq 20\%$ . The studied compounds presented practical LOQ of 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . In the analysis of 100 samples of the studied fruits, different pesticides residues were found in concentrations ranging from <LOQ to 2.334,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

**Keywords:** QuEChERS, MSPD, sample preparation, UHPLC-MS/MS, pesticides, fruits

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da técnica de MSPD apresentada por Barker e colaboradores em 1989.....	40
Figura 2 – Esquema do procedimento QuEChERS proposto e validado neste estudo para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas.....	62
Figura 3 – Esquema do procedimento MSPD proposto e validado neste estudo para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas.....	63
Figura 4 – Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS a partir de soluções preparadas no extrato da matriz de pera na concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ . ....	69
Figura 5 – Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS do composto dimetoato, obtidos da análise de A) solução padrão em solvente ( $20 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e dos extratos “branco” de B) ameixa, C) maçã, D) pera e E) pêsego.....	71
Figura 6 – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e $\text{RSD} \leq 20\%$ , obtidos para os primeiros testes multirresíduo avaliados.	72
Figura 7 – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e $\text{RSD} \leq 20\%$ , obtidos para os testes de limpeza do método QuEChERS acetato modificado. ....	73
Figura 8 – Cromatograma de íon total (TIC) obtido por UHPLC-MS/MS, para os compostos acetamiprido e carbendazim preparados em branco de pera ( $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e diluídas em água nas proporções A) 1:9, B) 1:4 e C) 1:1 (v/v).....	74
Figura 9 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e $\text{RSD} \leq 20\%$ , obtidos para os testes com MSPD (solventes de extração). ....	75
Figura 10 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e $\text{RSD} \leq 20\%$ , obtidos para os testes com MSPD (solvente e tubo PP).	76
Figura 11 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e $\text{RSD} \leq 20\%$ , obtidos para os testes com MSPD (homogeneização). ....	77

Figura 12 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD $\leq$ 20%, obtidos para os testes com MSPD (ultrassom).....	77
Figura 13 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD $\leq$ 20%, obtidos para os testes com MSPD (ultrassom e homogeneização).....	78
Figura 14 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD $\leq$ 20%, obtidos para os testes com MSPD (amostra, sorvente e solvente).....	79
Figura 15 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD $\leq$ 20%, obtidos para os testes com MSPD (tipos de sorventes) .	80
Figura 16 - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD $\leq$ 20%, obtidos para os testes com MSPD (fator de diluição do extrato final).....	81
Figura 17 – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêssego) em relação as matrizes.....	110
Figura 18 – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêssego) em relação aos compostos.....	112
Figura 19 – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêssego) em relação ao país de origem .....	113
Figura 20 – Resultados da análise de amostras reais (maçã) em relação ao mês de coleta.....	115

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos por cromatografia. ....43

Quadro 2 – Parâmetros avaliados na etapa de validação método, com respectivas formas de aplicação, equações (quando aplicável) e critérios de aceitação.....60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição nutricional da ameixa, maçã, pera e pêsego. ....	24
Tabela 2 – Limites máximos de resíduos de agrotóxicos para ameixa, maçã, pera e pêsego.....	27
Tabela 3 – Técnicas de extração utilizadas para determinação de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêsego, que empregam cromatografia líquida ao longo dos anos. ....	37
Tabela 4 – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.....	48
Tabela 5 – Gradiente da fase móvel utilizado para determinação de agrotóxicos em frutas no sistema UHPLC-MS/MS.....	55
Tabela 6 – Relação dos testes preliminares realizados para análise dos compostos selecionados no monitoramento multirresíduo. ....	58
Tabela 7 – Relação dos testes realizados para análise dos compostos selecionados através da dispersão da matriz em fase sólida. ....	59
Tabela 8 – Agrotóxicos analisados por UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI+, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação. ....	65
Tabela 9 – Resultados de validação do método QuEChERS: linearidade (coeficiente de determinação, $r^2$ ), efeito matriz (EM %), limite de quantificação (LOQ), exatidão (recuperação, %) e precisão (RSD, %) para matriz pera. ....	82
Tabela 10 – Resultados de validação para o método QuEChERS para matrizes ameixa, maçã e pêsego: linearidade ( $r^2$ ), efeito matriz (%), exatidão (em termos de recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	87

Tabela 11 – Resultados de validação do método MSPD: linearidade (coeficiente de determinação, $r^2$ ), efeito matriz (EM %), exatidão (recuperação, %) e precisão (RSD, %) para matriz pera.....	96
Tabela 12 – Resultados de validação para o método de MSPD para matrizes ameixa, maçã e pêsego: linearidade ( $r^2$ ), efeito matriz (%), exatidão (em termos de recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	100
Tabela 13 – Comparação dos métodos QuEChERS e MSPD em termos de teste $t$ da análise de amostras reais. ....	107
Tabela 14 – Resultados positivos ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) da aplicação do método QuEChERS validado neste trabalho no monitoramento de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêsego.....	108
Tabela 15 – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêsego) em relação às concentrações.....	112

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	– Ionização à pressão atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i> )
APPI	– Fotoionização à pressão atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Photoionization</i> )
BEH	– Sílica híbrida, do inglês <i>Ethylene Bridged Hybrid</i>
CID	– Dissociação Induzida por Colisão, do inglês <i>Collision-Induced Dissociation</i>
CV	– Coeficiente de Variação
CONSEA	- Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional
DC	– Corrente Direta, do inglês <i>Direct Current</i>
d. i.	– Diâmetro interno
d. p.	– Diâmetro de partícula
d-SPE	– Extração em Fase Sólida Dispersiva, do inglês <i>Dispersive Solid Phase Extraction</i>
ECD	– Detecção por Captura de Elétrons, do inglês <i>Electron Capture Detection</i>
EI	– Ionização por Elétrons, do inglês <i>Electron Ionization</i>
ESI	– Ionização por Eletronebulização, do inglês <i>Electrospray Ionization</i>
FD	– Detecção de Fluorescência, do inglês <i>Fluorescence Detection</i>
FE	– Fase Estacionária
FID	– Detecção por Ionização em Chama, do inglês <i>Flame Ionization Detection</i>
FM	– Fase Móvel
GCB	– Carvão grafificado, 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 em série, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
HAc	– Ácido acético
HCl	– Ácido clorídrico
HPLC	– Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IDA	– Ingestão Diária Aceitável
INMETRO	– Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IUPAC	– União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LARP	– Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas
LC-MS/MS	– Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em série, do inglês <i>Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
LMR	– Limite Máximo de Resíduo
LOD	– Limite de Detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>
LOQ	– Limite de Quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>
m/z	– Razão massa carga
MAPA	– Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MeCN	– Acetonitrila
MgSO <sub>4</sub>	– Sulfato de magnésio anidro
MS	– Espectrometria de Massas, do inglês <i>Mass Spectrometry</i>
MS/MS	– Espectrometria de Massas em série
MSPD	– Dispersão da Matriz em Fase Sólida, do inglês <i>Matrix Solid Phase Dispersion</i>
NaAc	– Acetato de sódio anidro
NaCl	– Cloreto de sódio
OMC	– Organização Mundial do Comércio
p.a.	– Grau para análise
pH	– Potencial Hidrogeniônico
PI	– Padrão Interno
PNCRC	– Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
PSA	– Amina Primária Secundária, do inglês <i>Primary Secondary Amine</i>



q	– Segundo quadrupolo ou cela de colisão
Q1 ou MS1	– Primeiro quadrupolo
Q3 ou MS3	– Terceiro quadrupolo
QIT	– Quadrupolo Armadilha de Íons, do inglês <i>Quadrupole Ion Trap</i>
QqQ	– Triplo Quadrupolo
QqTOF	– Quadrupolo Tempo de Vôo, do inglês <i>Quadrupole Time-of-Flight</i>
QuEChERS	– Rápido, fácil, econômico, robusto e seguro, do inglês <i>Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe</i>
r	– Coeficiente de Correlação
$r^2$	– Coeficiente de Determinação
RF	– Rádio Frequência
RSD	– Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
$RSD_{pi}$	– Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária
$RSD_r$	– Desvio Padrão Relativo para Repetitividade
RSM	– Metodologia de Superfície de Resposta, do inglês <i>Responde Surface Methodology</i>
SANTÉ	– Saúde e Proteção do Consumidor, do francês <i>Santé et protection des consommateurs</i>
SIM	– Monitoramento do Íon Selecionado, do inglês <i>Selected Ion Monitoring</i>
SPE	– Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>
SRM	– Monitoramento Seletivo de Reações, do inglês <i>Selected Reaction Monitoring</i>
TIC	– Cromatograma do Íon Total, do inglês <i>Total Ion Chromatogram</i>
TOF	– Tempo de Vôo, do inglês <i>Quadrupole Time-of-Flight</i>
TPP	– Trifenilfosfato
TQ	– Triplo Quadrupolo
$t_R$	– Tempo de retenção
UE	– União Europeia
UFMS	– Universidade Federal de Santa Maria
UHPLC	– Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência, do inglês <i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>

## ANEXOS

Anexo A – Fórmulas estruturais dos agrotóxicos em estudo.....	130
---	-----

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE FRUTAS DE CLIMA TEMPERADO.....	22
2.2 AGROTÓXICOS .....	25
2.3 RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS.....	26
2.4 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS .....	31
2.4.1 Técnicas cromatográficas para determinação de resíduos de agrotóxicos.....	31
2.4.2 Preparo de amostra para determinação multirresíduo de agrotóxicos.....	35
2.4.3.1 Método QuEChERS.....	38
2.4.3.2 Dispersão da matriz em fase sólida.....	39
2.5 VALIDAÇÃO.....	42
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	44
3.2 REAGENTES, SOLVENTES E DEMAIS MATERIAIS UTILIZADOS .....	45
3.3 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE (OU SUBSTITUIÇÃO) .....	46
3.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS DOS COMPOSTOS SELECIONADOS.....	47
3.5 SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS.....	55
3.5.1 Escolha da fase móvel.....	55
3.5.2 Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS.....	55

3.6 DESENVOLVIMENTO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS .....	56
3.7 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS.....	61
3.7.1 Método QuEChERS acetato modificado validado neste trabalho.....	61
3.7.2 Técnica de MSPD modificada validada neste trabalho.....	62
3.8 MONITORAMENTO.....	63
3.9 COLETA, TRANSPORTE, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	64
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	65
4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS EMPREGADO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS .....	65
4.2 DESENVOLVIMENTO DOS MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS.....	70
4.2.1 Escolha da amostra “branco” .....	70
4.2.2 Resultados dos experimentos.....	71
4.3 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS .....	81
4.3.1 Validação do método QuEChERS modificado.....	81
4.3.2 Validação do método MSPD modificado.....	95
4.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS VALIDADOS .....	106
4.5 MONITORAMENTO.....	107
5 CONCLUSÕES .....	116
6 ENCAMINHAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS.....	117
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	119

## 1 INTRODUÇÃO

A fruticultura está presente em todos os estados brasileiros, envolvendo mais de cinco milhões de pessoas trabalhando de forma direta e indireta no setor (FACHINELLO *et al.*, 2011). Entretanto, o Brasil ainda não é autossuficiente na produção de frutas e necessita da importação de outros países, como Argentina e Chile (COSTA *et al.*, 2017).

A produtividade, por sua vez, está diretamente relacionada com o emprego de agrotóxicos. Os impactos que estas substâncias causam, principalmente à saúde humana, têm sido estudados e divulgados. Há relatos de que a ingestão de resíduos de agrotóxicos pode causar esclerose múltipla, diversos tipos de câncer, entre outras doenças (MARUTESCU; CHIFIRIUC, 2017).

Confiança do consumidor nos alimentos está diretamente ligado à segurança alimentar. Assim, Limites Máximos de Resíduos (LMR) em alimentos são estabelecidos e regulamentados por agências governamentais de diversos países, visando assegurar a segurança do consumidor e a regulamentação do comércio externo (FERMAM; ANTUNES, 2009). No Brasil, o responsável pelo estabelecimento de LMR das culturas é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Desta forma, há uma necessidade crescente de resultados confiáveis e que atendam aos limites estabelecidos pela legislação. Neste sentido, é um dos papéis do químico analítico desenvolver e validar métodos de análise multirresíduo para determinação de agrotóxicos em alimentos.

A maioria dos métodos de preparo de amostra clássicos, como o método de Luke (LUKE *et al.*, 1975), tem como base a instrumentação e demandam analistas treinados. A fim de determinar um grande número de compostos de diferentes classes de maneira simples e eficiente, foram desenvolvidos métodos multirresíduo como o método QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) (ANASTASSIADES *et al.*, 2003) e a técnica por Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD, do inglês *Matrix Solid-Phase Dispersion*) (BARKER *et al.*, 1989).

O emprego da Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (UHPLC) aliada ao acoplamento com a Espectrometria de Massas em série (MS/MS) possibilita

análises mais rápidas e com maior resolução, onde são atingidos limites mais baixos de resíduos nas amostras (MALDANER; JARDIM, 2012).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e validar dois métodos para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêsego, através de análise por UHPLC-MS/MS, sendo um deles, baseado na técnica de MSPD, inovador na área de preparo de amostras para determinação de contaminantes orgânicos. Os objetivos específicos foram (I) testar diferentes tipos de homogeneização, sorventes, solventes, diluições finais e uso de ultrassom na técnica de MSPD, (II) usar diferentes sorventes para limpeza do extrato (obtido com o método QuEChERS) e eliminar a etapa de limpeza, utilizando diferentes fatores de diluição do extrato final, (III) comparar os métodos de extração desenvolvidos e (IV) empregar os métodos desenvolvidos no monitoramento de resíduos de agrotóxicos das frutas em estudo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DE FRUTAS DE CLIMA TEMPERADO

Os frutos podem ser classificados de diferentes formas. Uma destas diz respeito ao clima onde são cultivados, podendo ser divididos em frutos de clima temperado, de clima subtropical e de clima tropical (BARBIERI; VIZZOTTO, 2012):

a) frutos de clima temperado, correspondem a outras 3 subdivisões:

- pomáceas: pera, maçã;
- frutas de caroço: pêssego, damasco, cereja, ameixa, nectarina;
- pequenas frutas ou bagas: framboesa, amora preta, morango, mirtilo, uva.

b) frutos de clima subtropical podem ser dos tipos:

- frutas cítricas: toranja, lima, limão, laranja, mandarinas;
- frutas não cítricas: figo, abacate, kiwi, romã.

c) frutos de clima tropical: abacaxi, mamão, manga, banana, caju, goiaba, sapoti, maracujá.

As frutas de clima temperado correspondem às frutas pomáceas (pera, maçã), frutas de caroço (pêssego, damasco, cereja, ameixa, nectarina) e pequenas frutas ou bagas (framboesa, amora preta, morango, mirtilo, uva) (BARBIERI; VIZZOTTO, 2012).

Quanto à produção de frutas, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com uma produção de 40 milhões de toneladas ao ano. Desta quantidade, 7,5% (3,02 milhões ton) diz respeito à produção de frutas de clima temperado, responsáveis por aproximadamente 37% do valor total das exportações de frutas do País. O Rio Grande do Sul responde por aproximadamente 49,3% do total produzido no País (FACHINELLO *et al.*, 2011).

A fruticultura participa diretamente na economia do País através do valor das exportações e mercado interno, gerando cerca de 5,6 milhões de empregos diretos, o equivalente a 27% do total da mão de obra agrícola do País. As frutas mais produzidas são, em ordem decrescente, uva, maçã, pêssego, caqui, figo, pera e

marmelo, sendo que o crescimento total no período de 1999-2009 foi de 43,5 % (FACHINELLO *et al.*, 2011).

Mesmo o Brasil sendo o terceiro maior produtor mundial de frutas de clima temperado, com uma produção de 40 milhões ton ao ano, a estagnação da produção frutífera deve-se a falta de cultivares bem adaptados ao clima, sendo comuns problemas fitossanitários (como escaldadura nas folhas e viroses), resultando em produtos de baixa qualidade. Por estes motivos o Brasil ainda não é autossuficiente na produção de frutas como ameixa, maçã, pera e pêsego, sendo abastecido principalmente pelo Chile, Argentina e Portugal (COSTA *et al.*, 2017).

A importação de frutas cresceu nos anos 2000, pelo fortalecimento do mercado consumidor brasileiro, beneficiado pelo aumento do poder aquisitivo da população nos últimos anos, atraindo países exportadores como Argentina e Chile (VIANA; JULIÃO, 2013).

Dentre estas frutas, as principais espécies de ameixa consumidas hoje são a *Prunus doméstica* (do tipo europeia) e a *Prunus salicina Lindl* (cultivares japonesas) (CASTRO, 2005). A teoria mais racional é a que supõe que o centro-oeste da Ásia foi o local de origem das plantas de ameixeira, os primeiros escritos sobre a fruta datam dos anos 23 a 79 da era cristã. No Brasil, a ameixa ocupa a 3ª posição de frutas frescas importadas, provenientes principalmente da Argentina e Espanha (FAOSTAT, 2011).

A maçã pertence à família *Rosaceae*, é cultivada preferencialmente em climas frios. Apesar das maçãs serem vendidas durante o ano todo no Brasil, o período de safra é somente entre janeiro e abril e após esse período, praticamente a maioria das maçãs comercializadas no mercado brasileiro é importada de outros países, como a China (JARDIM; ANDRADE, 2009).

Em 2016, a maçã foi a fruta mais importada pelo Brasil (em volume), foram compradas 155 mil ton, devido aos preços internos elevados, superando a pera, que registrou 146 mil ton (COSTA *et al.*, 2017). Entretanto, a área plantada de maçã no Brasil diminuiu 0,61% de 2015 para 2016 e a previsão é que ocorra queda em 2017 também (COSTA, 2017).

Já a pera (família *Rosaceae*, gênero *Pyrus*) compreende mais de 20 espécies, as mais importantes são a *Pyrus communis L.* e a *Pyrus pyrifolia (Burm) Nak* (EMBRAPA, 2007), e corresponde a fruta com maiores índices de importação







no Brasil, cerca de 50% das frutas importadas no país são peras (VIANA; JULIÃO, 2013).

Neste ramo, o país ainda é um grande importador, cujos principais exportadores são a Argentina, Portugal e USA, sendo responsáveis por 113 (82%), 10 (7%) e 9 (6.5%) mil ton, respectivamente (FAO, 2011). Produtores brasileiros relatam que devido a burocracia, faltam registros de defensivos específicos para aplicação na cultura, e a comercialização é difícil pela competição com frutas internacionais que derrubam os preços das nacionais, inviabilizando o cultivo da fruta (VIANA; JULIÃO, 2013).

Ainda, o pêssego possui baixa produção nacional e quanto às importações, enquanto a Argentina diminui o fornecimento devido ao baixo incentivo governamental, o Chile continua em segundo lugar e a Espanha tem ganhado destaque por fornecer produtos de alta qualidade (cor, tamanho e sabor satisfatórios) (VIANA; JULIÃO, 2013).

A composição nutricional da ameixa, maçã, pera e pêssego é apresentada na Tabela 1. Nota-se que são compostas em sua maior parte por água, cerca de 85%, com baixos valores de energia, proteína, lipídeos e fibras. Quanto aos carboidratos (açúcares e outros), apresentam uma pequena discrepância entre as frutas, sendo a maçã e a pera com maior conteúdo de açúcares.

**Tabela 1 – Composição nutricional da ameixa, maçã, pera e pêssego.**

Nutriente	Valor por 100 g de amostra			
	 Ameixa	 Maçã	 Pera	 Pêssego
<b>Componentes</b>				
Água (g)	87,23	85,56	83,96	88,87
Proteína (g)	0,7	0,26	0,36	0,91
Lipídeos (g)	0,28	0,17	0,14	0,25
Carboidratos (g)	11,42	13,81	15,23	9,54
Fibras (g)	1,4	2,4	3,1	1,5
Açúcares (g)	9,92	10,39	9,75	8,39
Energia (kcal)	46	52	57	39

Fonte: USDA, 2014

## 2.2 AGROTÓXICOS

A legislação brasileira, através do decreto nº 4.074, de 04 de Janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de Julho de 1989, conceitua agrotóxicos como sendo:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 2002).

Podem ser classificados de acordo com seu emprego, quanto à composição química e a toxicidade. Existem agrotóxicos utilizados para combater insetos (inseticidas), plantas daninhas (herbicidas), fungos (fungicidas), ácaros (acaricidas), moluscos (moluscocidas), bactérias (rodenticidas), entre outros (BAIRD, 2002).

Quanto à composição química, os agrotóxicos possuem uma enorme diversidade estrutural, sendo classificados em um mesmo grupo quanto à natureza dos elementos químicos presentes e da maneira como estão arranjados. Algumas das classes incluem organofosforados, carbamatos, organoclorados e piretróides (BARBOSA, 2004).

O processo produtivo agrícola brasileiro está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos. Em 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos (CARNEIRO *et al.*, 2012).

A utilização de agrotóxicos contribui para o aumento na produção, porém há uma preocupação crescente com efeitos adversos causados no ambiente, tais como: contaminação dos recursos hídricos, impactos em organismos não alvos e na saúde humana (PRESTES, 2011).

Segundo o Conselho Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CONSEA, 2012), uma alimentação saudável inclui o acesso a alimentos livres de agrotóxicos e outros resíduos químicos, e a saúde pública deve ser conduzida acima de quaisquer outros interesses de mercado. Por estas razões o setor produtivo deve ser regulado pelo Estado, oferecendo alimentos que respeitem e promovam a

saúde. Assim, entende-se como direito do consumidor à alimentação adequada, livre de agrotóxicos e outros contaminantes, visto que estes têm alto impacto na saúde alimentar e nutricional do ser humano.

### 2.3 RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

Uma importante diferenciação deve ser feita quanto aos termos resíduo e contaminante de alimentos. Segundo a FAO (do inglês *Food and Agricultural Organization*) “resíduo” é a fração de uma substância, seus metabólitos, produtos de conversão ou reação e impurezas que permanecem no alimento proveniente de produtos agrícolas e/ou animais tratados com estas substâncias. Enquanto “contaminante” é qualquer substância que não seja intencionalmente adicionada aos alimentos, como resultado das etapas de produção, transformação, acondicionamento, embalagem, transporte e armazenagem do alimento (CODEX ALIMENTARIUS, 2001).

As deficiências nas boas práticas para a utilização de agrotóxicos incorrem no aparecimento de resíduos que, em níveis acima dos Limites Máximos de Resíduos (LMR), podem representar risco à saúde humana. Estes riscos estão estritamente correlacionados com o desrespeito às instruções de uso do fabricante contidas na bula dos agrotóxicos, como: indicação de uso para a espécie alvo, dosagem, via de administração e período de carência (PRESTES, 2011).

Os Limites Máximos de Resíduos (LMR) são estabelecidos levando em conta valores provenientes de experimentos de campo além da Ingestão Diária Aceitável (IDA), ou seja, a quantidade máxima de resíduos que ingerida diariamente durante toda a vida não oferece risco à saúde, pelos conhecimentos atuais (FERMAM; ANTUNES, 2009). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável pela avaliação do impacto dos agrotóxicos na saúde humana e pelo estabelecimento dos LMR (ANVISA, 2011a).

Os programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos têm por objetivo garantir a segurança e a inocuidade dos alimentos disponibilizados aos consumidores, fortalecendo a capacidade do Governo em atender a segurança alimentar.

Os programas brasileiros são similares aos realizados em outros países, atualmente dois programas de monitoramento de agrotóxicos em alimentos de

origem vegetal estão em curso no Brasil: o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), coordenado pela ANVISA, e o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), coordenado pelo MAPA (ANVISA, 2011b; JARDIM; CALDAS, 2012).

Enquanto o PARA possui enfoque centralizado no consumidor brasileiro, e cujos resultados obtidos pelo programa são utilizados para traçar estratégias a fim de diminuir os riscos advindos da presença dos resíduos não autorizados ou acima dos limites, o PNCRC Vegetal é um programa federal de inspeção e fiscalização que também preocupa-se com os requisitos sanitários internacionais estabelecidos pelo MERCOSUL, CODEX, OMC, e órgãos auxiliares (FAO, OIE, WHO) (ANVISA, 2012a; MAPA, 2011). O Chile também possui um informe anual do “*Programa de monitoreo de residuos de plaguicidas*”.

Entre 2001 e 2010 13.556 amostras, provenientes das 26 Unidades Federadas do Brasil, foram analisadas para resíduos de agrotóxicos. Maçã, mamão, uva e pimentão foram as culturas com a maior porcentagem de amostras positivas (em torno de 80%) para pelo menos um agrotóxico. Ainda, o alto número de amostras com presença multirresíduo de agrotóxicos pode sugerir que os princípios de boas práticas de agricultura não estão sendo respeitados (JARDIM; CALDAS, 2012).

A Tabela 2 apresenta LMRs do Brasil, estabelecidos para maçã pela ANVISA e, também, os limites para os compostos analisados nas matrizes ameixa, maçã, pera e pêsego segundo a União Europeia (EU MRL) e Codex Alimentarius.

**Tabela 2** – Limites máximos de resíduos de agrotóxicos para ameixa, maçã, pera e pêsego

(continua)

Compostos	Limites Máximos de Resíduos (mg kg <sup>-1</sup> )									
	Ameixa		Maçã			Pera		Pêssego		
	EU MRL	Codex	Brasil	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	
Acetamiprido	0,03	0,2	0,1	0,8	P	0,8	P	0,8	0,7	
Ametrina	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Atrazina	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Azaconazole	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Azimsulfurom	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Azinfósetílico	0,02	P	P	0,02	P	0,02	P	0,02	P	
Azinfósmetilico	0,05	2	P	0,05	0,05	0,05	2	0,05	2	

(continuação)

Compostos	Limites Máximos de Resíduos (mg kg <sup>-1</sup> )									
	Ameixa		Maçã			Pera		Pêssego		
	EU MRL	Codex	Brasil	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	
Azoxistrobina	2	P	P	0,01	P	0,01	P	2	P	
Bentazona	0,03	P	P	0,03	P	0,03	P	0,03	P	
Bifentrina	0,2	P	P	0,3	P	0,3	P	0,2	P	
Bispiribaque sódico	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Boscalida	3	P	P	2	2	1,5	P	5	P	
Bromuconazol	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,1	P	
Bupirimato	0,05	P	P	0,2	P	0,2	P	0,3	P	
Buprofenzina	2	2	P	3	3	0,5	6	0,7	9	
Carbaril	0,01	P	2	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Carbendazim (+ Benomil)	0,5	P	5	0,2	P	0,2	P	0,2	2	
Carbofurano (+ 3-OH carbofurano)	0,002	P	P	0,001	P	0,001	P	0,002	P	
Carboxina	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Cianazine	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Ciazofamida	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Cimoxanil	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Ciproconazol	0,05	P	0,4	0,1	P	0,1	P	0,1	P	
Ciprodinil	2	P	1	2	P	2	P	2	P	
Clofentezina	0,2	P	0,1	0,5	P	0,5	P	0,02	P	
Clomazone	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Clorantranilprole	1	P	0,1	0,5	P	0,5	P	1	P	
Clorbromurom	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Clorfenvinfós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Clorimuron-etílico	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Clorpirifós	0,2	0,5	1	0,01	P	0,01	P	0,01	0,5	
Clorpirifós metílico	0,05	P	P	0,5	P	0,5	P	0,5	P	
Clotianidina	0,01	P	P	0,4	P	0,4	P	0,15	P	
Cresoxim metílico	P	P	0,2	P	P	P	P	P	P	
Deltametrina	0,1	P	0,02	0,2	0,2	0,1	P	0,1	0,05	
Demetom sulfona	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Desmedifam	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Diazinona	0,01	0,05	0,5	0,01	P	0,01	P	0,01	0,2	
Diclofluanida	P	P	P	P	5	P	5	P	5	
Diclorvós	0,01	1	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Dicrotofós	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Difenoconazol	0,5	P	0,5	0,8	P	0,8	P	0,5	0,5	
Dimetenamida	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Dimetoato (+ Ometoato)	0,02	0,2	2	0,02	P	0,02	1	0,02	P	
Dimetomorfe	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Dimoxistrobina	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Diniconazole	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Diurom	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Dodemorfe	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Epoxiconazol	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Espinosade A	0,3	P	0,05	0,3	0,1	0,3	P	0,3	P	



(continuação)

Compostos	Limites Máximos de Resíduos (mg kg <sup>-1</sup> )									
	Ameixa		Maçã			Pera		Pêssego		
	EU MRL	Codex	Brasil	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	
Metribuzin	0,1	1	P	0,1	P	0,1	P	0,1	P	
Metsulfurom metílico	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Mevinfós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Monocrotofós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Monolinurom	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Nitempiram	P	2	P	P	P	P	P	P	P	
Nuarimol	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Oxamil	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Oxifluorfem	0,05	P	P	0,1	P	0,1	P	0,1	P	
Paraoxon etílico	0,01	P	P	0,01	0,2	0,01	P	0,01	P	
Parationa	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Parationa metílica	0,01	P	P	0,01	2	0,01	P	0,01	0,3	
Pencicuroom	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Penconazol	0,05	P	P	0,2	P	0,2	P	0,1	P	
Pendimetalina	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Picoxistrobina	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Pimetrozina	0,02	P	P	0,02	P	0,02	P	0,02	P	
Piraclostrobina	0,8	P	2	0,5	0,5	0,5	P	0,3	P	
Pirazofós	0,01	P	0,2	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Pirazosulfurom etílico	P	0,8	P	P	P	P	P	P	P	
Piridabem	0,5	P	0,5	0,5	P	0,5	P	0,5	P	
Piridafentiona	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Piridato	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Pirifenox	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Pirimetaniil	2	P	1	15	P	15	P	10	4	
Pirimicarbe	3	P	P	0,5	P	0,5	P	1,5	P	
Pirimifós etílico	P	2	P	P	P	P	P	P	P	
Pirimifós metílico	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Piriproxifem	0,3	P	0,01	0,2	P	0,2	P	0,5	P	
Procimidona	0,01	P	2	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Profenofós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Prometrina	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Propanil	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Propiconazol	0,01	P	P	0,15	P	0,01	P	5	5	
Propoxur	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Quinalfós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Quinoxifem	0,05	P	P	0,05	P	0,05	P	0,05	P	
Simazina	0,01	P	0,02	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Tebuconazol	1	P	0,1	0,3	1	0,3	1	0,6	2	
Tebufenozide	1	P	0,5	1	P	1	P	0,5	0,5	
Tebufenpirade	0,5	1	P	0,2	P	0,2	P	0,3	P	
Terbutilazina	0,05	P	P	0,1	P	0,1	P	0,05	P	
Tetraconazol	0,05	P	0,4	0,3	P	0,3	P	0,1	P	
Tiabendazol	0,05	P	10	5	P	5	P	0,05	P	

(conclusão)

Compostos	Limites Máximos de Resíduos (mg kg <sup>-1</sup> )									
	Ameixa		Maçã			Pera		Pêssego		
	EU MRL	Codex	Brasil	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	EU MRL	Codex	
Tiacloprido	0,5	P	P	0,3	P	0,3	P	0,5	P	
Tiametoxam	0,01	P	0,02	0,3	P	0,3	P	0,07	P	
Tiobencarbe	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Tiodicarbe	P	P	P	P	P	P	P	P	P	
Tolifluanida	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Triadimefom	0,1	P	0,2	0,2	0,3	0,1	P	0,1	P	
Triadimenol	0,1	P	P	0,2	0,3	0,1	P	0,1	P	
Triazofós	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Triclorfom	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Tridemorfe	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Trifloxistrobina	3	P	0,05	0,7	P	0,7	P	3	P	
Triflumizol	0,1	P	0,05	0,5	P	0,5	P	0,1	P	
Triflumurom	1	P	P	0,5	P	0,5	P	1	P	
Triticonazole	0,01	P	P	0,01	P	0,01	P	0,01	P	
Vamidotiona	P	P	P	P	P	P	P	P	P	

P: proibido, para compostos na permitidos para a cultura ou isentos de estudos; EU: limites máximos de resíduos estabelecidos pela União Europeia (EU MRL); CODEX: limites máximos de resíduos estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*; BRASIL: limites máximos de resíduos estabelecidos pelo MAPA (ANVISA).

## 2.4 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

### 2.4.1 Técnicas cromatográficas para determinação de resíduos de agrotóxicos

Dentre as técnicas para determinação de resíduos de agrotóxicos destacam-se a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida. A Cromatografia Gasosa se baseia na diferente distribuição de substâncias da amostra entre uma fase estacionária e a fase móvel (um gás), sendo esta aplicada a análise de compostos voláteis ou volatilizáveis, que sejam termicamente estáveis (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009).

Como a maioria dos compostos não são suficientemente voláteis para ser analisados por Cromatografia Gasosa, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) tem tido grande destaque. Na HPLC o principal requisito para a análise é a solubilidade dos



compostos na fase móvel (líquida) (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009; HARRIS, 2012).

A HPLC baseia-se na diferente distribuição dos analitos e componentes da matriz por polaridade entre uma fase estacionária e a fase móvel (um líquido). Pode ser do tipo normal, onde a fase estacionária é mais polar que a fase móvel, ou do tipo reversa, onde a fase estacionária é mais apolar. Fazem parte do seu sistema: frascos de fase móvel, bombas, sistema de injeção, coluna cromatográfica, forno da coluna e detector (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2009).

A fim de obter análises com maior resolução e mais rapidez, tem-se usado a Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (UHPLC, do inglês *Ultra-high Performance Liquid Chromatography*). Esta técnica fundamenta-se nos mesmos princípios de separação da HPLC, entretanto emprega colunas cromatográficas com dimensões reduzidas (5-10 cm de comprimento e diâmetros internos de 1-2,1 mm), recheadas com partículas de FE  $\leq 2 \mu\text{m}$ , podendo ser utilizadas altas velocidades lineares de fase móvel (FM) (MALDANER; JARDIM, 2012).

A utilização da UHPLC com alto desempenho requer determinadas modificações, como equipamento capaz de trabalhar a elevadas pressões; sistema de injeção rápido, exato e preciso na faixa de pequenos volumes; volumes internos reduzidos (conexões, alça de amostragem, cela do detector e bombas); detectores com alta taxa de aquisição de dados, colunas e FE apropriadas (MALDANER; JARDIM, 2012).

Entre estas FE, estão as partículas de sílica híbrida de terceira geração produzidas e patenteadas pela Waters, que consistem de partículas de sílica híbrida (*Ethylene Bridged Hybrid*, BEH) incorporadas com uma pequena quantidade de carga na superfície. A coluna que possui esta FE possui uma gama mais ampla de pH utilizável, permitindo uma tecnologia de separação versátil e robusta para o desenvolvimento de métodos analíticos (FEKETE *et al.*, 2014).

Entre as vantagens do sistema UHPLC em relação à HPLC estão o pequeno volume de amostra utilizado; aumento na sensibilidade e eficiência da separação; a facilidade em transferir um método desenvolvido em HPLC para UHPLC; além da possibilidade de analisar um maior número de amostras por unidade de tempo (FEKETE *et al.*, 2014).

Entretanto, devido a redução dos d.i. das tubulações e a diminuição da porosidade dos filtros, suas tubulações e seus filtros da coluna são muito mais

suscetíveis ao entupimento que aquelas empregadas em HPLC. Ainda, o emprego de pressões elevadas pode alterar a ordem de eluição dos compostos, deslocamento ou sobreposição de picos cromatográficos e também gerar gradientes de que influenciam a retenção e eficiência (MALDANER; JARDIM, 2012).

Dentre os detectores que podem ser utilizados na cromatografia gasosa e líquida, de alta e ultra eficiência, a Espectrometria de Massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*) tem se destacado, pela sua versatilidade. A EM torna as análises quantitativas mais confiáveis, pois a identificação do analito é feita através do seu tempo de retenção ( $t_R$ ) característico e também dos íon precursor e íon produto, visto que vários compostos podem apresentar o mesmo  $t_R$  (LANÇAS, 2009).

O princípio básico da Espectrometria de Massas é a geração de íons de compostos orgânicos ou inorgânicos e separação através da sua razão massa/carga ( $m/z$ ), seguida da detecção da respectiva  $m/z$  e abundância. O espectrômetro de massas consiste em uma fonte de íons, um analisador de massas e um detector, sendo que os dois últimos são operados sob condições de alto vácuo. A fonte de íons não necessariamente estará sob vácuo (GROSS, 2004).

Quando se trata do acoplamento da LC com a Espectrometria de Massas (LC/MS, do inglês *Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry*), pode-se utilizar as fontes de eletronebulização (ESI, do inglês *Electrospray Ionization*), ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*) ou ainda fotoionização à pressão atmosférica (APPI, do inglês *Atmospheric Pressure Photoionization*) (LANÇAS, 2009).

Mais comumente utiliza-se a ionização por eletronebulização (ESI), onde a amostra é dissolvida e pressurizada em um tubo capilar de aço inox, ao qual é aplicada uma voltagem tipicamente entre 3.000 e 5.000 V. Como resultado, o líquido emerge do capilar à pressão atmosférica, na forma de um aerossol. A medida que ocorre a dessolvatação, assistida por um fluxo contínuo de gás seco (geralmente  $N_2$ ), o tamanho das gotas é reduzido até que a força de repulsão entre as cargas similares fica maior que as forças de coesão da fase líquida (tensão superficial). Assim ocorre a chamada “explosão coulombica”, que gera gotas com tamanhos equivalentes a 10% do tamanho das gotas a partir das quais se originaram. Uma série de explosões passa então a ocorrer até que são produzidos íons do analito a partir destas gotas, que são transferidos para o interior do espectrômetro de massas por uma série de dispositivos de focalização. Neste processo, apenas a ionização

ocorre à pressão atmosférica, o espectrômetro de massas se encontra sob “vácuo”. É ideal para análise de moléculas mais polares, de maior massa molecular (LANÇAS, 2009; CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

Os analisadores de massas separam íons de acordo com a razão  $m/z$ . A escolha do analisador de massa mais apropriado depende de fatores como: a faixa de massas desejada, a resolução e recurso disponível. Alguns exemplos são: quadrupolo (e triplo quadrupolo), trapeamento de íons (do inglês, *ion trap*), tempo de voo (do inglês *time of flight*) e quadrupolo-tempo de voo.

O analisador de massas tipo quadrupolo (Q) é o mais popular, pela sua simplicidade, preço relativamente baixo, boa faixa linear, facilidade de ser entendido e operado. Ele é composto de quatro barras usualmente de metal, disposta em pares nos quais se aplicam uma corrente contínua do tipo DC (corrente direta) e um potencial RF (rádio frequência) alternante. Os íons produzidos na fonte de ionização são focalizados até o centro da região entre os quatro cilindros e atravessam o quadrupolo axialmente. Suas trajetórias são dependentes do campo elétrico produzido onde apenas íons de determinada  $m/z$  terão essa trajetória estável e chegarão ao detector (LANÇAS, 2009; CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; CORILO, 2009; STASHENKO; MARTÍNEZ, 2010).

O analisador tipo Triplo Quadrupolo (TQ) é constituído por três quadrupolos em série, sendo que o segundo quadrupolo (Q2 ou q) é utilizado como cela de colisão, na qual ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo (Q1 ou MS1), geralmente por dissociação induzida por colisão com um gás inerte (CID, do inglês *collision-induced dissociation*), e também como direcionador dos íons produzidos ao terceiro quadrupolo (Q3 ou MS2). Todos os quadrupolos são controlados para transmitir íons de uma única razão  $m/z$  ou de um intervalo de razões  $m/z$  para gerar informação analítica mais exata (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

Dentre as técnicas de operação para obtenção do espectro de massas em MS/MS, estão varredura completa (do inglês, *Full scan*), Monitoramento do Íon Selecionado (SIM, do inglês *Selected Ion Monitoring*), Varredura do Íon Produto, Varredura do Íon Precursor e Monitoramento Seletivo de Reações (SRM, do inglês *Selected Reaction Monitoring*).

No tipo de varredura completa realiza-se análise da amostra em uma faixa ampla de  $m/z$  e o cromatograma nessa condição é conhecido como “Cromatograma

de Íon Total” (TIC, do inglês *total ion chromatogram*). No modo SIM pode-se escolher um único íon a ser monitorado ou vários íons característicos dos analitos alvo de interesse presentes em uma mistura complexa (STASHENKO; MARTÍNEZ, 2010; GROSS, 2004).

A varredura do íon produto consiste em selecionar um íon precursor de determinada  $m/z$  no Q1, o qual opera em modo SIM, e determinar todos os íons produto resultantes da dissociação induzida por colisão no Q3. Já a varredura do íon precursor consiste na escolha de um íon produto para determinar a origem do mesmo, ou seja, qual o íon precursor que originou este produto. Assim, o Q1 opera no modo *scan* ou varredura, enquanto o Q3 no modo SIM (STASHENKO; MARTÍNEZ, 2010; CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

No modo de varredura SRM é monitorada a fragmentação de um íon precursor selecionado no Q1 e seus correspondentes íons produto que são filtrados em Q3. Este método permite que o equipamento focalize apenas o precursor e o produto, aumentando a sensibilidade para o monitoramento, associado ao aumento na seletividade. Na prática são definidas faixas de tempo para aquisição destes dados, em geral 1 min para cada analito. Quando há um grande número de analitos pode haver uma sobreposição maior dos tempos de aquisição, o que diminui a detectabilidade analítica. Para minimizar este problema, pode-se diminuir a faixa para 0,5 min, por exemplo (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; STASHENKO; MARTÍNEZ, 2010).

#### **2.4.2 Preparo de amostra para determinação multirresíduo de agrotóxicos**

A etapa de preparo de amostra e as operações envolvidas podem afetar o resultado final e, dessa forma, necessita-se de um preparo de amostra adequado para se obter a informação correta na análise. O preparo adequado tende a minimizar o manuseio da amostra, diminuir os níveis de concentração detectados e quantificados, reduzir os resíduos tóxicos gerados, além de fornecerem análises rápidas e com confiabilidade, atendendo a todos os parâmetros de validação (FENIK; TANKIEWICZ; BIZIUK, 2011).

Uma das técnicas que tem sido mais amplamente utilizadas para extração de resíduos e contaminantes em alimentos é o método Luke (LUKE *et al.*, 1975).

Desenvolvido em 1975, o método de Luke consiste em uma etapa de extração de 100 g de amostra utilizando acetona (200 mL), seguida de uma partição líquido-líquido com solventes apolares (éter de petróleo e diclorometano), sendo utilizados 100 mL de cada. A adição de cloreto de sódio (NaCl) na fase aquosa tem objetivo para favorecer a transferência de compostos mais polares para a fase orgânica (LUKE *et al.*, 1975).

Na década de 1980 foi desenvolvido o método Mini-Luke (LUKE *et al.*, 1981), o qual é uma miniaturização do método de extração Luke original. O método consiste na extração de 15 g de frutas ou vegetais já processados, adição de 30 mL de acetona, seguida de agitação em homogeneizador ultraturrax por cerca de 30 s, sendo posteriormente adicionados éter de petróleo (30 mL) e diclorometano (30 mL), agitando-se novamente por cerca de 30 s. Como um método de extração alternativo, desenvolveu-se no VWA uma modificação do método de extração mini-Luke nos anos 90, onde foi adicionado sulfato de sódio anidro na etapa de extração levando, assim, a uma melhor extração dos agrotóxicos polares (LUKE *et al.*, 1981).

Um método de extração à base de acetato de etila também tem sido empregado para análises multirresíduo de agrotóxicos. No processo utiliza-se 2 g de amostra e adição de 4 mL de água previamente à agitação em vortex durante 30 segundos. Após isto, 10 mL de acetato de etila são adicionados e a mistura é agitada à mão por 3 s para garantir o contato do solvente com a matriz. Após esta etapa, 210 mg de GCB, 0,9 g de NaCl e 4,8 g de MgSO<sub>4</sub> são adicionados e a amostra é agitada por 15 min. Os tubos são, então, centrifugados (5 min a 3700 rpm) e uma porção do extrato é evaporada utilizando uma corrente suave de nitrogênio e reconstituída com acetonitrila/água (10:90, v/v) para análise por LC (RAJSKI *et al.*, 2013).

Os laboratórios de referência da União Europeia (EURL, do inglês *European Union Reference Laboratory*) têm realizado a análise de resíduos de agrotóxicos em frutas e legumes com extração de acetato de etila, tanto para cromatografia a gás quanto líquido. O método consiste em pesar em um mesmo tubo 3,0 g de NaHCO<sub>3</sub> e 10 g de amostra. Adiciona-se 10 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 20 mL de acetato de etila, agita-se por 30 s e coloca-se no ultrassom por 3 min a 35 °C. Após a centrifugação (3 min a 3200 g) o extrato é filtrado e injetado no sistema cromatográfico (EURL-FV, 2015).

A maioria destes métodos de preparo de amostra que têm como base a instrumentação e demandam analistas treinados e etapas de limpeza entre

extrações, aumentando o tempo de análise. Além disso, o escopo de analitos que pode ser extraído em determinadas condições é limitado e, sendo assim, estes procedimentos estão distantes de serem considerados ideais para um método multirresíduo (CABRERA *et al.*, 2012).

Em 2003, Anastassiades e colaboradores introduziram o método QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged e Safe*), desenvolvido para a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos em frutas e hortaliças (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Outro método muito utilizado na determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos é a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD), publicado por Barker e colaboradores (BARKER *et al.*, 1989).

Na literatura tem sido relatado o uso de diferentes técnicas de preparo de amostra para a extração de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssego. A Tabela 3, abaixo, apresenta alguns destes métodos que utilizam a cromatografia líquida para sua determinação.

**Tabela 3** – Técnicas de extração utilizadas para determinação de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssego, que empregam cromatografia líquida ao longo dos anos.

(continua)

Matriz (es)	Analitos	Equipamento	Método de extração	LOQ (mg kg <sup>-1</sup> )	Referência
Maçã e pera	7	LC-MS/MS	Extração com mistura acetona:diclorometano: hexano, evaporação e reconstituição em fase móvel	0,02 a 0,05	LACASSIE <i>et al.</i> , 1999
Maçã e pera	57	LC-MS/MS	Extração com acetato de etila na presença de sulfato de sódio	0,003	JANSSON <i>et al.</i> , 2004
Maçã	74	LC-MS/MS	Extração com acetato de etila, evaporação e reconstituição em metanol	0,01	ORTELLI <i>et al.</i> , 2004
Maçã	24	LC-MS/MS	Extração com acetona, cloreto de sódio, acetato de etila e ciclohexano.	0,01	SANNINO <i>et al.</i> , 2004
Maçã	9	LC-MS/MS	Extração com acetato de etila na presença de sulfato de sódio	0,005	GOTO <i>et al.</i> , 2006
Pera	6	UPLC-QTOF-MS	Extração com acetato de etila na presença de sulfato de sódio	0,002	PICÓ <i>et al.</i> , 2007
Pera e pêssego	12	LC (QqQ, QIT, QqTOF)	Extração com acetato de etila na presença de sulfato de sódio	0,0001 a 0,4	SOLER <i>et al.</i> , 2007

(conclusão)

Matriz (es)	Analitos	Equipamento	Método de extração	LOQ (mg kg <sup>-1</sup> )	Referência
Pera	160	LC-MS/MS	QuEChERS acetato modificado	0,005 a 0,125	KMELLÁR <i>et al.</i> , 2008
Maçã	9	LC-MS/MS	Extração com acetonitrila, filtração, evaporação e reconstituição em metanol	0,004 a 0,01	TICHA <i>et al.</i> , 2008
Pêssego	71	UPLC-MS/MS	Extração com líquido pressurizado: tetrafluoreto e tolueno	0,0004 a 0,004	BAKIRCI; HISIL, 2012
Ameixa, maçã, pera e pêssego	100	LC-MS/MS	QuEChERS modificado	0,001	NÚÑEZ <i>et al.</i> , 2012
Maçã e pera	199	UPLC-QTOF-MS	QuEChERS citrato modificado	0,03	LÓPEZ <i>et al.</i> , 2014
Pêssego	8	LC-MS/MS	QuEChERS acetato modificado	0,001 a 0,1	JARDIM <i>et al.</i> , 2014
Maçã e pera	2	HPLC-UV	Microextração líquido-líquido dispersiva com sonicação	0,041 a 0,065	PIRSAHEB <i>et al.</i> , 2015
Maçã e pera	96	LC-QTOF MS	QuEChERS acetato modificado	0,01 a 0,04	MUNARETTO <i>et al.</i> , 2016

#### 2.4.3.1 Método QuEChERS

Anastassiades e colaboradores (ANASTASSIADES *et al.*, 2003) introduziram o método QuEChERS, um acrônimo em inglês de suas principais características: rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro, para a extração de uma ampla gama de agrotóxicos multiclasse em frutas e legumes. Esse método é caracterizado pela utilização de um solvente polar (acetonitrila), adição de sais para promover o efeito *salting out* (NaCl) e de sais secantes (MgSO<sub>4</sub>) com a finalidade de melhorar a recuperação de agrotóxicos polares.

Juntamente com o método QuEChERS foi proposto uma nova técnica de limpeza denominada extração dispersiva em fase sólida (d-SPE, do inglês *dispersive solid-phase extraction*), onde uma quantidade determinada de extrato é colocada em contato com uma mistura de sorventes com ou sem uso de sais, agitados vigorosamente e então centrifugados para obtenção de um extrato com menor presença de impurezas (ANASTASSIADES *et al.*, 2003).

Entre os sorventes que podem ser utilizados na etapa de d-SPE, estão amina primária-secundária (PSA, do inglês *primary secondary amine*), a qual tem elevado efeito quelante devido a presença dos grupamentos amino primário e secundário,

acarretando em remoção de ácidos orgânicos polares, pigmentos polares, alguns açúcares e ácidos graxos. O tamanho de partícula do sorvente utilizado é, geralmente, de 40 µm. O sorvente PSA tem sido usado em associação com outros sorventes, principalmente com C18 ou carbono grafitizado (PRESTES *et al.*, 2009; WILKOWSKA; BIZIUK, 2011; CABRERA *et al.*, 2012).

O sorvente octadecilsilano (C18) é mais utilizado para matrizes com teor de gordura maior que 2%, pois remove com boa eficiência os interferentes apolares, tais como substâncias graxas e lipídios. No entanto, tem sido utilizado em conjunto com PSA para diferentes tipos de matrizes e analitos, tendo um custo inferior ao do PSA. O tamanho de partícula mais utilizado é de 40 µm. Entre outros sorventes de limpeza para utilização na determinação de agrotóxicos em alimentos, encontra-se na literatura descrições da utilização de diversos materiais (CABRERA *et al.*, 2016), Durante o período de desenvolvimento do método QuEChERS, percebeu-se que a utilização de tampões (pH 5,0) promoviam recuperações satisfatórias (>70%) para compostos dependentes do pH. Assim, Lehotay e colaboradores, (LEHOTAY *et al.*, 2005a) desenvolveram o método “QuEChERS acetato”, no qual o efeito tamponante (pH 4,8) é promovido pela adição de acetato de sódio e adição de ácido acético à acetonitrila. Mais tarde, Anastassiades e colaboradores (ANASTASSIADES *et al.*, 2007) propuseram o método “QuEChERS citrato”, que utiliza uma mistura de citrato de sódio di e sesquiidratado como responsáveis pelo efeito tamponante (pH 5,0-5,5).

#### 2.4.3.2 *Dispersão da matriz em fase sólida*

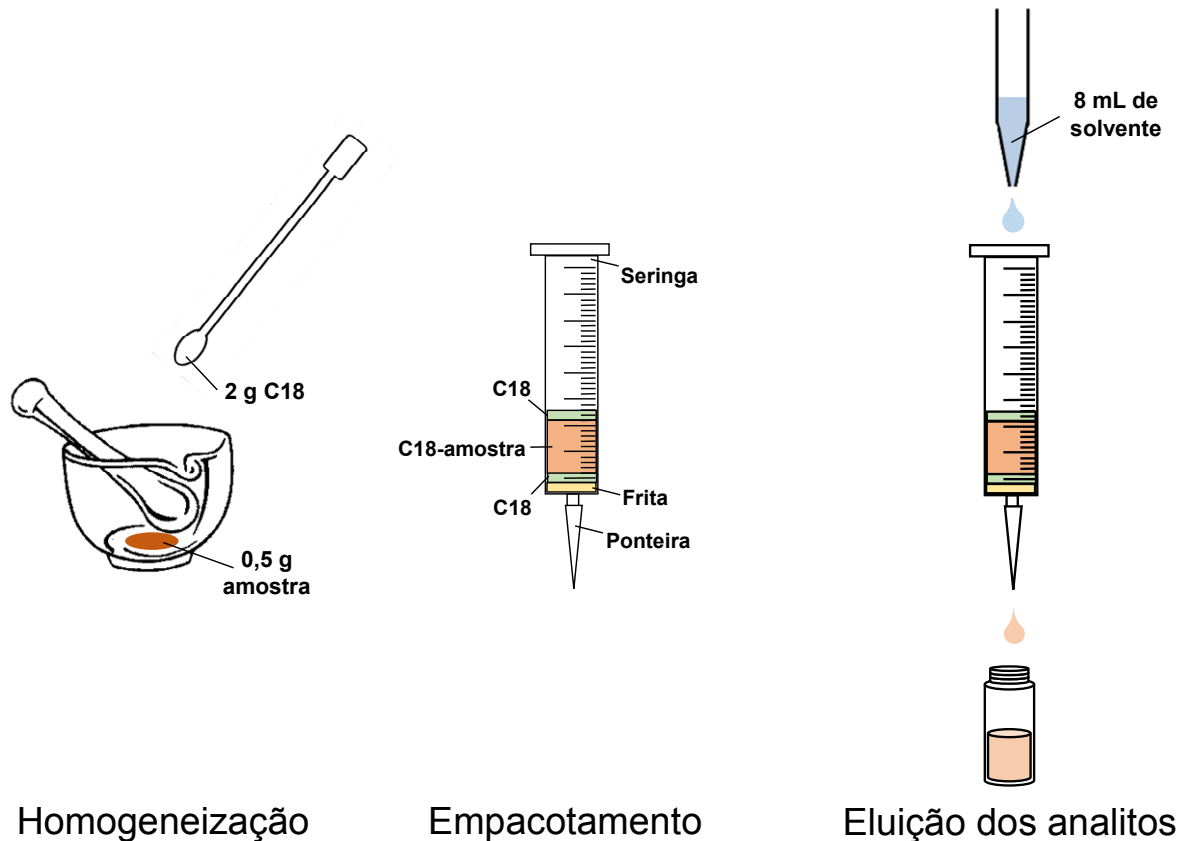
A técnica de dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) foi desenvolvida por Barker e colaboradores (BARKER *et al.*, 1989), conforme ilustrado na conforme a Figura 2. Através dos anos a MSPD sofreu algumas modificações, que tornaram a técnica mais simples e amplamente utilizada na análise de contaminantes orgânicos em alimentos.

Uma das facilidades da técnica, é que a MSPD possibilita a extração dos analitos e a limpeza do extrato em uma mesma etapa. Isto ocorre através da homogeneização da amostra com um sorvente com gral e pistilo (de sílica para não ocorrer adsorção dos analitos) e, após, o empacotamento de uma coluna com a



mistura amostra-sorvente e eluição dos analitos com emprego de um ou mais solventes (BARKER *et al.*, 1989).

**Figura 1** - Representação da técnica de MSPD apresentada por Barker e colaboradores em 1989.



Fonte: Adaptado de BARKER *et al.*, 1989

Na etapa de (homogeneização, as forças atuantes são forças intermoleculares fracas, tipo *van der Waals* ou interações dipolo-dipolo, que fazem com que o analito interaja com o adsorvente através do processo de sorção (DÓRIA, 2015). A etapa de homogeneização provoca uma grande variação na precisão dos resultados, necessitando de analistas bem treinados e deve ter um tempo estabelecido para sua realização (BARKER, 2005).

A relação amostra/sorvente (m/m) deve ser otimizada, tipicamente admite-se que a quantidade de amostra seja 4 vezes menor que a quantidade de adsorvente, essa relação varia de 1:1 a 1:4 (BARKER, 2005; SOUZA *et al.*, 2013; CAO *et al.*, 2015; ROMBALDI *et al.*, 2015).

Um critério prático a ser adotado é que a mistura sólida homogeneizada esteja pulverizada e não pastosa, o que permite maior penetração do solvente no material (DÓRIA, 2015). Os adsorventes mais utilizados como sorventes (abrasivos) são C18, sílica ( $\text{SiO}_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), ciano propil  $[(\text{SiO}_2)_X - (\text{CH}_2)_3\text{CN}]$  – e florisil ( $\text{MgSiO}_3$ ) (BARKER, 2007; CAPRIOTTI *et al.*, 2010).

Na etapa de eluição pode-se usar diferentes solventes, composição e sequência de eluição, por exemplo, com uso de C18: n-hexano, acetato de etila, acetonitrila e metanol (do mais apolar para o mais polar). O uso de acetonitrila como eluente diminui a coloração do extrato, uma vez que reduz a extração e co-extrativos da amostra (CAPRIOTTI *et al.*, 2010).

Trabalhos apresentam volumes variados de solventes para eluição, de até 10 mL, porém estima-se que a maioria dos analitos eluem da coluna nos primeiros 4 mL (BARKER, 2000; RAMOS *et al.*, 2008; ABHILASH *et al.*, 2009).

A MSPD apresenta vantagens como: pequena quantidade de amostra; redução de uso de solventes orgânicos; menor tempo de extração; alternativa para preparo de amostras sólidas, semissólidas e líquidas com alta viscosidade; realização da extração e limpeza na mesma etapa; técnica de extração exaustiva, versátil e com melhor custo benefício (BARKER, 2007; DÓRIA, 2015).

Desafios no melhoramento da técnica estão na etapa de homogeneização e empacotamento, para que sejam simplificadas, porém mantendo a robustez do método. Além disso, procura-se modificar a técnica a fim de atingir o alto número de compostos analisados por outras técnicas, como é o caso do método QuEChERS, onde pode-se determinar centenas de analitos (KMELLAR *et al.*, 2010; CAPRIOTTI *et al.*, 2010).

Neste sentido, há na literatura estudos de sorventes alternativos para a MSPD, como terra diatomácea para determinação de agrotóxicos em sucos de frutas (RADIŠIĆ *et al.*, 2009) e fármacos em peixe (HERTZOG *et al.*, 2015); casca de mexilhão para extração de agrotóxicos e fármacos de músculo (ROMBALDI *et al.*, 2015); entre outros.

O emprego de extração assistida com vortex, no lugar de *manifold* a vácuo para etapa de eluição, torna a técnica de MSPD mais rápida, a eluição é mais simples e diminui a exposição dos analistas aos solventes e manuseio da amostra (CALDAS *et al.*, 2013; HERTZOG *et al.*, 2015).

As aplicações da MSPD incluem a determinação de medicamentos em matrizes biológicas e alimentos (HERTZOG *et al.*, 2015); agrotóxicos e outros poluentes orgânicos em frutas, vegetais, alimentos processados e amostras ambientais (RAMOS *et al.*, 2008; ABHILASH *et al.*, 2009; CALDAS *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2013; CAO *et al.*, 2015; ROMBALDI *et al.*, 2015); além de micotoxinas em alimentos (WU *et al.*, 2008).

## 2.5 VALIDAÇÃO

De acordo com LANÇAS (2004), validação é o ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, tornar legítimo ou legal. Ainda, segundo Ribani e colaboradores (2004), é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência, visando diminuir os fatores que levam a imprecisão ou inexatidão de um dado gerado.

A validação de um método analítico é um requisito importante para a prática da análise química para garantir o fornecimento de dados com a qualidade exigida e, por esta razão, tem recebido uma atenção considerável na literatura e agências reguladoras em todo o mundo.

No Brasil, a ANVISA, com a Resolução - RE nº 27, de 17 de maio de 2012, bem como o INMETRO com o decreto DOQ-CGCRE-008 (revisão 04) de 2011 estabelecem guias para validação de processos analíticos, assim como os órgãos internacionais, como a SANTÉ (Saúde e Proteção do Consumidor, do francês *Santé et protection des consommateurs*) e o *Codex Alimentarius*.

Os parâmetros envolvidos no processo de validação de métodos analíticos avaliados usualmente são: curva analítica e faixa linear, efeito matriz, seletividade, exatidão, precisão (repetitividade e precisão intermediária), limite de detecção e de quantificação. Estes estão descritos na Tabela 4.

**Quadro 1 – Parâmetros avaliados durante a etapa de validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos por cromatografia.**

<b>Parâmetro</b>	<b>Definição</b>	<b>Referência</b>
Seletividade	Capacidade do método de medir exatamente um analito em uma mistura complexa sem a interferência de outros componentes presentes.	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Faixa linear	Capacidade de uma técnica analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado como curva analítica.	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Efeito Matriz	Aumento ou diminuição na resposta do detector na presença do analito no extrato da matriz em relação ao solvente.	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Limite de detecção	Menor concentração da substância em análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental.	INMETRO, 2011;
Limite de quantificação	menor concentração da substância em exame que pode ser medida, com um grau aceitável de confiança, utilizando um determinado procedimento experimental	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Precisão	Descreve a proximidade entre os resultados que foram obtidos exatamente da mesma forma.	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Exatidão	Indica o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho proposto consistiu no desenvolvimento e validação de 2 métodos de preparo de amostra para extração de resíduos de agrotóxicos em amostras de ameixa, maçã, pera e pêsego, seguida da determinação destes por UHPLC-MS/MS e posterior aplicação em 100 amostras importadas.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), um laboratório acreditado pela ISO 17025:2005.

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho estão listados abaixo:

- Sistema de purificação de água, Milli-Q Direct UV3R (Millipore, Bedford, MA, EUA);
- Banho ultrassônico, linha Soniclean (Sanders do Brasil, Brasil);
- Centrífuga refrigerada NT 825 (Novatecnica, Brasil);
- Centrífuga (Centribio, Brasil);
- Agitador Vortex - Biomixer Modelo QL-901 (Microtécnica, Brasil);
- Processador de Alimentos VariMix (Targo, Espanha);
- Balanças analíticas de precisão AUW-220D e UX-420H (Shimadzu, Japão);
- Micropepitadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha);
- Homogeneizador Polytron PT3100 (Kinematica, Suíça);
- Banho Ultrassônico Sonorex RK 510 (Bandelin, Alemanha);
- Sistema UHPLC-MS/MS, modelo Xevo TQ (Waters, EUA), contendo espectrômetro de massas triploquadrupolo e amostrador automático sample manager (Acquity), coluna analítica ACQUITY UPLC BEH C18 1,7  $\mu\text{m}$  - 2,1 x 50 mm e sistema de aquisição de dados MassLynx V 4.1 (Waters, EUA);
- Sistema compressor de ar, modelo SF2FF (Atlas Copco, EUA);
- Sistema gerador de nitrogênio, modelo NM30L-MS (Peak, Reino Unido);

- Gás argônio 6.0 usado como gás de colisão no sistema UHPLC-MS/MS.

### 3.2 REAGENTES, SOLVENTES E DEMAIS MATERIAIS UTILIZADOS

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

- Acetonitrila grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, EUA);
- Ácido acético glacial 100% (J. T. Baker, EUA);
- Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct UV3R (resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm);
- Metanol, grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- Formiato de amônio (Sigma Aldrich, EUA);
- Acetato de etila (Mallinckrodt, EUA);
- Diclorometano (Tedia, Brasil);
- Éter de Petróleo (Mallinckrodt, EUA);
- Bicarbonato de sódio (Proquimios, Brasil);
- Sulfato de sódio (Merck, Brasil);
- Sulfato de magnésio anidro p.a. (J.T. Baker, Japão);
- Cloreto de sódio p.a. (Sigma-Aldrich, Alemanha);
- Acetato de sódio anidro (J.T. Baker, EUA);
- Citrato de sódio diidratado (Sigma-Aldrich, EUA);
- Hidrogenocitrato de sódio sesquiidratado (Sigma-Aldrich, EUA);
- Sorvente Bondesil C18 com diâmetro de partícula (d.p.) de 40  $\mu$ m (Agilent, EUA);
- Sorvente Bondesil PSA com d.p. de 40  $\mu$ m (Agilent, EUA);
- Amino com d.p. 45  $\mu$ m (Sigma-Aldrich, EUA);
- Alumina neutra 100-125 mesh (Sigma-Aldrich, EUA);
- Sílica com d.p. 50  $\mu$ m (Sigma-Aldrich, EUA);
- Quitosana (obtida e caracterizada no Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos das FURG, a partir de resíduos de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*) com d.p. 62-76  $\mu$ m (Rio Grande, Brasil);
- Florisil<sup>®</sup> 60-120 mesh (J.T. Baker, EUA);
- Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg/3 mL, d.p. 30 $\mu$ m (Waters, EUA);

- Strata X<sup>®</sup> 500 mg/6 mL, d.p. 33 µm (Phenomenex, EUA);
- Fase fluorada, d.p. 35-70 µm, diâmetro de poro 60 nm, 9% de Carbono (Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, Brasil);
- Acetona grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- Hexano (95% n-hexano) (J.T. Baker, EUA);
- Esferas de aço inoxidável de 9,5 mm de diâmetro, provenientes de sistemas de rolamento;
- Filtros de nylon de 13 mm e porosidade de 0,2 µm (Agilent, EUA);
- Tubos de polipropileno, com tampas de rosca com capacidade de 50 e 15 mL (Sarstedt, Alemanha);
- Microtubo, tipo eppendorff, capacidade 2 mL (Axygen Scientific, EUA);
- Frascos de vidro (vial) com capacidade de 2 mL (Agilent, EUA);
- Extran<sup>®</sup> neutro e alcalino (Merck, Brasil);
- Padrões sólidos dos compostos em estudo (Tabela 5);
- Vidraria comum de laboratório.

### 3.3 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE (OU SUBSTITUIÇÃO)

A fim de assegurar a execução correta do procedimento de extração e de análise para cada amostra no sistema cromatográfico, além da localização de fontes de erro, são adicionados o Padrão Interno (PI) e o Padrão de Controle (PC), as vezes também chamado de substituição (SANTÉ, 2015). Estas substâncias são adicionados em diferentes estágios do procedimento analítico e possuem diferentes finalidades, conforme descrito a seguir.

Trabalhos reportados na literatura apontam o composto trifenilfosfato (TPP) como ótimo para uso como padrão interno (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Este composto foi utilizado apenas para a avaliação do instrumento, aceitando-se valores de variação de área de 20%. No extrato final (1 mL) foram adicionados 20 µL de uma solução 1000 µg L<sup>-1</sup>, resultando na concentração final de 19,6 µg L<sup>-1</sup>.

Como padrão de controle utilizou-se atrazina deuterada, empregado para a avaliação do procedimento de extração na forma de resultados de recuperação (70-

120%), uma vez que é adicionado à amostra anteriormente à extração dos analitos, nas mesmas concentrações empregadas para avaliação dos ensaios de recuperação (10, 50 e 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

### 3.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS DOS COMPOSTOS SELECIONADOS

Os compostos selecionados para este estudo foram adquiridos das empresas Dr. Ehrenstorfer, Sigma-Aldrich e Chemservice, listados na Tabela 4, juntamente com a classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas. As estruturas são apresentadas no Anexo I.

Inicialmente, preparou-se 10 mL das soluções estoque individuais de cada composto, na concentração de 1000  $\text{mg L}^{-1}$ , através do cálculo de massa a ser pesada e posteriormente diluída no solvente (acetonitrila), que leva em consideração a pureza de cada padrão. A solução estoque individual do composto carbendazim necessita preparo em acetonitrila 8% HCl (v/v). As soluções estoque foram armazenadas em frascos âmbar a temperatura abaixo de - 4 °C.

A partir das soluções estoque preparou-se duas misturas na concentração 5  $\text{mg L}^{-1}$ , contendo no total 161 analitos. A partir destas misturas, foram preparadas as soluções de trabalho no solvente e no extrato das matrizes branco (ameixa, maçã, pera e pêsego), nas concentrações finais para injeção no sistema UHPLC-MS/MS de 0,5, 1, 2, 5, 10 e 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Devido às diferentes proporções de amostra/solvente (m/v) e diluições do extrato final para os métodos QuEChERS e MSPD, as concentrações por kg na matriz correspondem a 5, 10, 20, 50, 100 e 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o método QuEChERS (fator final de diluição do método de 10 vezes) e 2, 4, 8, 20, 40, 80  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o método MSPD (fator final de diluição do método de 4 vezes).



**Tabela 4** – Relação dos compostos em estudo, com informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas.

(continua)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
3-OH Carbofurano	-	Metabólito do carbofurano	97	3,6 e 1,97	0,76	10	6,2 10 <sup>3</sup>
Acetamiprido	Inseticida	Neonicotinóide	99	0,7	6,27	132	4,25 10 <sup>3</sup>
Ametrina	Herbicida	Triazina	99	4,1	2,63	96	1,8 10 <sup>3</sup>
Atrazina	Herbicida	Triazina	99	1,7	-	122	30
Atrazina-d5 (P.S.)	-	Triazina	99	-	-	-	-
Azaconazol	Fungicida	Triazol	98	2,94	2,32	963,9	127,9
Azinsulfurom	Herbicida	Sulfonilureia	98	3,6	0,65	128,2	601,3
Azinfós etílico	Inseticida	Organofosforado	98	-	3,40	237,1	8,25
Azinfós metílico	Inseticida	Organofosforado	99	5	2,53	69,7	43,54
Azoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	0,94	2,50	740,2	11,61
Benomil	Fungicida	Benzimidazol	98	-	-	-	-
Bentazona	Herbicida	Benzotiadiazinona	98	-	-	-	-
Bifentrina	Inseticida, formicida e acaricida	Piretróide	99	-	-	-	-
Bispiribaque sódico	Herbicida	Ácido pirimidiniloxibenzóico	99	-	-	-	-
Boscalida	Fungicida	Anilida	99	10,7 e 0,11	4,00	3,74 10 <sup>7</sup>	2,61
Bupirimato	Fungicida	Pirimidina	94	-	-	-	-
Buprofezina	Inseticida e acaricida	Tiadiazinona	99	0,38	4,30	5741	2,43
Carbaril	Inseticida	Metilcarbamato de naftila	98	10,4	2,36	241,7	416,2
Carbendazim	Fungicida	Benzimidazol	99	4,2	1,55	175,8	2441
Carbofurano	Inseticida, cupinicida, acaricida e nematocida	Metilcarbamato de benzofuranila	98	3,78 e 2,16	2,32	70,85	353,9
Carboxim	Fungicida	Oxatina	99	0,5	2,14	79,96	423,7
Cianazina	Herbicida	Triazina	99	12,9	2,22	123,8	183,8
Ciazofamida	Fungicida	Cianoimidazol	99	-	2,87	978,5	17,01

(continuação)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Cimoxanil	Fungicida	Cianoacetamida oxima	97	9,3	4,24	38	10,62
Ciproconazol	Fungicida	Triazol	99	-	2,90	1,60 10 <sup>7</sup>	45,74
Ciprodinil	Fungicida	Anilino pirimidina	99	-	-	-	-
Clofentezina	Acaricida	Tetrazina	99	1,68	3,10	6,45 10 <sup>8</sup>	26,5
Clomazone	Herbicida	Isoxazolidinona	95	-	2,50	4770	197,5
Clorantraniliprole	Inseticida	Antranilamida	94	10,8	3,98	2724	0,37
Clorbromurom	Herbicida	Uréia	98	-	3,09	349,8	30,75
Clorimurom etílico	Herbicida	Sulfonilureia	97	4,2	2,50	78,19	18,15
Clorfenvinfós	Acaricida e inseticida	Organofosforado	95	2,5	3,81	591	3,02
Clorpirifós etílico	Inseticida, formicida e acaricida	Organofosforado	99	4,55	4,96	6829	0,36
Clorpirifós metílico	Acaricida e inseticida	Organofosforado	97	-	4,31	2008	1,89
Clotianidina	Inseticida	Neonicotinóide	99	11,1	0,64	2,521	6,6 10 <sup>3</sup>
Cresoxim metílico	Fungicida	Estrobilurina	98	-	-	-	-
Deltametrina	Inseticida e formicida	Piretróide	99	-	-	1,02 10 <sup>7</sup>	0,0002
Demetom sulfona	-	Organofosforado	98	-	0,74	143,3	1,6 10 <sup>8</sup>
Desmedifam	Herbicida	Carbamato	97	-	3,39	310,6	15,5
Diazinona	Inseticida	Organofosforado	96	2,6	3,81	1337	6,45
Diclorvós	Inseticida	Organofosforado	97	-	-	-	-
Diclofluanida	Fungicida	Sulfonamida	99	-	3,70	1067	5,4 10 <sup>3</sup>
Dicrotofós	Acaricida e inseticida	Organofosforado	97	-	-	366,2	2,78 10 <sup>7</sup>
Difenoconazol	Fungicida	Triazol	99	1,07	4,30	2,43 10 <sup>7</sup>	0,60
Dimetenamida	Herbicida	Cloroacetamida	97	-	-	-	-
Dimetoato	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	2	0,28	24,52	6,6 10 <sup>3</sup>
Dimetomorfe	Fungicida	Morfolina	99	1,30	2,63	1,36	41,8
Dimoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	-	-	486,0	4,3
Diniconazole	Fungicida	Triazol	99	-	-	-	4,00
Diuron	Herbicida	Uréia	97	7,8	-	-	0,42

(continuação)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Dodemorfe	Fungicida	Morfolina	98	-	-	-	-
Epoconazol	Fungicida	Triazol	99	-	-	-	0,66
Espinosade A	Inseticida	Espinosinas	91	-	-	-	-
Espirodiclofem	Inseticida e acaricida	Cetoenol	98	-	-	-	-
Etiofencarbe sulfona	-	Metilcarbamato	98	14,77	-	-	-
Etiofencarbe sulfóxido	-	Metilcarbamato	98	-	-	-	-
Etiprole	Inseticida	Fenilpirazol	98	-	-	-	-
Etoprofós	Nematicida e inseticida	Organofosforado	93	-	2,99	-	13
Etofemproxi	Inseticida	Piretróide	98	-	6,9	524	0,52
Etoxisulfurom	Herbicida	Sulfolinuréia	99	5,28	-	-	-
Fenamifós	Nematicida	Organofosforado	93	-	3,29	2352	329
Fenarimol	Fungicida	Pirimidinil carbinol	97	-	3,62	3786	14
Fenazaquim	Acaricida e herbicida	Quinazolino	99	2,44	5,51	4884	0,22
Fembuconazol	Fungicida	Triazol	99	-	4,23	6131	7,04
Fempropatrina	Inseticida e acaricida	Piretróide	99	-	5,62	4473	0,046
Fempropimorfe	Fungicida	Morfolina	94	-	3,30	2937	19
Fenpiroximato	Acaricida	Pirazol	97	-	5,57	5537	0,12
Fenhexamida	Fungicida	Anilida	99	7,3	3,72	3788	7,97
Fenoxicarbe	Inseticida e acaricida	Carbamato	99	-	4,24	3917	2,56
Fentiona	Inseticida, formicida, acaricida e cupinicida	Organofosforado	97	-	4,09	-	2
Fluasifope-p-butílico	Herbicida	Ácido ariloxifenoxipropiônico	97	-	-	-	1,1
Flufenoxurom	Acaricida e inseticida	Benzoiluréia	97	-	-	-	-
Fluquinconazol	Fungicida	Triazol	98	-	-	-	-
Fluroxipir	Herbicida	Ácido pirimidiniloxibenzóico	97	2,94	-	-	91
Flusilazole	Fungicida	Organosiliconado	99	2,5	3,87	3,81	4,02
Flutolanil	Fungicida	Carboxamida	99	-	3,7	680	6,53
Flutriafol	Fungicida	Triazol	99	2,3	23	292	95

(continuação)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Fosmete	Acaricida e inseticida	Organofosforado	98	-	-	-	-
Furatiocarbe	Inseticida	Metilcarbamato de benzofuranila	99	5	4,70	577	0,02
Hexaconazole	Fungicida	Triazol	97	2,3	3,9	1040	18
Hexitiazoxi	Acaricida	Tiazolidinacarboxamida	99	-	5,57	6200	0,5
Imazalil	Fungicida	Imidazol	97	6,53	-	2080	0,22
Imidacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98	11,12	0,76	300	580
Iprovalicarbe	Fungicida	Carbamato	97	-	3,18	106	17,8
Linurom	Herbicida	Uréia	99	12,13	3,2	860	75
Lufenurom	Acaricida e inseticida	Benzoiluréia	99	-	-	-	-
Malationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	6,8	2,7	1800	143
Mecarbam	Acaricida e inseticida	Organofosforado	98	-	-	2,31	-
Mefosfolan	Inseticida	Fosforamidato	97	-	1,05	-	-
Mepronil	Fungicida	Carboxamida	99	-	3,66	974	12,7
Metalaxil	Fungicida	Acilalaninato	99	-	1,71	163	8,41
Metconazol	Acaricida e inseticida	Itraconazol	98	11,3 e 1,06	3,85	1,71	30,4
Metamidofós	Inseticida	Organofosforado	99	-	-	8	1,2 10 <sup>6</sup>
Metidationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	-	2,57	341	221
Metiocarbe	-	Metilcarbamato de fenila	99	-	-	655	27
Metobromurom	Herbicida	Uréia	98	-	2,41	197	330
Metomil	Acaricida e inseticida	Metilcarbamato de oxima	99	-	0,09	43	5,5 10 <sup>4</sup>
Metolacloro	Herbicida	Cloroacetamida	97	-	2,9	190	493
Metoxifenzida	Inseticida	Diacilhidrazina	99	-	3,7	501	3
Metoxurom	Herbicida	Uréia	99	-	1,6	120	678
Metribuzim	Herbicida	Triazinona	99	-	1,6	106	1,0 10 <sup>3</sup>
Metsulfurom metílico	Herbicida	Sulfolinuréia	99	3,3	0,02	57	172
Mevinfós	Inseticida e acaricida	Organofosforado	92	-	0,13	72	2,0 10 <sup>3</sup>
Monocrotofós	Inseticida	Organofosforado	97	-	0,22	19	8,1 10 <sup>5</sup>

(continuação)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Monolinurom	Herbicida	Uréia	99	-	2,2	200	735
Nitempiram	Inseticida	Nitroenamidas	99	-	-	-	-
Nuarimol	Fungicida	Pirimidina	99	-	3,18	241	26
Ometoato	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	-	0,74	41	1,0 10 <sup>4</sup>
Oxamil	Acaricida, inseticida e nematocida.	Carbamato	97	12,4	0,44	17	1,5 10 <sup>5</sup>
Oxifluorfem	Herbicida	Éter difenílico	98	-	4,47	12,23	0,12
Paraoxon etílico	Inseticida	Organofosforado	99	7,1	-	-	-
Parationa	Inseticida e acaricida	Organofosforado	99	-	3,83	1610	13
Parationa metílica	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	-	3	476	70
Pencicuum	Fungicida	Feniluréia	99	-	4,68	5667	0,30
Penconazol	Fungicida	Triazol	99	1,51	3,72	2205	73
Pendimetalina	Herbicida	Dinitroanilina	99	-	5,2	15744	0,33
Picoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	98	-	3,6	898	3,1
Pimetrozina	Inseticida	Azometino	99	-	0,18	-	-
Piraclostrobina	Fungicida	Estrobilurina	97	-	3,99	9300	20
Pirazofós	Fungicida e inseticida	Fosforotioato de heterociclo	97	-	3,8	646	4,2
Pirazosulfurom etílico	Herbicida	Sulfoniluréia	98	3,7	3,16	154	14,5
Piridabem	Inseticida e acaricida	Piridazinona	99	-	6,37	66503	0,02
Piridafentiona	Inseticida e acaricida	Organofosforado	99	-	3,1	7211	100
Piridato	Herbicida	Carbamato	96	-	4,01	55	1
Pirifenox	Fungicida	Piridina	96	4,61	3,4	980	300
Pirimetanil	Fungicida	Anilino pirimidina	98	3,52	2,84	301	121
Pirimicarbe	Inseticida	Dimetilcarbamato	97	4,44	1,7	388	3,1 10 <sup>3</sup>
Pirimifós etílico	Inseticida	Organofosforado	98	-	5	300	93
Pirimifós metílico	Inseticida e acaricida	Organofosforado	99	4,3	4,2	1100	11
Piriproxifem	Inseticida	Éter piridiloxipropílico	98	-	5,37	21175	0,37
Procimidona	Fungicida	Dicarboximida	98	-	3,14	378	2,46

(continuação)

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Profenofós	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	-	4,44	2010	28
Prometrina	Herbicida	Triazina	99	4,1	3,1	277	33
Propanil	Herbicida	Anilida	99	-	3,3	518	152
Propiconazol	Fungicida	Triazol	97	1,09	3,72	656	100
Propoxur	Inseticida	Carbamato	99	-	1,56	30	1,8 10 <sup>3</sup>
Quinalfós	Inseticida	Organofosforado	96	-	4,44	1465	17,8
Quinoxifem	Fungicida	Fenoxiquinolina	99	-	4,66	22929	0,05
Simazina	Herbicida	Triazina	98	1,62	2,1	340	6
Tebuconazol	Fungicida	Triazol	98	-	3,7	1000	32
Tebufenozida	Inseticida	Diacilhidrazina	97	-	4,25	605	1
Tebufenpirade	Inseticida e Acaricida	Pirazol	98	-	5,04	4204	2,39
Terbutilazina	Herbicida	Triazina	99	2	3,21	219	6,6
Tetraconazol	Fungicida	Triazol	97	-	3,56	4680	187
Tiabendazol	Fungicida	Benzimidazol	99	-	2,39	2500	30
Tiacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	99	-	-	615	184
Tiametoxam	Inseticida	Neonicotinóide	99	-	0,13	64	4,1 10 <sup>3</sup>
Tiobencarbe	Herbicida	Tiocarbamato	98	-	3,42	530	28
Tiodicarbe	Inseticida	Metilcarbamato de oxima	99	-	1,62	418	22
Tiofanato metílico	Fungicida	Benzimidazol (precursor de)	99	7,38	1,5	225	25
Tolifluanida	Fungicida	Fenilsulfamida	98	-	3,9	2200	0,9
Triadimefom	Fungicida	Triazol	99	-	3,7	365	64
Triadimenol	Fungicida	Triazol	98	-	3,08	273	72
Triazofós	Inseticida, acaricida e nematocida	Organofosforado	99	-	3,34	358	35
Triclorfom	Inseticida	Organofosforado	97	-	0,43	10	1,2 10 <sup>5</sup>
Tridemorfe	Fungicida	Morfolina	98	6,5	4,2	6250	1,1
Trifloxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	-	4,5	2377	0,61
Triflumizol	Fungicida	Imidazol	98	3,7	5,06	1240	18

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	log Kow	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	(conclusão)
							Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Triflumurom	Inseticida	Benzoiluréia	99	-	4,91	11891	0,04
Triticonazole	Fungicida	Itraconazol	99	-	3,29	523	8
Vamidationa	Inseticida	Organofosforado	98	-	-	70	4 10 <sup>6</sup>

PI: padrão interno; PC: padrão de controle; Solubilidade: em água a 25°C.

### 3.5 SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS

#### 3.5.1 Escolha da fase móvel

A composição da fase móvel influencia significativamente o sinal analítico e a adequada separação dos analitos. Assim, a fim de melhorar a ionização dos compostos analisados neste trabalho, através do sistema UHPLC-MS/MS, utilizou-se dois aditivos na fase móvel, tanto aquosa quanto orgânica, sendo eles o ácido fórmico e o formiato de amônio (KEMMERICH *et al.*, 2015). Como resultado a fase móvel empregada consistiu em: A) solução aquosa 2% metanol (v/v), com ácido fórmico 0,1% (v/v) e formiato de amônio 5 mmol L<sup>-1</sup> e B) metanol com ácido fórmico 0,1% (v/v) e formiato de amônio 5 mmol L<sup>-1</sup>, conforme gradiente descrito na Tabela 5. O tempo total de corrida foi de 10 minutos.

**Tabela 5** – Gradiente da fase móvel utilizado para determinação de agrotóxicos em frutas no sistema UHPLC-MS/MS.

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

Vazão constante de 0,225 mL min<sup>-1</sup>.

#### 3.5.2 Condições utilizadas no sistema UHPLC-MS/MS

As condições do sistema MS/MS devem ser otimizadas a fim de obter um melhor resultado na análise das massas dos íons precursores e produtos. Em uma análise multirresíduo, diferentes condições fazem-se necessárias de acordo com a classe química dos compostos. Portanto, uma condição favorável à maioria dos compostos deve ser encontrada. A seguir são descritas as condições gerais utilizadas para o desenvolvimento do método e análise dos agrotóxicos em amostras



de frutas, elas foram otimizadas previamente no LARP-UFSM, através de planejamento experimental e são utilizadas em análises de rotina para diversos compostos e matrizes com eficácia (KEMMERICH *et al.*, 2015).

- Temperatura da coluna: 40 °C;
- Voltagem capilar: 2,0 kV;
- Temperatura de dessolvatação: 500 °C;
- Vazão do gás de dessolvatação (N<sub>2</sub>): 600 L h<sup>-1</sup>;
- Vazão do spray: 80 L h<sup>-1</sup>;
- Vazão do gás de colisão: 0,15 mL min<sup>-1</sup>;
- Temperatura da fonte: 150 °C;
- Volume de injeção: 10 µL;
- Tempo de residência (*dwell time*): 0,01 s;
- Tempo de aquisição: 30 s.

Para obtenção das condições ótimas de análise de cada um dos compostos em estudo, foram realizadas infusões das soluções individuais na concentração 500 µg L<sup>-1</sup>. Os íons característicos selecionados para cada composto foram monitorados no modo SIM no quadrupolo (Q1) e no quadrupolo 3 (Q3) foi realizada varredura do íon produto variando as energias de colisão, a fim de determinar as melhores condições de detecção.

A partir deste estudo prévio, selecionou-se o modo de ionização da fonte (eletronebulização positiva em todos os casos) e as energias de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos com sinal significativo ( $\geq 10^5$ ). Após, foram avaliadas as transições, no modo de SRM a serem utilizadas para a quantificação (transição de maior intensidade) e confirmação (transição de segunda maior intensidade) dos compostos estudados.

### 3.6 DESENVOLVIMENTO DOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS

Os métodos de preparo de amostra propostos neste trabalho foram desenvolvidos com base em trabalhos da literatura para determinação multirresíduo

de agrotóxicos em frutas: QuEChERS original (ANASTASSIADES *et al.*, 2003), QuEChERS acetato (LEHOTAY *et al.*, 2005), QuEChERS citrato (ANASTASSIADES *et al.*, 2007), mini Luke (LUKE *et al.*, 1988), acetato de etila (JANSSON *et al.*, 2004), o método oficial da EURL (EURL-FV 2016) e MSPD (BARKER *et al.*, 1989).

Os testes preliminares da Tabela 6, tiveram por objetivo encontrar as melhores condições de extração dos compostos em estudo. Os ensaios foram realizados em triplicata de fortificações, na concentração de  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Destes, o teste com melhores resultados (QuEChERS acetato) foi avaliado quanto à etapa de limpeza do extrato e diluição final (com uso dos sorventes PSA, C18, florisil e sem limpeza), para posterior validação e aplicação nas amostras de monitoramento.

Em um segundo momento, realizou-se diferentes testes tendo como base a técnica MSPD (BARKER *et al.*, 1989), a fim de obter-se um método, mais simples, rápido e barato em relação aos métodos multirresíduos atuais. Os ensaios foram realizados em triplicata de fortificações, na concentração de  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Este método foi aprimorado, validado e comparado com o método multirresíduo validado na primeira fase do trabalho.

As condições iniciais propostas para o método de extração MSPD foram baseadas na literatura (BARKER, 2000; RAMOS *et al.*, 2008; CALDAS *et al.*, 2013), utilizando a matriz pera para os testes de extração. Alguns parâmetros de extração foram avaliados a fim de obter a maior recuperação para todos os compostos analisados, tais como: quantidade de amostra, tipo e quantidade de sorvente, modo de homogeneização, tipo e volume de solvente, extração assistida por vortex e tempo de extração assistido por ultrassom (40 kHz). Os testes realizados estão descritos na Tabela 7.

Ainda, a partir do teste 10 foram realizados outros 4 experimentos apenas variando o fator do método, a fim de obter um menor limite de quantificação: M28 - evaporando o extrato e redissolvendo em 1 mL de acetonitrila; M29 - volume de solvente extrator de 2 mL; M30 - volume de solvente extrator de 2 mL e diluição final de 2x em água (v/v); M31 - sem diluição do extrato e injeção de  $5 \mu\text{L}$  no sistema cromatográfico.





**Quadro 2** – Parâmetros avaliados na etapa de validação do método, com respectivas formas de aplicação, equações (quando aplicável) e critérios de aceitação.

Parâmetro	Aplicação	Equações	Critério	Referência
Seletividade	Comparação dos cromatogramas obtidos para extratos de amostras “branco” e da amostra “branco” fortificada com estes compostos.	-	Ausência de picos de interferentes nos tempos de retenção dos analitos de interesse.	SANTÉ, 2015
Faixa linear	Injeção em triplicata das soluções analíticas preparadas de acordo com o item 3.5. Avaliação do coeficiente de determinação ( $r^2$ ).	Equação 1: $y = ax + b$ Onde: y = resposta medida (área do pico); x = concentração; a = coeficiente angular - inclinação da curva analítica = sensibilidade; b = coeficiente linear - interseção com o eixo y, quando x = 0.	$r^2 \geq 0,99$	INMETRO, 2011
Efeito Matriz	Comparação entre as inclinações das curvas analíticas dos padrões no solvente (acetonitrila) e aquelas obtidas com soluções analíticas preparadas no extrato da matriz.	Equação 2: $EM(\%) = \frac{X_1 - X_2}{X_2} \times 100$ Onde: X1 = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada agrotóxico, preparadas em extrato da matriz. X2 = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada agrotóxico, preparadas em solvente.	$EM \geq 20\%$	MATUSZEWSKI <i>et al.</i> , 2006; SANTÉ, 2015
Limite de quantificação	Menor concentração que, fortificada na matriz (n=7), apresente resultados aceitáveis de exatidão e precisão.	-	Recuperações 70 - 120% e RSD $\leq 20\%$ .	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Limite de detecção	Calculado a partir do limite de quantificação.	Equação 3: $LOD = LOQ / 3,33$ Onde: LOQ = limite de quantificação	-	INMETRO, 2011
Exatidão	Ensaio de recuperação, fortificando as amostras “branco” em 3 níveis de concentração (10, 50 e 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) (n=7). Avaliada em termos de recuperação (%).	Equação 4: $REC(\%) = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$ Onde: C1= Concentração determinada na amostra fortificada; C2= Concentração determinada na amostra não fortificada; C3 = Concentração usada para fortificação.	70 – 120%	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015
Precisão	Ensaio de recuperação, fortificando as amostras “branco” em 3 níveis de concentração (10, 50 e 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) (n=7). Avaliada em termos de RSD.	Equação 5: $RSD(\%) = \frac{s}{\bar{X}} \times 100$ Onde: s = estimativa de desvio padrão absoluto = $\{\sum(x_i - \bar{x})^2/n-1\}^{1/2}$ ; $x_i$ = valores individuais; $\bar{x}$ = média das medidas em replicatas; n = número de medidas.	$RSD \leq 20\%$	INMETRO, 2011; SANTÉ, 2015

### 3.7 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS

Segundo a SANTÉ (2015), quando se tem várias matrizes de um mesmo grupo de produtos, pode-se utilizar apenas uma delas para a validação, contanto que seja representativa. Ainda, quando o método é aplicado a uma ampla variedade de matrizes, dados complementares de validação devem ser adquiridos, por exemplo, de ensaios interlaboratoriais.

Os métodos QuEChERS e MSPD modificados para a análise de resíduos de agrotóxicos em frutas foram validados para matriz pera, avaliando-se os parâmetros de: seletividade, curva analítica e faixa linear, efeito matriz, limites de detecção e quantificação, exatidão através do ensaio de recuperação, precisão (repetitividade) e precisão intermediária, conforme o Quadro 2. Para as demais matrizes avaliou-se seletividade, curva analítica e faixa linear, efeito matriz, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão apenas no limite de quantificação do método.

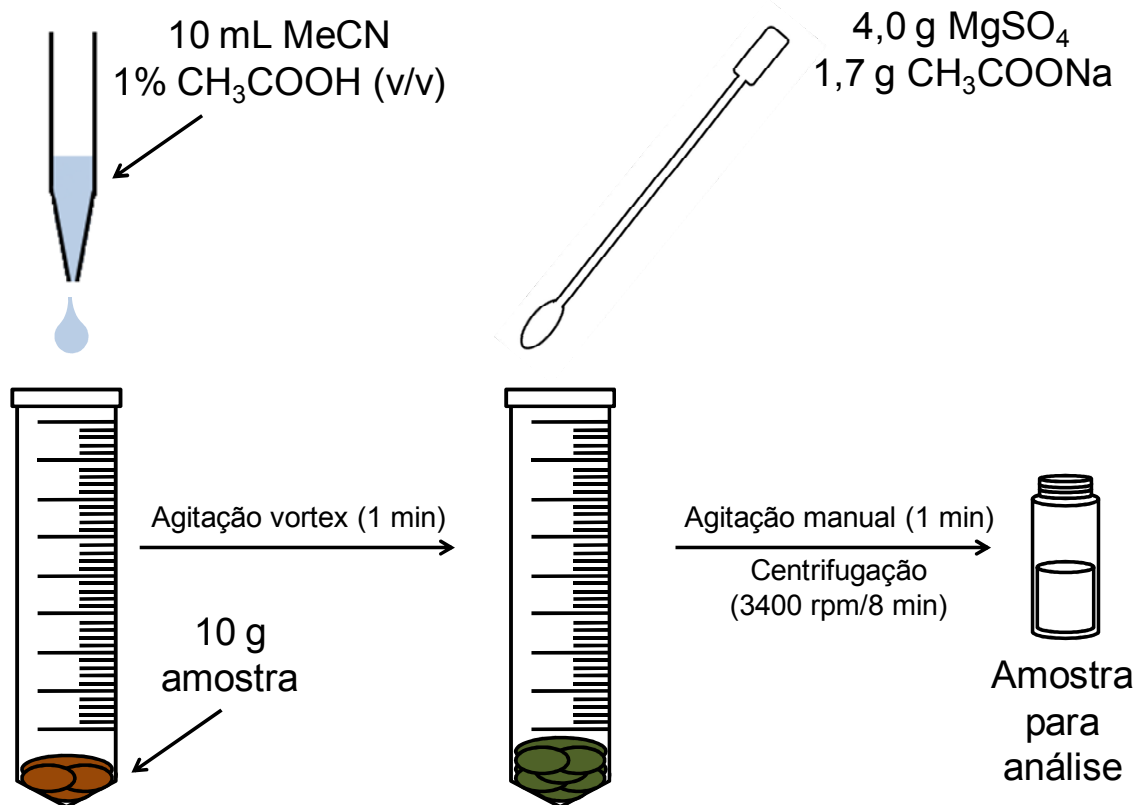
Ainda, Como critério de análise por MS/MS definiu-se 2 íons produto por composto, com sinal/ruído  $S/N \leq 3$  e variação do *ion ratio*. O *ion ratio* é calculado pela divisão das áreas do íon de identificação pelo íon de quantificação em cada injeção (curva, fortificações e amostras), a variação entre os valores de *ion ratio* devem estar entre  $\pm 30\%$  (SANTÉ, 2015).

#### 3.7.1 Método QuEChERS acetato modificado validado neste trabalho

A Figura 2 mostra um esquema do procedimento QuEChERS acetato modificado validado neste trabalho. O procedimento de extração consiste em pesar 10 g de amostra em um tubo de PP (50 mL) e depois adicionar 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético. O tubo é agitado em vortex durante 1 min e então adiciona-se 4 g de sulfato de magnésio anidro e 1,7 g de acetato de sódio. Agita-se novamente o tubo por 1 min e depois centrifuga-se a 3400 rpm (8 min/ 20 °C), para se obter uma boa separação de fases. O extrato é filtrado com um filtro de seringa de nylon (0,2  $\mu\text{m}$ ) e depois diluído 1:9 (v/v) com água ultrapura. Adicionou-se

trifenilfosfato antes da injeção no sistema cromatográfico, como padrão interno em concentração final de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .

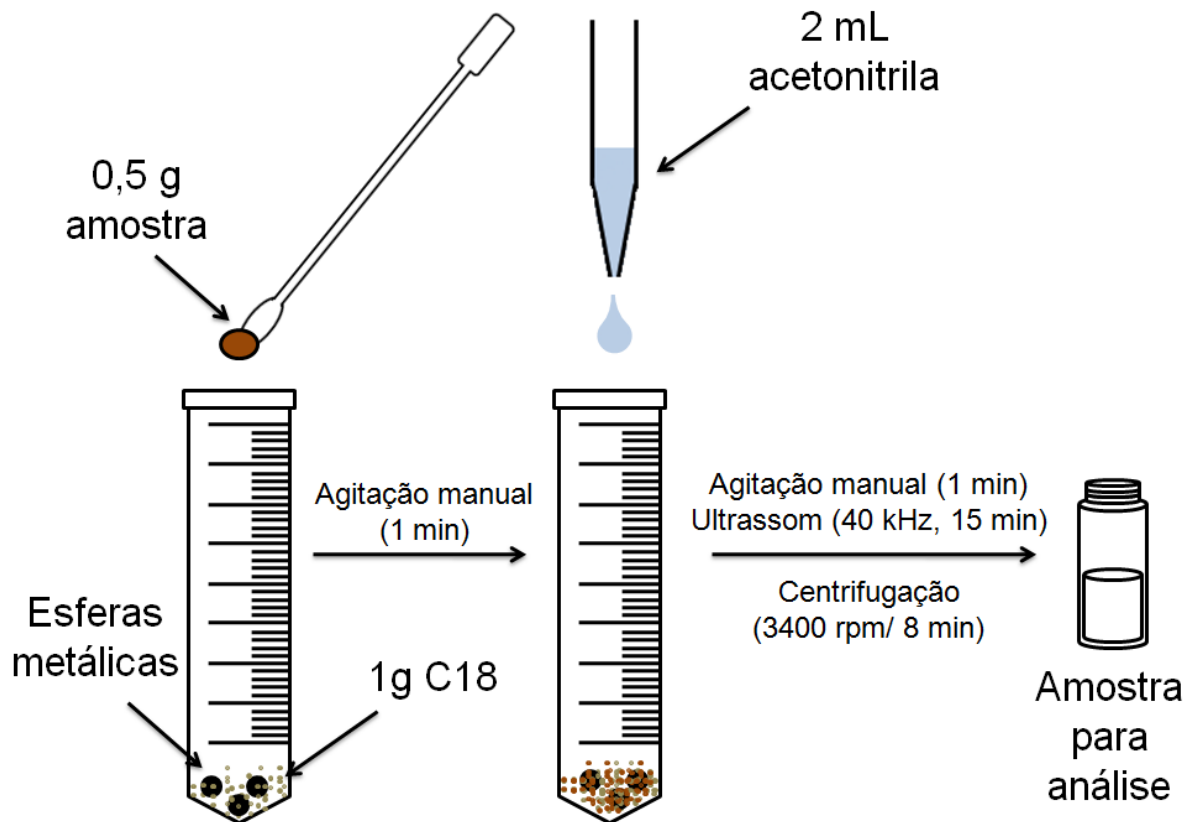
**Figura 2** – Esquema do procedimento QuEChERS proposto e validado neste estudo para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas.



### 3.7.2 Técnica de MSPD modificada validada neste trabalho

A Figura 3 mostra um esquema da técnica de MSPD modificada validada neste estudo. O procedimento de extração consiste em pesar 0,5 g de amostra (pera, ameixa, maçã ou pêssego), 1 g de sorvente C18 em um tubo de polipropileno (PP) de 50 mL onde são adicionadas 3 esferas de aço inoxidável. O tubo de PP é então agitado manualmente (1 min), após 2 mL de acetonitrila são adicionados ao tubo e agitados novamente (1 min). O tubo de PP é colocado em banho ultrassônico durante 15 min e depois centrifugado (3400 rpm/ 8 min/  $20^\circ\text{C}$ ). O extrato é filtrado com um filtro de seringa de nylon (porosidade de  $0,2 \mu\text{m}$ ) e diluído com água ultrapura (1:1, v/v).

**Figura 3** – Esquema do procedimento MSPD proposto e validado neste estudo para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas.



### 3.8 MONITORAMENTO

Com o apoio da Superintendência no RS do MAPA foram realizadas coletas de amostras de maçã, pera, pêsego e ameixa de origem importada que ingressam no Brasil pela cidade de São Borja/RS. Esta superintendência recebe diferentes frutas diariamente, proveniente de países como Argentina e Chile. Dentre as frutas em estudo, principalmente pera e maçã. Também foram coletadas amostras de frutas importadas nos supermercados da cidade de Santa Maria/RS.

O plano de amostragem consiste na aquisição mensal de 1 kg destas amostras, iniciando em maio de 2015 com término em janeiro de 2017, totalizando um período de 20 meses de monitoramento.



### 3.9 COLETA, TRANSPORTE, PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Amostras branco de ameixa, maçã, pera e pêssego foram produzidas e coletadas no interior da cidade de Ernestina/RS. As amostras importadas selecionadas para monitoramento foram coletadas no laboratório de inspeção do MAPA, Superintendência no RS (São Borja) e em mercados de Santa Maria/RS.

Para todas as amostras, foram amostrados 1000 g e transportados até o laboratório sobre refrigeração (10°C) em sacos plásticos até o processamento e análise.

O processamento das amostras foi realizado conforme o *Codex Alimentarius* (CODEX, 1999), onde após remoção do pedúnculo, uma porção de 1 kg da fruta é processada. Para ameixa e pêssego também deve-se retirar o caroço. Utilizou-se um processador *VariMix* para execução deste procedimento.

As amostras processadas foram acondicionadas em frascos de polipropileno de 200 mL sob refrigeração, em temperatura abaixo de -4 °C, até sua utilização nas análises.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CONDIÇÕES DO SISTEMA UHPLC-MS/MS EMPREGADO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS

A Tabela 8 apresenta todos os agrotóxicos analisados por UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI+, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e íons produto para quantificação e confirmação de cada analito em estudo.

**Tabela 8** – Agrotóxicos analisados por UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI+, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação.

(continua)

Composto	$t_R$ (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação		Ion ratio (%)
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)	
3-OH Carbofurano	3,47	238	25	163	16	181	10	25
Acetamiprido	3,51	223	23	126	20	56	15	20
Ametrina	5,43	228	32	186	18	68	36	28
Atrazina	5,29	216	30	174	18	96	23	22
Atrazina-d5 - PC	5,40	221	26	179	18	101	23	15
Azaconazol	5,50	300	25	152	28	131	18	10
Azinsulfurom	5,32	425	26	182	20	139	40	11
Azinfós etílico	6,24	346	10	132	16	77	36	16
Azinfós metílico	5,58	318	12	160	8	261	8	10
Azoxistrobina	5,76	404	17	329	30	372	15	14
Benomil	6,66	291	13	160	28	192	16	20
Bentazona	4,68	241	12	199	12	107	26	27
Bifentrina	8,17	440	15	166	42	181	20	12
Bispiribaque sódico	5,93	431	23	275	14	196	20	25
Boscalida	5,94	343	32	307	20	140	20	14
Bromoconazol	6,15	376	32	159	35	70	25	21
Bupirimato	6,43	317	31	166	28	108	28	13
Buprofezina	7,25	306	22	201	12	57,4	20	10
Carbaril	4,93	202	19	145	22	117	28	10
Carbendazim	2,65	192	24	160	18	132	28	15
Carbofurano	4,73	222	25	165	16	123	16	18
Carboxim	4,89	236	25	143	16	87	22	17

(continuação)

Composto	t <sub>R</sub> (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação		Ion ratio (%)
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)	
Cianazina	4,47	241	28	214	17	96	25	11
Ciazofamida	6,36	325	17	108	20	261	10	20
Cimoxanil	3,72	199	14	111	18	128	8	23
Ciproconazol	6,23	292	27	125	24	70	18	12
Ciprodinil	6,56	226	47	93	33	108	25	16
Clofentezina	6,82	303	19	102	35	138	22	19
Clomazone	5,67	240	23	125	18	89	46	24
Clorantraniliprole	5,58	482	20	451	22	284	14	21
Clorbromurom	5,92	293	24	204	18	182	16	11
Clorimurom etílico	5,97	415	25	186	15	83	40	15
Clorfenvinfós	6,70	359	18	99	30	155	12	16
Clorpirifós	7,45	350	27	97	32	198	20	16
Clorpirifós metílico	6,96	322	23	125	20	289	16	22
Clotianidina	3,24	250	15	132	18	169	12	20
Cresoxim metílico	6,57	314	15	206	7	116	12	19
Deltametrina	7,76	523	16	281	18	506	11	14
Demetom sulfona	2,65	263	20	169	17	121	17	17
Desmedifam	5,52	301	25	136	22	182	10	24
Diazinona	6,69	305	20	97	35	169	22	21
Diclorvós	4,77	221	23	109	22	79	34	26
Diclofluanida	6,33	330	30	123	17	141	18	19
Dicrotofós	3,05	238	17	193	10	112	10	19
Difenoconazol	6,97	406	37	251	25	111	60	16
Dimetenamida	6,04	276	17	244	14	168	26	13
Dimetoato	3,47	230	12	125	20	199	10	10
Dimetomorfe	6,04	388	30	165	30	301	20	11
Dimoxistrobina	6,54	327	21	116	21	205	10	19
Diniconazol	6,95	326	37	70	25	159	34	21
Diuron	5,46	233	27	72	18	46	14	22
Dodemorfe	5,57	282	31	116	21	98	28	19
Epoxiconazol	6,33	330	25	101	50	121	22	18
Espinosade A	6,87	732	47	142	31	98	59	25
Espirodiclofem	7,88	411	22	313	13	71	13	27
Etiofencarbe sulfona	3,09	258	19	107	18	201	5	15
Etiofencarbe sulfóxido	3,16	242	19	107	18	185	8	14
Etiprole	6,10	414	12	351	25	397	9	10
Etoprofós	6,35	243	18	97	31	131	20	25
Etofemproxi	8,11	394	17	107	43	177	15	11
Etoxisulfurom	6,05	399	25	261	16	218	24	20
Fenamifós	6,46	304	27	202	36	217	24	20
Fenarimol	6,28	331	37	268	22	81	34	19
Fenazaquim	7,82	307	27	57	25	161	19	16

(continuação)

Composto	t <sub>R</sub> (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação		Ion ratio (%)
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)	
Fembuconazol	6,42	337	29	125	36	70	20	14
Fempropatrina	7,46	350	15	97	34	125	14	12
Fempropimorfe	5,83	304	41	147	28	57	30	10
Fenpiroximato	7,65	422	23	366	15	138	32	11
Fenhexamida	6,28	302	32	97	22	55	38	10
Fenoxicarbe	6,52	302	19	88	20	116	11	17
Fentiona	6,64	279	25	169	16	247	13	16
Fluasifope-P-butílico	7,19	384	27	282	22	328	16	18
Flufenoxurom	7,79	489	31	158	22	141	46	18
Fluquinconazol	6,21	376	37	307	30	349	18	19
Fluroxipir	4,39	255	19	209	16	181	22	22
Flusilazole	6,57	316	27	165	28	247	18	20
Flutolanil	6,02	324	23	65	40	262	18	25
Flutriafol	5,32	302	23	123	29	70	18	23
Fosmete	5,63	318	19	160	22	77	46	22
Furatiocarbe	7,20	383	22	195	18	252	12	24
Hexaconazole	6,81	314	31	70	22	159	28	14
Hexitiazoxi	7,46	353	21	168	26	228	14	13
Imazalil	5,32	297	31	159	22	69	22	16
Imidacloprido	3,18	256	23	175	20	209	15	18
Iprovalicarbe	6,22	321	19	119	16	203	10	17
Linurom	5,84	249	25	160	18	181	16	11
Lufenurom	7,49	511	20	141	50	158	25	10
Malationa	6,02	331	12	99	24	127	12	14
Mecarbam	6,28	330	12	227	8	97	35	15
Mefosfolan	4,64	270	25	140	24	75	22	11
Mepronil	6,06	270	27	91	44	119	28	13
Metalaxil	5,41	280	15	192	17	220	13	17
Metconazol	6,79	320	29	70	22	125	36	14
Metamidofós	0,68	142	17	93,9	12	125	13	19
Metidationa	5,52	303	10	145	10	85	20	23
Metiocarbe sulfona	3,14	258	22	107	38	122	19	24
Metiocarbe sulfóxido	3,35	242	17	122	28	185	14	15
Metobromuron	5,22	259	22	170	20	148	15	16
Metomil	2,51	163	17	106	10	88	10	13
Metolacloro	6,40	284	17	176	25	252	15	12
Metoxifenoazida	6,05	369	25	149	18	313	8	18
Metoxurom	4,16	229	20	72	18	156	25	17
Metribuzim	4,62	215	33	131	18	89	20	19
Metsulfurom metílico	4,69	382	22	199	22	167	16	10
Mevinfós	3,94	225	13	127	15	193	8	20
Monocrotofós	2,81	224	15	127	16	98	12	22

(continuação)

Composto	t <sub>R</sub> (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação		Ion ratio (%)
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)	
Monolinurom	5,01	215	23	99	34	126	22	12
Nitempiram	2,35	271	22	126	25	225	12	11
Nuarimol	5,84	315	37	252	22	81	28	14
Ometoato	1,88	214	16	125	22	183	11	15
Oxamil	2,34	237	12	72	10	90	10	10
Oxifluorfem	7,23	362	27	237	24	316	14	20
Paraoxon etílico	5,27	276	28	220	17	248	16	26
Parationa	6,53	292	25	236	14	110	33	12
Parationa metílica	2,64	264	29	109	22	79	36	24
Pencicurom	6,89	329	30	125	22	125	40	17
Penconazol	6,63	284	25	159	34	70	16	15
Pendimetalina	7,49	282	12	212	10	194	17	13
Picoxistrobina	6,48	368	10	145	22	205	10	17
Pimetrozina	1,91	218	28	105	20	79	30	18
Piraclostrobina	6,76	388	20	163	25	194	12	11
Pirazofós	6,80	374	33	194	32	222	22	10
Pirazosulfurom etílico	6,30	415	22	182	20	82	45	12
Piridabem	7,82	365	19	147	24	309	12	17
Piridafentiona	6,13	341	31	189	22	92	34	13
Piridato	7,99	379	19	207	18	351	10	19
Pirifenox	6,16	295	29	93	22	67	60	14
Pirimetanil	5,58	200	42	107	24	82	24	16
Pirimicarbe	3,48	239	25	182	15	72	18	11
Pirimifós etílico	7,29	334	30	198	23	182	25	21
Pirimifós metílico	6,79	306	25	108	32	164	22	25
Piriproxifem	7,36	322	23	227	14	116	14	23
Procimidona	6,30	284	33	256	17	67	28	12
Profenofós	7,19	373	25	128	40	303	20	23
Prometrina	5,96	242	26	158	25	200	17	10
Propanil	5,88	218	31	162	16	127	22	11
Propiconazol	6,72	342	37	159	34	69	22	18
Propoxur	4,68	210	12	111	16	168	10	16
Quinalfós	6,52	299	15	97	30	163	24	15
Quinoxifem	7,44	308	52	162	44	197	32	22
Simazina	4,65	202	34	96	22	124	16	21
Tebuconazol	6,66	308	31	70	22	125	40	12
Tebufenozida	6,48	353	12	133	20	297	8	17
Tebufenpirade	7,25	334	43	117	34	145	28	18
Terbutilazina	5,92	230	28	174	16	96	28	16
Tetraconazol	6,32	372	32	159	30	70	20	11
Tiabendazol	3,04	202	42	175	25	131	30	10
Tiacloprido	3,85	253	32	126	20	90	40	19

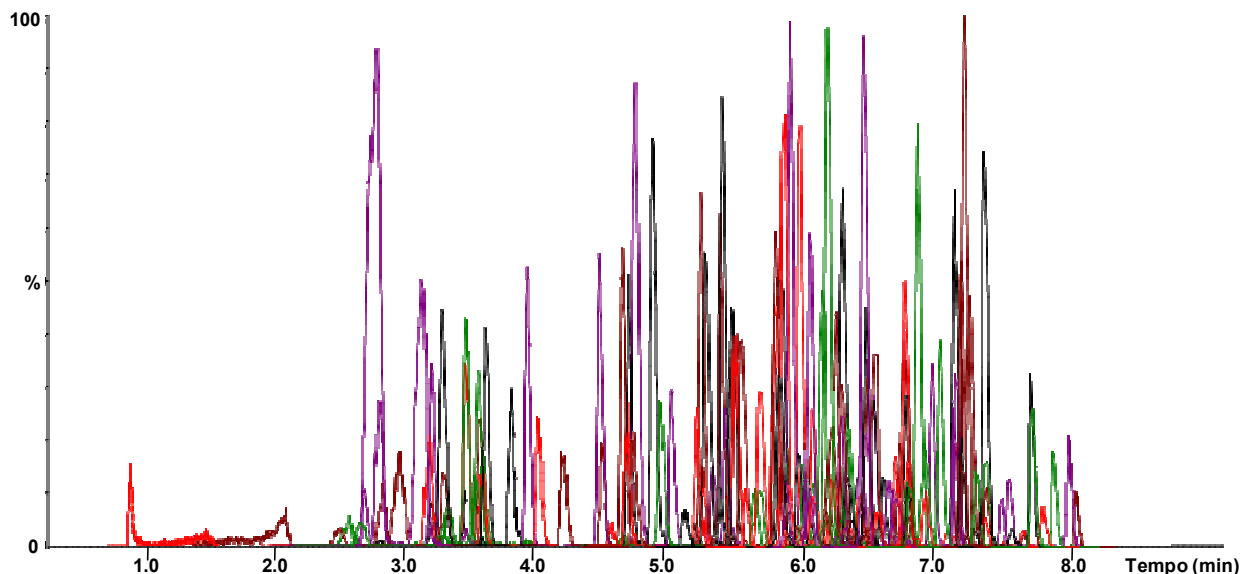
(conclusão)

Composto	$t_R$ (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Identificação		Ion ratio (%)
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)	
Tiametoxam	2,68	292	19	132	22	211	12	16
Tiobencarbe	6,88	258	21	125	17	100	12	11
Tiodicarbe	5,05	355	17	88	16	108	16	13
Tiofanato-metílico	4,63	343	23	151	21	311	11	17
Tolifluanida	6,60	347	16	137	28	238	10	18
Triadimefom	6,10	294	22	69	20	197	15	22
Triadimenol	6,23	296	12	70,2	10	99	15	25
Triazofós	6,16	314	22	162	35	119	18	18
Triclorfom	3,41	257	20	257	5	127	17	15
Tridemorfe	6,68	298	43	98	34	57	28	11
Trifenilfostato - PI	6,72	327	40	152	37	215	28	13
Trifloxistrobina	6,99	409	25	145	40	186	16	19
Triflumizol	7,05	346	13	278	10	278	10	18
Triflumurom	6,78	359	23	139	35	156	16	22
Triticonazole	6,31	318	20	70	16	125	35	23
Vamidationa	3,45	288	17	118	28	146	10	10

VC: voltagem do cone; EC: energia de colisão; PI: padrão interno; PC: padrão de controle.

A Figura 4 apresenta um cromatograma obtido a partir dos íon selecionados no modo de aquisição SRM para a solução analítica preparada no extrato da matriz de pera, com os analitos na concentração de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Figura 4** – Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS a partir de soluções preparadas no extrato da matriz de pera na concentração de  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Devido ao grande número de analitos, as faixas de aquisição foram de 0,5 min e o tempo de residência (0,01 s), favorecendo a aquisição dos dados e, desta forma, apesar da sobreposição de vários analitos, a espectrometria de massas em série (MS/MS) possibilitou a quantificação e identificação de 161 agrotóxicos em estudo em apenas 10 min de análise.

## 4.2 DESENVOLVIMENTO DOS MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM FRUTAS

### 4.2.1 Escolha da amostra “branco”

Uma vez que o método foi empregado para frutas de um mesmo grupo (Grupo 1 – Alto conteúdo aquoso), conforme a SANTÉ (2015), o procedimento de validação pode ser feito para uma das frutas em estudo.

Assim, a escolha da amostra "branco" foi baseada em ensaios de seletividade, assegurada pela ausência de interferentes com os mesmos íons de quantificação e confirmação nos mesmos tempos de retenção de cada agrotóxico.

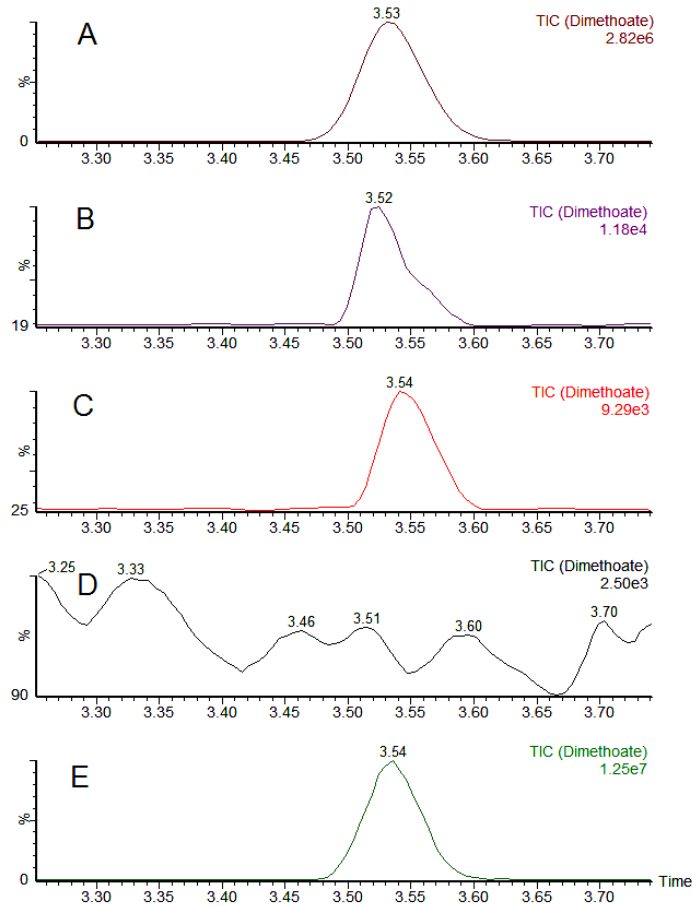
Nas quatro matrizes em estudo, apenas na pera não foi verificada a presença dos analitos acima do LOD do método ( $3,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), como pode-se verificar na Figura 5 que compara o sinal do dimetoato na solução padrão preparada em solvente (acetonitrila) na concentração  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ , com os extrato das frutas.

As demais amostras branco apresentaram os seguintes compostos:

- Ameixa: acetamiprido, carbendazim, clorfenvinfós, dimetoato, fenitrotiona, malationa, ometoato;
- Maçã: carbaril, carbendazim, clorpirifós, dimetoato, fenitrotiona, fempropatrina, iprodiona, piraclostrobina;
- Pêssego: carbendazim, carbosulfan, difenoconazol, dimetoato, ometoato, procimidona, piraclostrobina, tetraconazol, trifloxistrobina.

Sendo assim, a amostra "branco" de pera foi utilizada para construção da curva analítica e ensaios de fortificação.

**Figura 5** – Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS do composto dimetoato, obtidos da análise de A) solução padrão em solvente ( $20 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e dos extratos “branco” de B) ameixa, C) maçã, D) pera e E) pêssego.

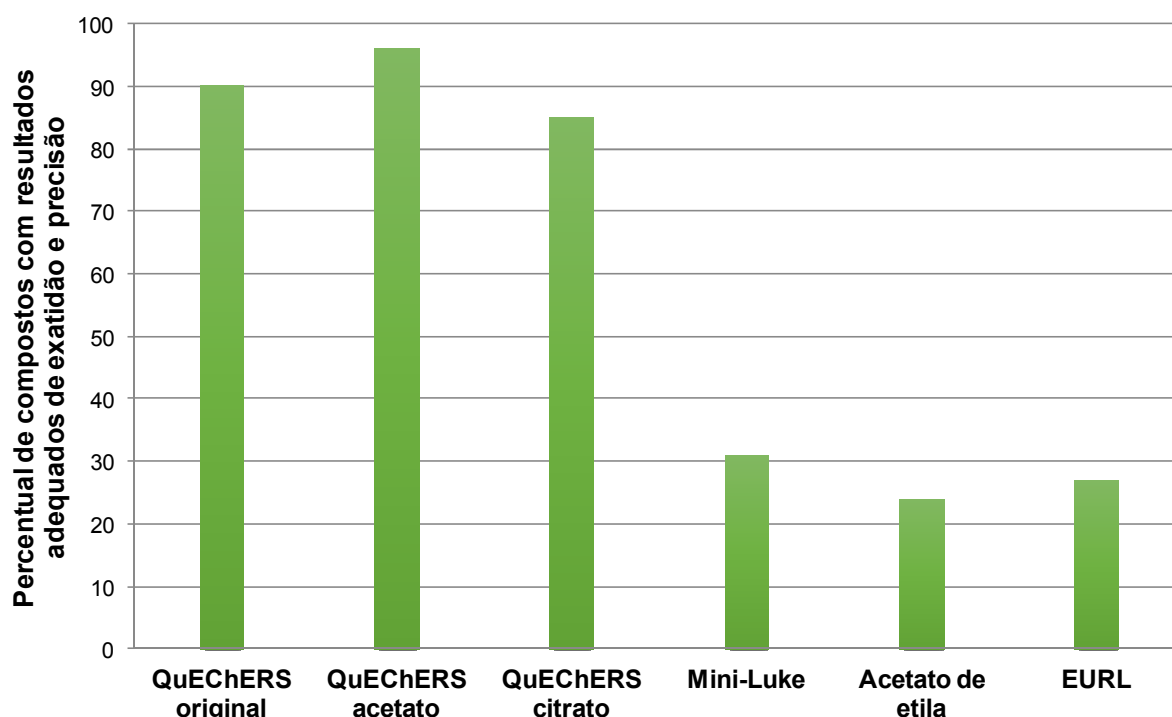


#### 4.2.2 Resultados dos experimentos

Baseando-se na literatura para análise multirresíduo de agrotóxicos, foram inicialmente realizados seis testes para avaliação da extração de agrotóxicos em frutas (Tabela 6). A Figura 6 apresenta os resultados dos testes para avaliação da etapa de extração, com o número de compostos com resultados adequados (recuperação 70-120%, RSD  $\leq 20\%$ ), avaliados em triplicata fortificando a matriz na concentração de  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$  e relacionando com curvas preparadas no extrato branco da matriz de acordo com cada teste. Após a fortificação esperou-se 5 min para executar os procedimentos de extração (BARKER, 2005).



**Figura 6** – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os primeiros testes multirresíduo avaliados.



Conforme estes resultados, o método QuEChERS acetato mostrou-se o mais adequado, sendo a modificação acetato a mais eficiente, com 156 compostos dos 161 avaliados, obtendo resultados de recuperação e RSD na faixa aceitável. O método QuEChERS acetato, em relação aos demais métodos, tem sido utilizado para uma ampla gama de agrotóxicos de diferentes classes em diversas matrizes, como frutas. Possui como diferencial a formação de um tampão acetato, com pH em torno de 4,8, que favorece a extração de analitos que apresentam diferentes polaridades, como o caso de métodos multirresíduo (LEHOTAY *et al.*, 2005a).

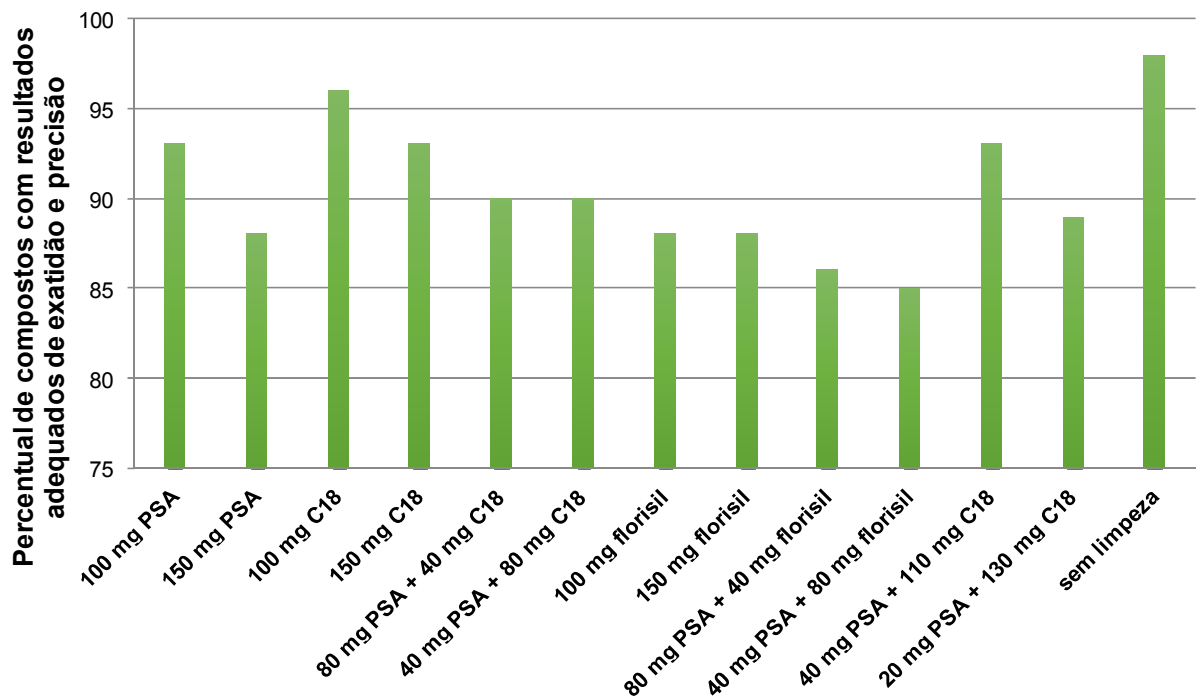
O método Mini-Luke foi originalmente desenvolvido para análises por GC, este fator traz a necessidade de uma etapa de evaporação, em que pode ocorrer perda dos analitos, causando uma diminuição nos resultados de recuperação que empregam a evaporação como é o caso dos métodos Mini-Luke, acetato de etila e oficial da EURL.

Além disso, a aplicação do método QuEChERS minimiza o manuseio da amostra, sendo um método simples e robusto para determinação de resíduos de agrotóxicos, que vem sendo aplicado na rotina do laboratório nos últimos anos com

uma modificação na massa dos sais de extração (KEMMERICH, *et al.*, 2015; RIZZETTI *et al.*, 2016).

Desta forma, procedeu-se os testes de limpeza do extrato utilizando a modificação do método QuEChERS acetato proposta por Kemmerich e colaboradores, com 4 g de  $MgSO_4$  e 1,7 g de  $CH_2COONa$  como sais de partição (KEMMERICH *et al.*, 2015). Os resultados obtidos na etapa de limpeza utilizando d-SPE com C18, PSA, florisil e sem limpeza foram similares, como mostra a Figura 7. Com base nestes resultados, investigou-se a possibilidade de proceder à extração sem a etapa de limpeza. Conforme observa-se na Figura 7, a extração sem etapa de limpeza propiciou o maior percentual de analitos com exatidão e precisão adequados, porém sua coloração era mais intensa que com as limpezas testadas.

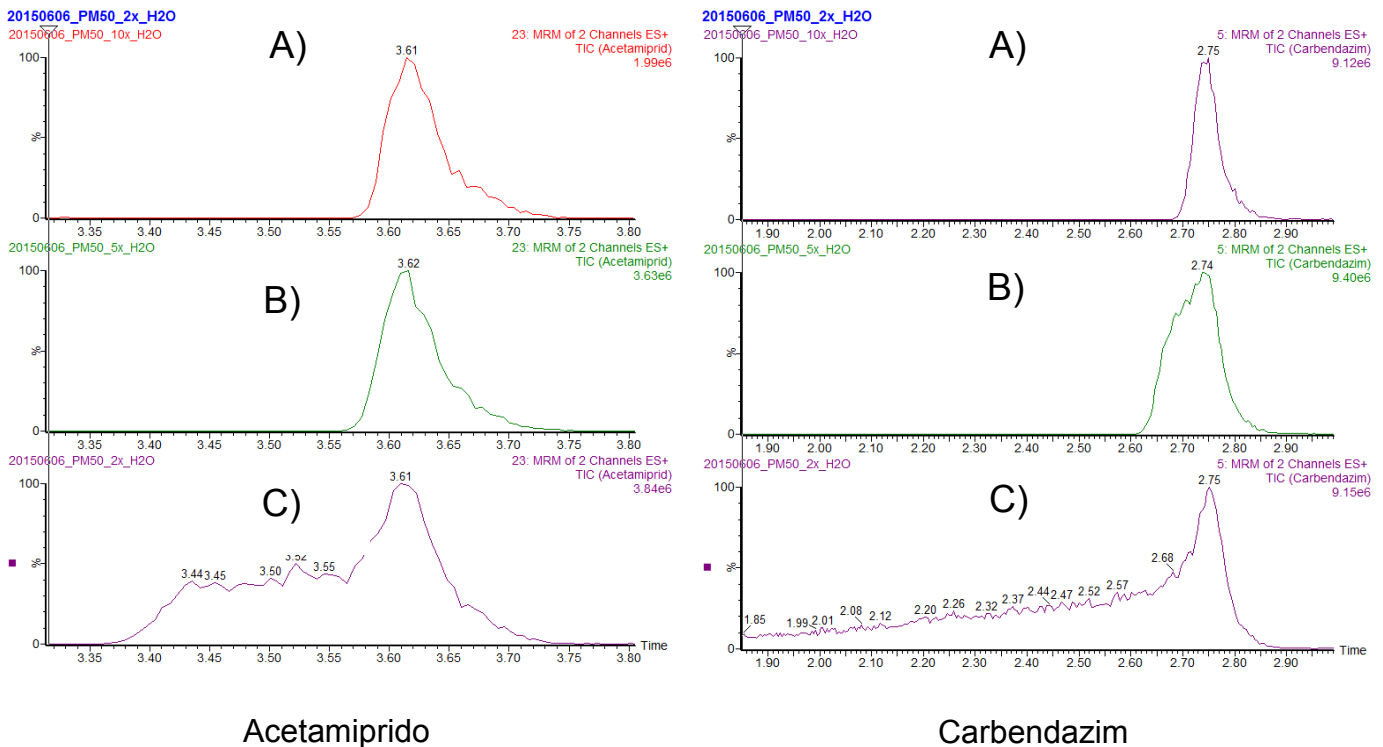
**Figura 7** – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes de limpeza do método QuEChERS acetato modificado.



Uma vez que o UHPLC possui diâmetro interno dos tubos e filtros reduzidos, este equipamento é mais suscetível à obstrução do que aqueles empregados em HPLC (MALDANER & JARDIM, 2012). Assim, para minimizar este problema, bem como o efeito matriz, foi avaliada uma maior diluição do extrato final (YANG *et al.*, 2015). Em geral, observou-se que quanto maior o fator de diluição melhor a forma

do pico e a intensidade do sinal dos compostos (Figura 8). Assim, a proporção de diluição extrato/água ultrapura 1:9 (v/v) foi selecionada para injeção no sistema UHPLC-MS/MS. Com o método desenvolvido foi possível a determinação dos 161 compostos em estudo.

**Figura 8** – Cromatograma de íon total (TIC) obtido por UHPLC-MS/MS, para os compostos acetamiprido e carbendazim preparados em branco de pera (100 µg L<sup>-1</sup>) e diluídas em água nas proporções A) 1:9, B) 1:4 e C) 1:1 (v/v).

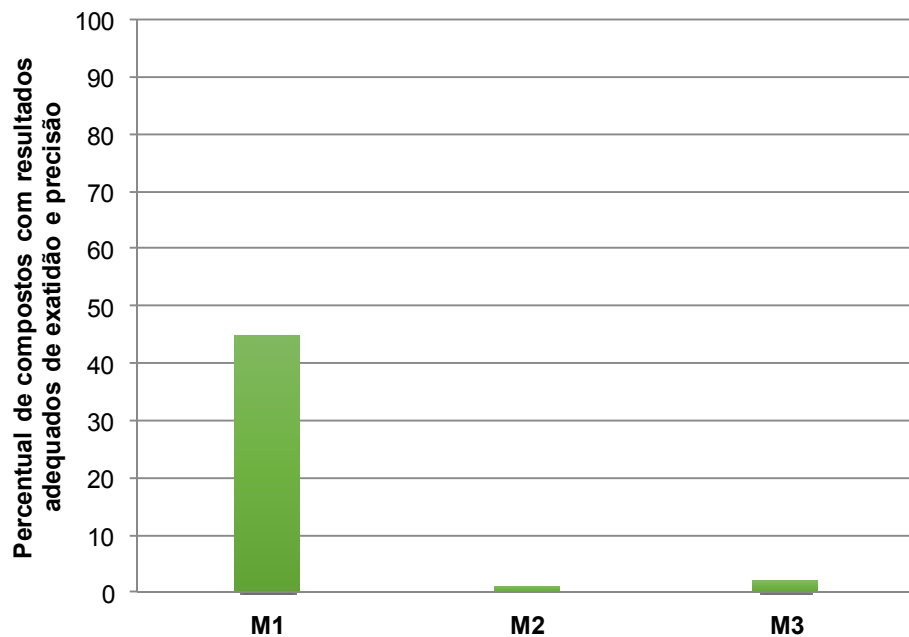


Com o intuito de melhorar a robustez da MSPD testou-se em um segundo momento a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD). As condições iniciais propostas para o método de extração MSPD foram baseadas na literatura (BARKER, 2000; RAMOS *et al.*, 2008; CALDAS *et al.*, 2013), utilizando a matriz pera para os testes de extração. Todos os testes realizados estão descritos na Tabela 7.

Os experimentos M01 a M03 foram realizados utilizando 1 g de amostra de pera fortificada a 100 µg kg<sup>-1</sup>, com 2 g de C18 homogeneizados utilizando gral e pistilo e posterior acondicionamento em cartucho de SPE, a eluição foi realizada com 9 mL de diferentes solventes 1) MeCN, 2) MeCN/MeOH, 1:1 (v/v) e 3) MeCN 1% CH<sub>3</sub>COOH (v/v).

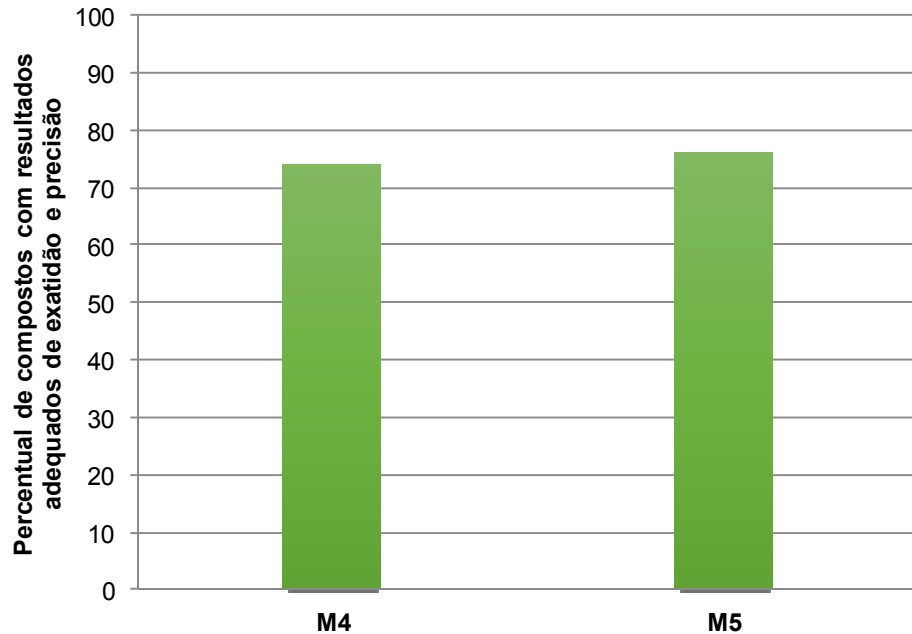
Ambos os solventes apresentam polaridades semelhantes, no entanto, a capacidade de extração de agrotóxicos empregando acetonitrila é superior ao metanol, conforme observado na Figura 9, sendo o solvente mais utilizado nos procedimentos de extração de agrotóxicos e excelente para os métodos de determinação que utilizam LC-MS/MS (PRESTES *et al.*, 2011). Ainda, baixos resultados de exatidão e precisão foram observados para a maioria dos compostos, podendo ser atribuído devido à perda dos analitos durante a transferência da amostra do gral para o cartucho de SPE (DÓRIA, 2015).

**Figura 9** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (solventes de extração).



Assim, com a realização dos experimentos M04 e M05, observou-se uma melhora no percentual de agrotóxicos com resultados adequados (Figura 10), com o uso de menor volume de solvente (4 mL) e substituição do cartucho de SPE por uma extração assistida por vortex em tubo PP, respectivamente. Resultados da MSPD demonstram que a maioria dos analitos elui nos primeiros 4 mL de solvente para 0,5 g de amostra (BARKER, 2000), assim o volume de 4 mL foi considerado adequado. Já a extração assistida por vortex e não em cartucho, possibilita ao analista uma menor exposição aos solventes e manuseio da amostra (CALDAS *et al.*, 2013).

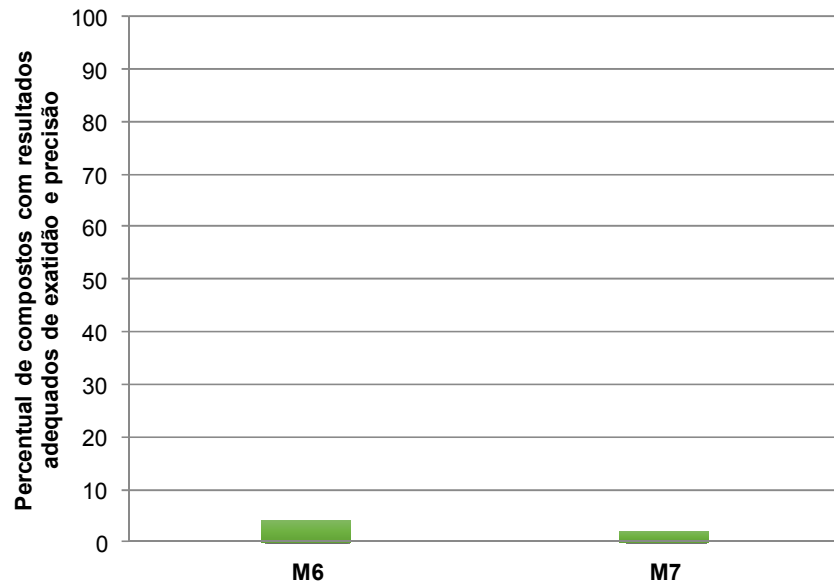
**Figura 10** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (solvente e tubo PP).



Com o objetivo de melhorar os resultados de precisão e acelerar o procedimento de homogeneização, duas alternativas foram investigadas (Experimentos M06 e M07). Em tubo de 50 mL de PP, 0,5 g de amostra e 1 g de C18 foram pesados e homogeneizados com 1) um bastão de vidro e 2) utilizando esferas metálicas e agitando vigorosamente manualmente (1 min). Observa-se na figura 11, que o percentual de analitos com bons resultados foi baixo, porém o uso de esferas metálicas melhorou a precisão do método.

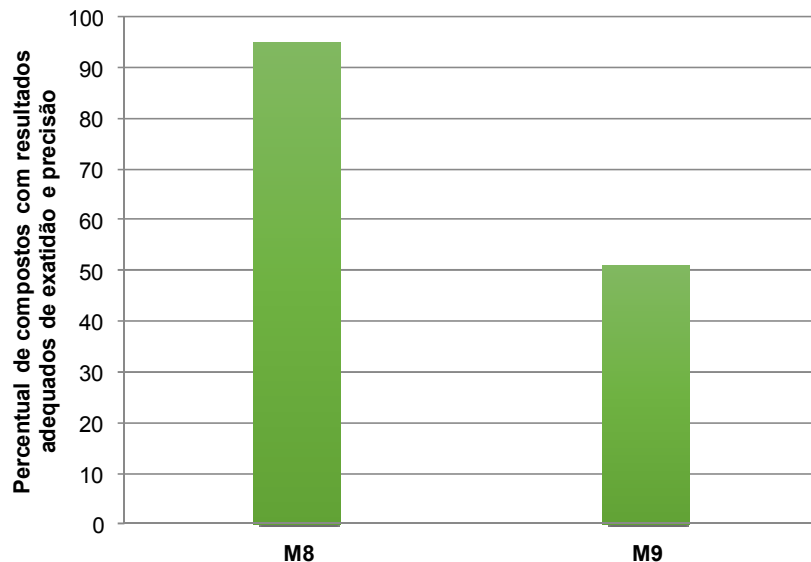
O tamanho das esferas metálicas foi previamente estudado, com diâmetros de 2, 4 e 9,5 mm. O critério adotado foi que a mistura sólida homogeneizada estivesse pulverizada e não pastosa, o que permite maior penetração do solvente no material (DÓRIA, 2015). Apenas esferas com diâmetro de 9,5 mm possibilitaram uma boa homogeneização, segundo estes critérios e, por isso, foram utilizadas na etapa de homogeneização.

**Figura 11** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (homogeneização).



Devido aos bons resultados de precisão com o emprego das esferas metálicas e do bastão de vidro, estes foram empregados também nos experimentos M08 e M09, que tiveram a etapa de extração assistida por ultrassom.

**Figura 12** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (ultrassom).



De acordo com a Figura 12, a extração assistida por ultrassom de 15 min (30 °C/ 40 Hz) (M08) foi suficiente para atingir resultados mais eficientes de recuperação para os compostos estudados, com bons resultados de precisão associados, não

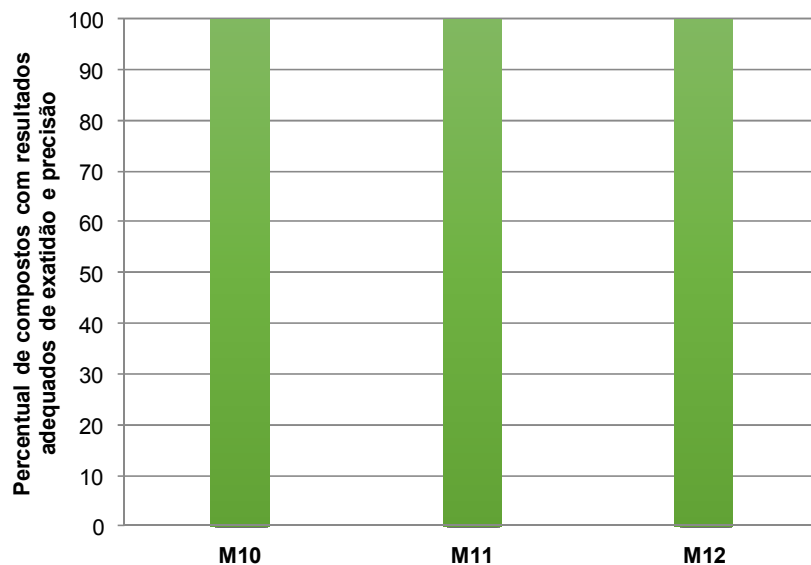
havendo necessidade de um tempo maior de exposição ao ultrassom, uma vez que a técnica de MSPD perderia a vantagem da rapidez.

Quando exposta a ondas ultrassônicas, as moléculas dos analitos e do solvente irão interagir de forma mais eficiente e rápida. O ultrassom é muito utilizado para extração de agrotóxicos pela boa eficiência de extração e pela disponibilidade dos materiais necessários, uma vez que os equipamentos utilizados são simples e de baixo custo (MORAIS *et al.*, 2013).

Quando a agitação em vortex foi substituída pela agitação manual nos experimentos M10 a M12 (Figura 13), os resultados variaram de acordo com o modo de homogeneização e tempo de ultrassom, sendo possível observar que as melhores condições a este ponto seriam uso de homogeneização com esferas metálicas e agitação manual com 15 min de ultrassom (Experimento 10).

O emprego de ultrassom para extração de resíduos de agrotóxicos é uma ótima alternativa para redução dos tempos de agitação em vortex, além da obtenção de resultados mais satisfatórios de recuperação (RAMOS *et al.*, 2008). Assim, o uso de ultrassom por 15 min na etapa de extração dos analitos foi determinante para atingir um maior número de compostos no método em desenvolvimento.

**Figura 13** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (ultrassom e homogeneização).

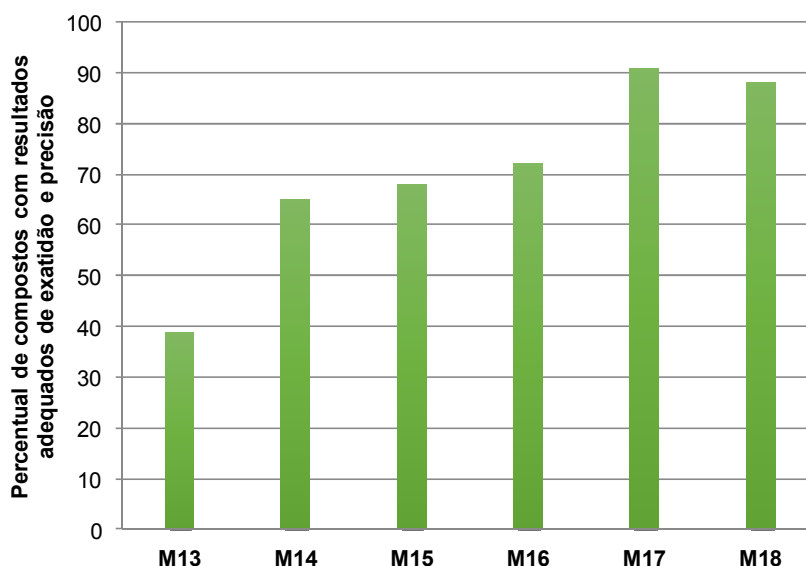


A relação típica na MSPD é a quantidade de amostra 4 vezes menor que a de solvente, entretanto outras proporções tem sido empregadas, onde a essa razão varia de 1:1 a 1:4 (HERTZOG *et al.*, 2015; CAO *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2013).

Desta forma, outras proporções amostra/sorvente e combinação com diferentes tempos no ultrassom foram testadas (experimentos M13 ao M18), com resultados apresentados na Figura 14.

Observa-se que os melhores resultados foram com o teste M17, onde empregou-se a proporção de amostra/C18 de 1:3 (m/m), extração com 10 mL de acetonitrila e 25 min no ultrassom. Ainda assim, os melhores resultados mantiveram-se sendo do experimento M10, com proporção de 1:2 (0,5 g de amostra para 1 g de C18), 4 mL de acetonitrila e 15 min no ultrassom, com as vantagens adicionais de não precisar grandes quantidades de massa de sorvente, volume de solvente e tempo no ultrassom. Outros trabalhos na literatura também reportam o uso de 0,5 g de amostra para 1 g de sorvente em MSPD, como a determinação de resíduos de agrotóxicos em peixe e caranguejo com determinação por GC-MS (CALDAS *et al.*, 2013).

**Figura 14** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (amostra, sorvente e solvente).



Apesar do C18 ser o sorvente mais utilizado em MSPD, diferentes autores relatam o emprego de sorventes alternativos, como terra diatomácea (RADIŠIĆ *et al.*, 2009; HERTZOG *et al.*, 2015) e casca de mexilhão (ROMBALDI *et al.*, 2015), entre outros.

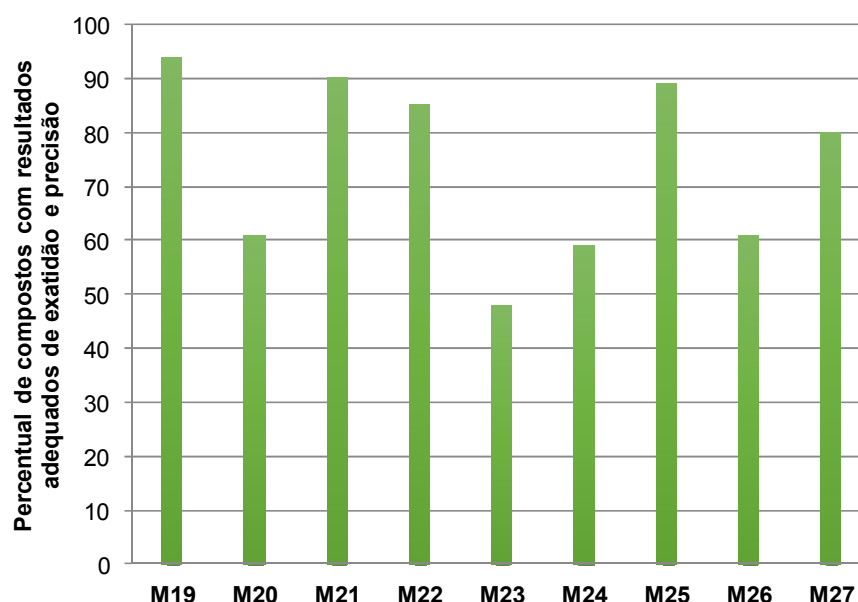
Assim, uma vez estabelecidas as proporções de amostra/sorvente, volume de solvente, modo de homogeneização e uso de extração assistida por ultrassom, além do C18 outros nove sorventes foram avaliados: alumina (M19), amino (M20), florisil



(M21), quitosana (M22), Oasis<sup>®</sup> HLB (M23), Strata X<sup>®</sup> (M24), fase fluorada (M25), PSA (M26) e sílica (M27).

Apesar da obtenção de bons resultados com outros sorventes (M19, alumina, por exemplo), como observa-se na Figura 15, o C18 continuou a ser o sorvente utilizado com resultados de exatidão e precisão mais adequados. Estes resultados condizem com a literatura, pois Barker afirma que a completa quebra celular e dispersão só ocorrem com o uso de C18 (BARKER, 2000).

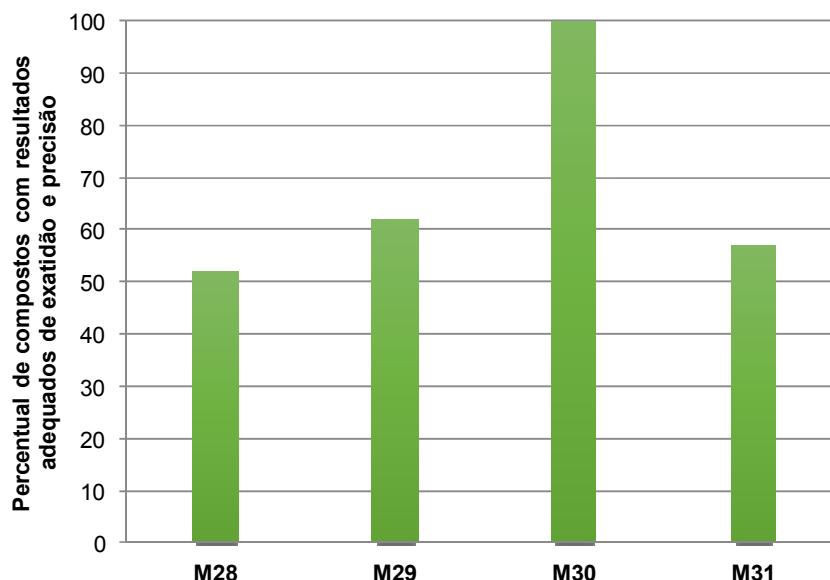
**Figura 15** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (tipos de sorventes).



Até então todos os testes estavam sendo realizados com diluição do extrato final em água ultrapura na relação de 1:4 (v/v) (KEMMERICH *et al.*, 2015). A fim de reduzir o fator de diluição do método e alcançar um menor valor de LOQ, foram realizados quatro testes (experimentos M28 a M31): 1) evaporação de 4 mL de extrato com fluxo suave de N<sub>2</sub>, redissolução da amostra em 1 mL de MeCN e diluição com água ultrapura 1:4 (v/v), 2) uso de 2 mL de MeCN na extração e diluição com água ultrapura 1:4 (v/v), 3) uso de 2 mL de MeCN na extração e diluição com água ultrapura 1:1 (v/v) e 4) injeção de 5  $\mu$ L do extrato sem diluição.

De acordo com a Figura 16, pode-se perceber que com o terceiro teste (M30) obteve-se um maior número de compostos com resultados adequados de exatidão e precisão, 131 no total. Desta forma o experimento M30 foi escolhido para a etapa de validação do método.

**Figura 16** - Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20%, obtidos para os testes com MSPD (fator de diluição do extrato final).



### 4.3 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS

#### 4.3.1 Validação do método QuEChERS modificado

Os dados de validação para matriz pera para o método QuEChERS são apresentados na Tabela 9 e para as demais frutas na Tabela 10. A seletividade do método foi assegurada pela ausência de compostos interferentes com o mesmo tempo de retenção, íons de quantificação e de confirmação de cada agrotóxico. A linearidade foi obtida em curvas preparadas no extrato da matriz de 5 a 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , apresentando coeficiente de determinação ( $r^2$ ) entre 0,990 e 0,999 (Tabela 9).

Todos os compostos apresentaram efeito de matriz positivo significativo (acima de  $\pm 20\%$ ), como pode ser observado na Tabela 9. Em métodos que não utilizam a etapa de limpeza do extrato, mas apenas a diluição deste, tendem a produzir aumento de sinal (YANG *et al.*, 2015). Assim, a calibração na matriz (MMC, do inglês *matrix matched calibration*) foi realizada com soluções de analito preparadas nos extratos de matriz em branco (ameixa, maçã, pera e pêssigo).

Observou-se que o EM para a maçã foi menor que para as demais, enquanto que o EM da ameixa foi maior. De acordo com a composição das frutas (Tabela 1), a

maçã possui menor massa de proteínas, que pode ter co-eluído com os analitos, em menor proporção para a maçã. Já o elevado valor de EM da ameixa pode ser atribuído à maior presença de pigmentos, que também podem ter co-eluído com os analitos na análise de amostras de ameixa, aumentando seu EM.

Verificou-se ainda a exatidão e precisão (repetitividade) do método, nos níveis de 10, 50 e 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , com resultados de recuperação entre 70-120% e RSD  $\leq$  20% para todos os analitos. Para as demais matrizes (ameixa, maçã e pêssigo), a exatidão e precisão foram avaliadas apenas no nível LOQ (10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), obtendo também resultados aceitáveis.

Para o limite de quantificação (LOQ), foi considerado o nível mais baixo com exatidão e precisão aceitáveis (SANTÉ, 2015). Assim, todos os compostos estudados apresentaram LOQ de 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e respectivo LOD de 3,33  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Desta forma, os resultados de validação do método QuEChERS acetato modificado mostraram-se satisfatórios para análise multirresíduo de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssigo com análise por UHPLC-MS/MS.

**Tabela 9** – Resultados de validação do método QuEChERS: linearidade (coeficiente de determinação,  $r^2$ ), efeito matriz (EM %), limite de quantificação (LOQ), exatidão (recuperação, %) e precisão (RSD, %) para matriz pera.

(continua)

Compostos	$r^2$	EM (%)	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
3-OH Carbofurano	0,995	404	94 (16)	90 (13)	81 (3)	99 (16)	90 (14)	76 (12)
Acetamiprido	0,999	464	86 (6)	83 (2)	76 (4)	103 (15)	94 (9)	84 (7)
Ametrina	0,999	409	94 (3)	85 (3)	81 (4)	90 (16)	88 (4)	83 (8)
Atrazina	0,999	401	93 (5)	84 (5)	79 (3)	91 (15)	94 (6)	87 (12)
Azaconazol	0,998	320	92 (8)	89 (2)	82 (5)	95 (11)	105 (6)	86 (6)
Azimsulfurom	0,999	218	92 (10)	87 (2)	84 (4)	100 (20)	95 (10)	86 (4)
Azinfós etílico	0,991	337	120 (17)	100 (16)	80 (20)	120 (13)	93 (16)	77 (9)
Azinfós metílico	0,993	164	100 (13)	83 (6)	80 (9)	108 (7)	99 (15)	89 (12)
Azoxistrobina	0,996	383	93 (7)	77 (2)	80 (7)	91 (19)	89 (4)	87 (11)
Bentazona	0,994	591	75 (20)	71 (20)	72 (19)	74 (19)	94 (11)	79 (10)
Bifentrina	0,998	797	110 (11)	102 (9)	82 (18)	86 (13)	92 (15)	94 (11)
Bispiribaque sódico	0,996	1957	101 (4)	94 (3)	85 (5)	98 (18)	94 (13)	84 (11)
Boscalida	0,995	242	112 (8)	107 (1)	87 (3)	99 (15)	115 (12)	87 (7)
Bromuconazol	0,993	431	101 (16)	100 (16)	91 (3)	90 (20)	100 (9)	92 (15)
Bupirimato	0,994	577	95 (14)	90 (11)	85 (4)	70 (17)	90 (10)	82 (14)
Buprofezina	0,996	1125	89 (10)	88 (4)	83 (7)	93 (19)	84 (12)	85 (16)
Carbaril	0,997	411	85 (6)	72 (3)	70 (5)	71 (3)	86 (17)	98 (11)

(continuação)

Compostos	r <sup>2</sup>	EM (%)	Níveis de fortificação (µg kg <sup>-1</sup> )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Carbendazim*	0,998	332	88 (3)	80 (2)	74 (2)	98 (10)	99 (12)	86 (5)
Carbofurano	0,993	540	88 (7)	81 (2)	72 (4)	89 (15)	86 (9)	81 (8)
Carboxina	0,995	496	73 (5)	70 (2)	70 (5)	80 (20)	78 (20)	76 (19)
Cianazina	0,997	303	89 (4)	80 (5)	75 (6)	101 (7)	102 (9)	85 (7)
Ciazofamida	0,992	389	84 (18)	110 (9)	93 (17)	93 (20)	70 (16)	87 (4)
Cimoxanil	0,998	1532	77 (12)	74 (2)	70 (3)	75 (10)	86 (10)	82 (13)
Ciproconazol	0,998	605	116 (16)	91 (9)	87 (11)	106 (12)	96 (12)	81 (10)
Ciprodinil	0,991	841	100 (16)	89 (4)	88 (11)	95 (14)	105 (11)	85 (10)
Clofentezina	0,991	388	104 (17)	98 (16)	115 (10)	92 (18)	71 (17)	79 (20)
Clomazone	0,999	100	101 (5)	98 (6)	90 (5)	105 (6)	89 (10)	99 (11)
Clorantraniliprol	0,998	125	99 (11)	93 (5)	88 (8)	76 (8)	99 (17)	78 (16)
Clorbromurom	0,997	419	87 (13)	87 (17)	75 (5)	70 (20)	98 (16)	107 (8)
Clorfenvinfós	0,993	422	95 (18)	87 (17)	94 (8)	72 (19)	75 (20)	76 (19)
Clorimurom etílico	0,995	151	105 (5)	93 (9)	87 (5)	89 (11)	81 (10)	80 (10)
Clorpirifós	0,995	2258	83 (18)	84 (16)	81 (14)	83 (18)	91 (16)	78 (8)
Clorpirifós metílico	0,998	336	91 (9)	76 (13)	77 (15)	70 (13)	103 (20)	120 (14)
Clotianidina	0,997	209	82 (8)	98 (7)	84 (7)	99 (18)	92 (17)	87 (9)
Cresoxim metílico	1,000	439	90 (15)	103 (10)	94 (12)	120 (15)	94 (18)	107 (20)
Deltametrina	0,990	589	95 (17)	113 (5)	89 (7)	103 (16)	98 (18)	84 (15)
Demetom sulfona	0,998	406	93 (3)	85 (6)	78 (2)	102 (12)	99 (11)	91 (6)
Desmedifam	0,995	399	92 (9)	88 (4)	81 (7)	89 (17)	93 (6)	92 (12)
Diazinona	0,993	622	88 (16)	73 (3)	72 (11)	92 (16)	73 (19)	78 (13)
Diclofluanida	0,997	405	83 (16)	72 (19)	71 (10)	72 (15)	87 (8)	72 (10)
Diclorvós	1,000	494	90 (9)	85 (7)	80 (3)	99 (16)	96 (14)	87 (10)
Dicrotofós	0,998	409	79 (16)	70 (5)	71 (4)	100 (14)	100 (14)	81 (11)
Difenoconazol	0,999	306	102 (9)	88 (11)	87 (6)	86 (13)	88 (9)	85 (12)
Dimetenamida	0,998	254	90 (10)	83 (3)	76 (7)	97 (19)	105 (12)	88 (17)
Dimetoato	0,998	342	88 (10)	83 (8)	72 (3)	91 (16)	96 (13)	89 (16)
Dimetomorfe	0,995	319	86 (8)	90 (4)	87 (7)	99 (15)	90 (12)	80 (10)
Dimoxistrobina	0,999	444	84 (15)	86 (4)	85 (12)	101 (11)	79 (15)	85 (15)
Diniconazol	0,996	2914	105 (13)	94 (15)	81 (7)	72 (9)	111 (18)	100 (20)
Diurom	0,997	494	92 (2)	81 (4)	79 (4)	92 (18)	95 (12)	83 (5)
Dodemorfe	0,999	612	93 (8)	87 (4)	84 (8)	80 (3)	91 (17)	89 (10)
Epoxiconazol	0,994	1217	100 (10)	95 (5)	93 (6)	91 (16)	93 (17)	76 (10)
Espinosade A	0,993	1050	85 (16)	97 (6)	86 (15)	116 (16)	75 (15)	86 (17)
Espirodiclofem	0,999	676	99 (18)	80 (7)	76 (5)	93 (14)	87 (12)	81 (13)
Etiofencarbe sulfona	0,998	333	85 (7)	79 (4)	75 (4)	96 (14)	106 (19)	86 (6)
Etiofencarbe sulfóxido	0,997	367	84 (9)	79 (5)	71 (4)	93 (12)	100 (16)	92 (5)
Etiprole	0,990	198	82 (9)	92 (8)	70 (6)	93 (20)	120 (20)	100 (12)
Etofenproxi	0,993	4459	85 (10)	77 (15)	78 (6)	112 (12)	95 (11)	101 (17)
Etoprofós	0,995	348	85 (7)	80 (17)	73 (9)	84 (20)	76 (12)	84 (16)
Etoxisulfurom	0,997	421	94 (15)	89 (11)	82 (7)	100 (15)	82 (16)	78 (10)
Fenamifós	0,996	284	99 (11)	77 (11)	72 (7)	99 (17)	89 (15)	90 (16)
Fenarimol	0,993	376	108 (16)	85 (11)	75 (11)	80 (8)	97 (14)	79 (13)

(continuação)

Compostos	r <sup>2</sup>	EM (%)	Níveis de fortificação (µg kg <sup>-1</sup> )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Fenazaquim	0,997	47005	85 (16)	80 (3)	81 (9)	73 (7)	82 (8)	101 (12)
Fenbuconazol	0,998	264	92 (14)	106 (19)	75 (9)	75 (15)	101 (12)	73 (14)
Fenhexamida	0,997	1717	117 (19)	100 (11)	79 (9)	73 (19)	93 (15)	88 (13)
Fenoxicarbe	0,992	535	86 (13)	100 (6)	74 (13)	73 (20)	119 (9)	107 (20)
Fenpiroximato	0,993	615	82 (8)	77 (9)	78 (7)	100 (15)	90 (6)	85 (12)
Fenpropatrina	0,998	624	82 (10)	76 (6)	85 (5)	93 (20)	71 (20)	88 (7)
Fenpropimorfe	0,999	775	89 (17)	85 (7)	81 (5)	87 (16)	93 (10)	86 (7)
Fentiona	0,992	460	102 (15)	109 (6)	90 (12)	70 (10)	70 (12)	76 (19)
Fluazifope P-butílico	0,997	301	94 (7)	77 (3)	84 (4)	98 (16)	98 (9)	89 (16)
Flufenoxurom	0,996	1226	98 (8)	98 (6)	90 (4)	89 (6)	88 (16)	83 (6)
Fluquinconazol	0,997	307	116 (8)	96 (2)	85 (11)	99 (19)	93 (20)	83 (9)
Fluroxipir	0,997	233	71 (20)	72 (15)	78 (9)	86 (14)	72 (15)	79 (13)
Flusilazole	0,997	434	101 (10)	92 (7)	76 (9)	103 (16)	82 (11)	85 (10)
Flutolanil	0,998	15352	99 (6)	89 (2)	78 (6)	90 (15)	103 (13)	99 (8)
Flutriafol	0,997	745	96 (12)	88 (2)	82 (4)	90 (17)	83 (17)	86 (13)
Fosmete	0,999	299	92 (5)	87 (7)	83 (6)	82 (13)	102 (7)	90 (9)
Furatiocarbe	0,996	208	85 (14)	90 (4)	85 (3)	101 (10)	107 (13)	98 (12)
Hexaconazol	0,995	2868	81 (12)	80 (7)	77 (8)	119 (20)	88 (16)	104 (15)
Hexitiazoxi	0,998	595	87 (18)	95 (2)	78 (9)	108 (16)	95 (14)	100 (7)
Imazalil	0,996	633	93 (13)	78 (10)	73 (4)	83 (16)	70 (11)	89 (11)
Imidacloprido	0,995	439	83 (11)	85 (10)	77 (4)	87 (17)	92 (11)	83 (12)
Iprovalicarbe	0,993	162	96 (13)	88 (10)	85 (6)	104 (18)	74 (14)	84 (15)
Linurom	0,997	456	86 (13)	87 (7)	75 (3)	84 (16)	106 (3)	91 (7)
Lufenurom	1,000	2562	112 (15)	91 (12)	99 (15)	97 (11)	115 (20)	92 (15)
Malationa	0,996	571	81 (20)	74 (11)	70 (10)	73 (20)	73 (20)	77 (16)
Mecarbam	0,992	190	88 (20)	76 (13)	71 (7)	120 (13)	104 (13)	95 (14)
Mefosfolam	0,997	420	87 (6)	79 (2)	74 (6)	94 (12)	89 (6)	83 (8)
Mepronil	0,998	798	100 (5)	87 (3)	78 (3)	86 (9)	118 (8)	104 (15)
Metalaxil	0,998	315	85 (11)	80 (12)	73 (4)	71 (12)	83 (14)	90 (11)
Metamidofós	0,996	505	73 (10)	71 (2)	70 (12)	86 (13)	86 (12)	84 (10)
Metconazol	0,995	1933	99 (9)	83 (5)	87 (7)	86 (8)	70 (20)	78 (14)
Metidationa	0,996	358	88 (14)	80 (14)	71 (14)	105 (20)	86 (20)	78 (14)
Metiocarbe sulfona	0,990	393	96 (15)	81 (11)	73 (7)	70 (10)	86 (16)	98 (15)
Metiocarbe sulfóxido	0,999	396	89 (11)	81 (9)	71 (7)	106 (13)	100 (12)	85 (7)
Metobromurom	0,999	407	90 (5)	83 (6)	80 (4)	74 (11)	86 (17)	79 (10)
Metolacloro	0,996	1240	89 (11)	87 (6)	74 (12)	98 (17)	95 (8)	101 (18)
Metomil	0,999	462	73 (20)	70 (13)	73 (20)	74 (20)	70 (18)	87 (14)
Metoxifenoazida	0,992	132	92 (4)	88 (8)	85 (11)	72 (20)	77 (12)	70 (8)
Metoxurom	0,998	398	87 (9)	78 (1)	70 (2)	83 (18)	88 (13)	80 (12)
Metribuzim	0,993	676	72 (13)	70 (14)	70 (9)	120 (20)	73 (17)	74 (10)
Metsulfurom metílico	0,991	173	87 (12)	79 (4)	72 (7)	98 (9)	80 (7)	82 (6)
Mevinfós	0,994	600	82 (11)	75 (3)	71 (4)	92 (17)	81 (13)	92 (12)
Monocrotofós	0,992	400	76 (8)	80 (3)	71 (2)	98 (14)	93 (14)	86 (17)
Monolinurom	0,998	1023	89 (6)	83 (8)	76 (2)	75 (12)	89 (6)	80 (9)

(continuação)

Compostos	r <sup>2</sup>	EM (%)	Níveis de fortificação (µg kg <sup>-1</sup> )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Nitenpiram	0,998	485	71 (11)	70 (7)	71 (6)	101 (20)	70 (8)	94 (18)
Nuarimol	0,997	349	89 (13)	86 (14)	78 (3)	96 (16)	105 (16)	87 (13)
Ometoato	0,997	462	81 (3)	81 (7)	73 (20)	85 (16)	78 (16)	74 (9)
Oxamil	0,999	275	73 (13)	70 (14)	70 (8)	99 (12)	71 (8)	90 (13)
Oxifluorfem	0,999	1908	81 (16)	118 (17)	93 (13)	120 (3)	118 (18)	71 (19)
Paraoxom etílico	0,999	345	90 (6)	89 (2)	80 (3)	107 (13)	93 (8)	84 (6)
Parationa	0,996	549	104 (19)	114 (13)	90 (17)	106 (11)	100 (18)	89 (19)
Parationa metílica	0,998	561	115 (3)	72 (2)	85 (11)	71 (20)	70 (20)	90 (18)
Pencicuirom	0,991	220	90 (20)	95 (3)	94 (9)	82 (20)	100 (20)	91 (10)
Penconazol	0,999	240	106 (8)	109 (14)	100 (13)	93 (14)	114 (19)	115 (16)
Pendimetalina	1,000	519	105 (8)	96 (17)	83 (13)	120 (5)	117 (14)	99 (19)
Picoxistrobina	0,998	133	91 (17)	90 (1)	101 (18)	79 (14)	105 (17)	78 (17)
Pimetrozina	0,997	511	79 (11)	76 (1)	70 (1)	72 (15)	73 (6)	72 (4)
Piraclostrobina	0,998	498	72 (19)	76 (9)	73 (13)	83 (13)	81 (15)	108 (14)
Pirazofós	0,999	268	88 (16)	91 (16)	79 (12)	90 (15)	95 (15)	95 (15)
Pirazosulfurom etílico	0,999	149	104 (7)	96 (10)	90 (7)	104 (19)	99 (9)	87 (18)
Piridabem	0,990	775	77 (10)	74 (1)	71 (4)	93 (17)	88 (11)	81 (11)
Piridafentiona	0,998	344	98 (10)	89 (8)	82 (4)	120 (14)	116 (15)	96 (14)
Piridato	0,997	1432	90 (9)	96 (7)	80 (7)	98 (12)	91 (15)	94 (14)
Pirifenox	0,999	291	93 (10)	85 (4)	86 (2)	73 (7)	71 (7)	75 (10)
Pirimetanil	0,999	2504	90 (5)	86 (3)	79 (2)	81 (11)	94 (16)	87 (11)
Pirimicarbe	0,993	938	70 (13)	73 (7)	82 (19)	78 (17)	70 (19)	106 (17)
Pirimifós etílico	0,999	719	88 (9)	89 (7)	85 (6)	95 (12)	85 (13)	84 (12)
Pirimifós metílico	0,992	1810	94 (19)	86 (12)	76 (9)	100 (14)	81 (18)	85 (13)
Piriproxifem	0,997	1412	76 (8)	71 (9)	70 (4)	79 (20)	71 (12)	80 (12)
Procimidona	0,999	154	81 (20)	117 (13)	102 (7)	92 (15)	118 (19)	77 (8)
Profenofós	1,000	327	80 (14)	97 (6)	90 (2)	102 (18)	90 (19)	86 (15)
Prometrina	0,997	385	89 (11)	82 (7)	77 (5)	96 (15)	92 (17)	85 (9)
Propanil	0,997	563	99 (9)	88 (11)	77 (4)	103 (12)	92 (17)	82 (11)
Propiconazol	0,997	301	86 (14)	93 (8)	86 (3)	83 (12)	100 (14)	77 (5)
Propoxur	0,995	432	81 (12)	74 (6)	70 (6)	86 (17)	89 (12)	87 (17)
Quinalfós	0,995	347	73 (11)	75 (2)	76 (9)	78 916)	81 (14)	103 (15)
Quinoxifem	1,000	846	84 (9)	90 (10)	77 (3)	84 (15)	80 (6)	83 (17)
Simazina	0,991	1082	77 (6)	78 (8)	72 (5)	72 (13)	80 (14)	76 (10)
Tebuconazol	0,994	1417	90 (9)	101 (6)	95 (5)	118 (11)	117 (11)	84 (10)
Tebufozida	0,994	129	80 (15)	103 (11)	84 (10)	85 914)	82 (14)	85 (18)
Tebufofenpirade	0,998	501	94 (17)	83 (19)	83 (8)	78 (11)	74 (7)	81 (13)
Terbutilazina	0,998	448	91 (6)	84 (2)	78 (5)	85 (18)	88 (16)	87 (9)
Tetraconazol	0,994	393	112 (16)	92 (12)	86 (4)	75 (6)	104 (13)	90 (11)
Tiabendazol	0,998	288	86 (3)	82 (4)	77 (2)	106 (8)	96 (9)	87 (7)
Tiacloprido	0,998	456	88 (2)	83 (2)	79 (3)	98 (11)	93 (7)	87 (5)
Tiametoxam	0,999	1161	93 (8)	89 (3)	75 (4)	111 (10)	100 (8)	90 (6)
Tiobencarbe	0,997	509	84 (15)	86 (8)	74 (3)	97 (13)	81 (17)	87 (11)
Tiodicarbe	0,993	1079	87 (10)	80 (11)	75 (5)	93 (17)	100 (19)	106 (18)

(conclusão)

Compostos	r <sup>2</sup>	EM (%)	Níveis de fortificação (µg kg <sup>-1</sup> )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Tiofanato metílico	0,993	222	82 (5)	77 (3)	72 (10)	76 (16)	80 (10)	78 (11)
Tolilfluanida	0,991	433	72 (11)	94 (8)	74 (11)	78 (16)	83 (12)	83 (15)
Triadimefom	0,997	2057	100 (18)	102 (18)	79 (6)	84 (17)	99 (17)	84 (10)
Triadimenol	0,992	610	77 (10)	72 (14)	71 (17)	93 (8)	73 (7)	106 (16)
Triazofós	0,998	304	93 (8)	77 (2)	76 (4)	92 (11)	99 (17)	105 (14)
Triclorfom	0,993	243	95 (9)	91 (3)	82 (5)	91 (10)	94 (15)	85 (6)
Tridemorfe	0,992	14334	81 (20)	71 (11)	86 (9)	114 (4)	76 (130)	84 (9)
Trifloxistrobina	0,992	394	89 (18)	70 (3)	81 (11)	89 (14)	76 (6)	80 (9)
Triflumizol	0,995	288	97 (10)	79 (4)	70 (8)	76 (18)	74 (7)	78 (12)
Triflumurom	0,993	215	86 (20)	94 (9)	78 (12)	113 (19)	77 (17)	82 (16)
Triticonazol	0,994	1657	77 (14)	101 (15)	86 (14)	99 (6)	73 (20)	79 (19)
Vamidotiona	0,995	1680	98 (9)	85 (8)	81 (4)	90 (17)	89 (12)	82 (8)

Carbendazim = soma de carbendazim e benomil.

**Tabela 10** – Resultados de validação para o método QuEChERS para matrizes ameixa, maçã e pêsego: linearidade ( $r^2$ ), efeito matriz (%), exatidão (em termos de recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária)

(continua)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$
3-OH Carbofurano	0,998	586	91 (14)	88 (9)	0,998	162	108 (20)	115 (20)	0,998	323	120 (14)	77 (12)
Acetamiprido	0,995	673	102 (8)	89 (9)	0,999	186	120 (6)	109 (10)	0,995	371	92 (8)	93 (5)
Ametrina	0,993	593	115 (6)	96 (2)	0,999	164	78 (18)	88 (14)	0,993	300	89 (12)	84 (5)
Atrazina	0,995	581	101 (6)	90 (11)	0,999	160	91 (17)	94 (15)	0,991	321	94 (11)	79 (3)
Azaconazol	0,998	460	83 (15)	86 (4)	0,999	128	93 (13)	105 (12)	1,000	256	80 (7)	91 (15)
Azimsulfurom	0,998	312	83 (8)	94 (7)	0,997	80	102 (17)	97 (17)	0,998	174	110 (11)	94 (6)
Azinfós etílico	0,993	489	71 (19)	77 (11)	0,999	135	106 (18)	109 (12)	0,992	270	84 (12)	87 (12)
Azinfós metílico	0,997	238	87 (10)	114 (12)	0,996	66	120 (20)	107 (14)	0,991	131	94 (11)	96 (14)
Azoxistrobina	0,993	555	96 (14)	105 (8)	0,998	153	96 (16)	91 (18)	0,998	306	101 (16)	90 (11)
Bentazona	0,992	857	74 (19)	70 (8)	0,994	236	103 (13)	106 (7)	0,992	410	98 (11)	85 (4)
Bifentrina	0,999	1156	117 (12)	92 (19)	0,999	319	85 (15)	109 (18)	1,000	638	83 (8)	70 (17)
Bispiribaque sódico	0,999	2838	93 (9)	95 (10)	0,990	783	120 (10)	105 (15)	0,995	1566	81 (8)	90 (10)
Boscalida	0,998	351	101 (19)	98 (4)	0,991	97	98 (20)	83 (19)	0,999	194	88 (7)	82 (14)
Bromuconazol	0,993	621	95 (17)	96 (16)	0,993	172	98 (20)	109 (20)	0,992	345	87 (3)	87 (17)
Bupirimato	0,994	837	103 (14)	72 (1)	0,993	231	99 (13)	74 (19)	0,999	462	94 (3)	95 (18)
Buprofezina	0,995	1631	75 (18)	75 (16)	0,996	450	116 (20)	96 (20)	0,999	900	100 (10)	94 (8)
Carbaril	0,999	596	103 (13)	107 (16)	0,996	164	71 (19)	74 (8)	0,993	329	89 (15)	72 (19)
Carbendazim*	0,996	481	101 (3)	92 (5)	0,997	133	102 (15)	106 (12)	0,995	266	95 (10)	75 (20)
Carbofurano	0,995	783	112 (10)	94 (2)	0,994	216	93 (18)	107 (11)	0,998	432	81 (10)	76 (19)



(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>
Carboxina	0,995	719	86 (7)	76 (7)	0,998	198	89 (18)	70 (9)	0,993	397	83 (18)	74 (2)
Cianazina	0,997	439	82 (16)	102 (7)	0,997	121	96 (19)	115 (18)	0,995	242	76 (12)	87 (8)
Ciazofamida	0,999	564	92 (18)	89 (20)	0,997	156	89 (13)	83 (9)	0,999	311	98 (7)	72 (10)
Cimoxanil	0,994	2221	95 (14)	92 (8)	0,997	613	97 (18)	103 (13)	0,996	1226	95 (18)	86 (8)
Ciproconazol	0,997	877	90 (18)	111 (10)	0,993	242	117 (20)	119 (15)	0,998	484	82 (8)	90 (4)
Ciprodinil	0,991	1212	105 (19)	103 (12)	0,992	336	76 (19)	82 (20)	0,997	673	71 (3)	87 (7)
Clofentezina	0,992	560	97 (18)	82 (15)	0,995	155	105 (9)	92 (11)	0,998	310	84 (15)	72 (9)
Clomazone	1,000	150	99 (5)	110 (6)	1,000	80	85 (7)	90 (2)	0,999	120	88 (4)	94 (3)
Clorrantraniliprol	0,999	181	103 (15)	98 (9)	0,998	50	111 (9)	76 (18)	0,994	100	75 (6)	71 (10)
Clorbromurom	0,993	608	100 (13)	109 (13)	0,993	168	85 (19)	85 (20)	0,997	335	88 (7)	70 (3)
Clorfenvinfós	0,997	612	106 (18)	114 (8)	0,996	169	71 (18)	73 (17)	0,993	338	93 (17)	75 (10)
Clorimurom etílico	1,000	219	113 (13)	81 (3)	0,994	40	91 (15)	77 (11)	0,992	121	95 (14)	86 (10)
Clorpirifós	0,999	3274	82 (18)	76 (8)	0,995	903	119 (18)	102 (12)	0,999	1806	83 (7)	82 (13)
Clorpirifós metílico	0,999	487	120 (15)	87 (14)	0,991	134	117 (3)	79 (6)	0,999	260	85 (6)	83 (16)
Clotianidina	0,994	303	72 (20)	70 (9)	0,995	84	109 (14)	82 (15)	0,993	167	78 (8)	72 (15)
Cresoxim metílico	0,997	637	117 (13)	108 (17)	0,997	176	92 (3)	94 (1)	0,997	351	84 (16)	71 (12)
Deltametrina	0,999	854	105 (9)	109 (12)	0,995	236	119 (18)	74 (19)	0,997	471	76 (7)	99 (15)
Demetom sulfona	0,996	589	104 (13)	99 (4)	0,998	162	97 (18)	98 (18)	0,998	325	86 (8)	90 (12)
Desmedifam	0,997	579	89 (9)	93 (10)	0,995	160	81 (20)	99 (16)	0,995	319	89 (10)	80 (10)
Diazinona	0,997	902	88 (10)	77 (11)	1,000	249	86 (5)	97 (13)	0,998	498	85 (6)	85 (7)
Diclofluanida	0,999	587	108 (20)	77 (15)	0,997	162	120 (18)	118 (20)	0,999	250	89 (10)	73 (9)
Diclorvós	0,996	716	95 (15)	93 (10)	0,998	198	106 (17)	92 (17)	0,998	395	72 (10)	80 (17)
Dicrotofós	0,999	593	99 (15)	88 (5)	0,998	150	84 (18)	76 (15)	0,995	327	78 (10)	84 (20)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Difenoconazol	0,999	444	120 (7)	112 (13)	0,998	122	120 (10)	103 (18)	0,997	245	92 (12)	76 (12)
Dimetenamida	0,998	368	1096 (14)	83 (12)	0,991	102	80 (16)	89 (20)	0,993	203	105 (13)	84 (16)
Dimetoato	0,992	496	105 (18)	70 (12)	0,999	137	119 (2)	106 (8)	0,995	274	100 (20)	84 (10)
Dimetomorfe	0,998	463	95 (16)	87 (7)	0,990	128	96 (13)	86 (5)	0,999	255	76 (10)	81 (4)
Dimoxistrobina	0,998	644	72 (20)	85 (12)	0,998	178	110 (9)	92 (18)	0,996	355	99 (11)	72 (4)
Diniconazol	0,993	4225	118 (9)	103 (18)	0,998	1166	71 (15)	118 (18)	0,995	2331	79 (16)	94 (12)
Diurum	0,990	716	90 (20)	82 (1)	0,993	198	95 (18)	95 (13)	0,998	395	80 (3)	91 (8)
Dodemorfe	0,996	887	106 (13)	86 (20)	0,995	245	76 (12)	87 (13)	0,995	490	95 (5)	84 (11)
Epoconazol	0,993	1765	89 (13)	86 (5)	0,998	487	85 (19)	87 (13)	0,993	974	91 (6)	117 (19)
Espinosade A	0,997	1523	77 (20)	75 (10)	0,997	420	95 (20)	96 (14)	0,993	840	104 (13)	76 (10)
Espirodiclofem	0,999	980	108 (13)	108 (10)	0,999	270	114 (6)	113 (13)	0,990	541	87 (7)	112 (6)
Etiofencarbe sulfona	0,998	485	97 912)	92 (11)	0,998	133	105 (12)	93 (19)	0,997	266	106 (19)	100 (11)
Etiofencarbe sulfóxido	1,000	532	88 (17)	78 (14)	0,997	147	116 (14)	85 (17)	1,000	294	82 (16)	79 (9)
Etiprole	0,998	287	96 (11)	98 (10)	0,995	79	111 (10)	120 (11)	0,999	158	92 (2)	73 (19)
Etopenproxi	0,990	6466	111 (15)	83 (9)	0,995	1784	108 (14)	101 (20)	0,999	3501	99 (11)	102 (5)
Etoprofós	0,996	505	117 (15)	92 (11)	0,990	139	98 (14)	74 (14)	0,999	278	88 (16)	93 (15)
Etoxisulfurom	1,000	610	102 (17)	110 (7)	0,999	168	111 (7)	89 (18)	0,992	337	92 (16)	89 (13)
Fenamifós	0,998	412	120 (16)	100 (12)	0,997	114	85 (13)	107 (12)	0,997	227	100 (6)	90 (12)
Fenarimol	0,999	545	114 (9)	108 (17)	0,997	150	92 (20)	77 (8)	0,997	301	82 (8)	70 (10)
Fenazaquim	0,996	68157	72 (19)	71 (13)	0,994	15002	73 (18)	87 (16)	0,997	32650	94 (12)	70 (12)
Fenbuconazol	0,995	383	117 (6)	117 (7)	0,999	106	116 (2)	70 (18)	0,997	211	73 (14)	76 (19)
Fenhexamida	0,998	2490	119 (16)	115 (18)	0,992	687	120 (6)	88 (14)	0,998	1374	117 (19)	71 (20)
Fenoxicarbe	0,997	776	82 (13)	81 (17)	0,993	214	112 (3)	114 (10)	0,990	428	85 (7)	72 (15)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>
Fenpiroximato	0,996	892	75 (17)	73 (12)	0,999	246	72 (16)	88 (9)	0,995	492	71 (20)	72 (15)
Fenpropatrina	0,997	905	117 (8)	100 (19)	0,998	250	112 (3)	86 (20)	0,999	499	74 (13)	78 (9)
Fenpropimorfe	0,997	1124	94 (14)	93 (6)	0,993	310	95 (20)	94 (12)	0,998	620	100 (15)	86 (14)
Fentiona	0,993	667	111 (17)	119 (20)	0,996	184	70 (19)	97 (20)	0,998	368	88 (13)	79 (13)
Fluazifope P-butílico	0,998	436	110 (11)	92 (11)	0,993	120	108 (19)	91 (15)	0,998	241	94 (7)	81 (12)
Flufenoxurom	0,997	1778	80 (4)	95 (15)	0,993	490	114 (10)	102 (15)	1,000	981	90 (4)	80 (7)
Fluquinconazol	0,998	445	101 (13)	116 (4)	0,992	123	96 (6)	87 (13)	0,995	246	72 (15)	77 (8)
Fluroxipir	0,994	338	78 (19)	73 (19)	0,997	93	71 (13)	86 (14)	0,997	186	99 (10)	119 (20)
Flusilazole	0,995	622	111 (19)	114 (10)	0,997	174	114 (18)	103 (20)	0,993	347	79 (13)	88 (16)
Flutolanil	0,991	22003	108 (9)	101 (5)	0,998	6141	78 (19)	84 (18)	0,991	11650	103 (13)	104 (15)
Flutriafol	0,995	1080	102 (19)	108 (19)	0,991	298	97 (16)	89 (19)	0,995	596	88 (2)	81 (20)
Fosmete	0,997	434	93 (15)	78 (19)	0,993	120	104 (16)	83 (11)	0,991	239	77 (8)	82 (9)
Furatiocarbe	0,995	302	89 (14)	82 (13)	0,995	83	89 (11)	106 (14)	0,995	166	98 (12)	70 (10)
Hexaconazole	0,998	4159	108 (15)	73 (15)	0,998	1147	81 (17)	112 (3)	0,998	2294	78 (10)	73 (20)
Hexitiazoxi	0,997	863	114 (17)	76 (4)	0,997	238	110 (18)	120 (19)	0,997	476	77 (4)	77 (16)
Imazalil	0,992	918	119 (4)	109 (15)	0,996	253	109 (16)	87 (13)	0,992	506	108 (16)	85 (11)
Imidacloprido	0,991	637	88 (6)	85 (7)	0,998	176	98 (20)	110 (7)	0,991	351	74 (14)	80 (12)
Iprovalicarbe	0,999	235	92 (19)	92 (7)	0,995	55	113 (19)	78 (17)	0,999	130	91 (7)	73 (4)
Linurom	0,997	661	84 (18)	91 (16)	0,996	182	77 (16)	96 (20)	0,997	365	74 (11)	83 (14)
Lufenurom	0,998	3715	84 (6)	114 (5)	0,997	1025	114 (14)	104 (20)	0,998	2050	87 (6)	90 (11)
Malationa	0,993	828	95 (20)	70 (16)	0,998	228	120 (18)	70 (14)	0,993	457	78 (3)	96 (15)
Mecarbam	0,990	276	110 (10)	92 (8)	0,993	76	113 (18)	103 (13)	0,994	152	86 (8)	81 (11)
Mefosfolam	0,994	609	96 (9)	80 (5)	0,998	168	113 (13)	94 (11)	0,993	336	78 (14)	73 (7)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Mepronil	0,998	1157	111 (15)	95 (1)	1,000	319	73 (19)	70 (13)	0,992	638	71 (14)	70 (10)
Metalaxil	0,993	457	87 (19)	77 (16)	0,995	126	83 (15)	73 (9)	0,998	252	99 (9)	86 (16)
Metamidofós	0,997	732	105 (6)	73 (11)	0,996	202	114 (9)	92 (12)	0,992	401	71 (7)	87 (9)
Metconazol	0,994	2400	83 (17)	81 (3)	0,997	773	107 (18)	80 (19)	0,997	1546	73 (10)	98 (15)
Metidationa	0,996	519	74 (9)	73 (12)	1,000	143	98 (10)	70 (20)	0,995	286	81 (11)	78 (1)
Metiocarbe sulfona	0,997	570	103 (17)	98 (8)	0,996	157	117 (14)	78 (16)	0,996	314	92 (4)	70 (2)
Metiocarbe sulfóxido	0,994	574	118 (14)	77 (2)	0,996	158	120 (14)	92 (15)	0,997	317	98 (17)	83 (18)
Metobromurom	0,999	590	94 (17)	84 (13)	0,992	163	104 (19)	84 (20)	0,991	326	80 (7)	81 (3)
Metolacloro	0,998	1798	94 (11)	88 (19)	0,992	496	103 (18)	109 (2)	0,991	992	80 (12)	81 (7)
Metomil	0,991	670	118 (9)	80 (7)	0,997	180	78 (4)	79 (14)	0,993	370	79 (10)	88 (13)
Metoxifenoazida	0,997	191	70 (11)	73 (1)	0,992	53	80 (11)	78 (17)	0,999	106	85 (11)	80 (12)
Metoxurom	0,992	577	108 (9)	86 (15)	0,998	159	120 (9)	94 (7)	0,993	318	87 (12)	73 (20)
Metribuzim	0,999	980	93 (16)	99 (14)	0,999	270	70 (19)	116 (5)	0,990	541	101 (20)	85 (16)
Metsulfurom metílico	0,993	251	102 (15)	83 (8)	0,998	69	93 (20)	94 (17)	0,994	138	87 (13)	78 (16)
Mevinfós	0,991	870	90 (13)	90 (14)	0,996	240	119 (8)	83 (13)	0,998	480	77 (13)	74 (9)
Monocrotofós	1,000	580	96 (15)	84 (13)	0,997	160	116 (19)	106 (16)	0,993	320	80 (3)	104 (9)
Monolinurom	0,998	1483	100 (9)	80 (16)	0,998	409	99 (15)	70 (5)	0,994	808	84 (6)	114 (13)
Nitenpiram	0,992	608	93 (16)	77 (14)	0,997	194	105 (16)	103 (16)	0,997	388	90 (6)	90 (17)
Nuarimol	0,991	506	87 (13)	84 (16)	0,993	140	73 (19)	77 (16)	0,996	279	90 (18)	106 (11)
Ometoato	0,998	670	102 (7)	90 (11)	0,994	185	86 (11)	77 (15)	0,997	370	90 (20)	100 (18)
Oxamil	1,000	280	117 (8)	85 (3)	1,000	100	119 (1)	106 (20)	0,991	220	71 (11)	105 (8)
Oxifluorfem	0,995	2767	86 (11)	88 (19)	0,999	763	81 (3)	80 (19)	0,997	1526	75 (12)	96 (17)
Paraoxom etílico	0,999	500	95 (5)	86 (2)	0,999	138	107 (19)	106 (15)	0,999	276	80 (3)	83 (13)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>
Parationa	0,999	796	104 (16)	105 (15)	0,999	220	102 (15)	110 (15)	0,998	439	99 (19)	120 (5)
Parationa metílica	0,992	813	81 (18)	70 (5)	0,998	224	101 (5)	102 (17)	0,992	449	105 (8)	117 (14)
Pencicrom	0,996	319	83 (19)	84 (10)	0,997	88	83 (19)	81 (18)	0,994	176	85 (12)	70 (13)
Penconazol	0,999	348	92 (20)	106 (7)	0,999	96	115 (20)	89 (13)	0,999	192	83 (6)	99 (19)
Pendimetalina	0,998	753	106 (4)	71 (14)	0,996	208	87 (10)	119 (16)	0,997	415	73 (7)	73 (7)
Picoxistrobina	0,997	193	89 (14)	90 (2)	0,998	50	102 (16)	71 (14)	0,999	106	82 (7)	78 (17)
Pimetrozina	0,998	741	81 (13)	70 (5)	0,997	204	73 (7)	70 (5)	0,998	409	81 (11)	73 (6)
Piraclostrobina	0,990	722	83 (11)	73 (7)	0,997	199	83 (19)	90 (2)	0,997	398	81 (11)	72 (4)
Pirazofós	0,999	389	77 (18)	89 (6)	0,999	107	111 (13)	77 (8)	0,997	214	87 (18)	90 (9)
Pirazosulfurom etílico	0,998	210	117 (4)	118 (15)	0,998	60	84 (15)	97 (16)	0,997	119	72 (19)	96 (7)
Piridabem	0,995	1124	70 (10)	73 (13)	0,997	310	98 (20)	73 (5)	0,996	620	85 (18)	80 (7)
Piridafentiona	0,998	499	107 (9)	103 (17)	0,999	138	88 (15)	103 (17)	0,993	275	103 (11)	98 (12)
Piridato	0,998	2076	102 (17)	84 (12)	0,995	573	87 (20)	81 (14)	0,998	1146	99 (9)	91 (15)
Pirifenox	1,000	422	114 (14)	92 (9)	0,999	116	77 (20)	70 (20)	0,997	233	101 (10)	94 (14)
Pirimetanil	0,995	3631	101 (10)	89 (7)	1,000	1002	79 (17)	77 (18)	0,998	2003	103 (15)	77 (6)
Pirimicarbe	0,995	1360	82 (11)	75 (2)	0,999	375	90 (16)	118 (5)	0,997	750	100 (15)	106 (17)
Pirimifós etílico	0,998	1043	86 (18)	74 (4)	0,995	288	120 (17)	110 (9)	0,997	575	88 (9)	99 (9)
Pirimifós metílico	0,998	2625	84 (16)	101 (7)	0,999	724	110 (16)	98 (5)	0,996	1448	74 (6)	88 (11)
Piriproxifem	0,997	2047	96 (17)	78 (1)	0,990	460	71 (20)	89 (20)	0,994	1100	86 (17)	78 (8)
Procimidona	0,999	223	112 (19)	103 (20)	0,995	62	74 (4)	71 (6)	0,999	116	94 (19)	77 (4)
Profenofós	0,995	474	71 (10)	76 (17)	0,992	131	75 (16)	113 (15)	0,999	262	110 (10)	103 (12)
Prometrina	0,997	560	103 (15)	83 (1)	1,000	154	77 (2)	93 (7)	0,999	308	88 (2)	92 (17)
Propanil	0,993	816	116 (18)	96 (9)	0,999	225	82 (11)	91 (4)	0,998	450	88 (16)	82 (11)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>
Propiconazol	0,995	436	77 (7)	82 (12)	0,997	120	79 (11)	103 (13)	0,992	241	90 (15)	79 (11)
Propoxur	0,997	626	94 (15)	72 (13)	0,999	173	70 (14)	77 (13)	0,996	346	95 (15)	70 (1)
Quinalfós	0,993	503	88 (12)	93 (8)	0,991	139	112 (15)	87 (13)	0,995	278	92 (12)	72 (5)
Quinoxifem	0,996	1227	76 (18)	72 (5)	0,998	338	86 (20)	87 (14)	0,998	677	101 (6)	72 (13)
Simazina	0,998	1569	111 (14)	89 (16)	0,999	433	119 (9)	77 (18)	0,998	866	117 (11)	80 (14)
Tebuconazol	0,995	2005	81 (13)	88 (10)	0,994	567	100 (4)	115 (12)	0,996	1134	101 (6)	92 (12)
Tebufenozida	0,993	187	70 (20)	81 (2)	0,993	52	99 (4)	107 (16)	0,993	103	90 (11)	86 (4)
Tebufenpirade	0,996	726	96 (18)	87 (15)	0,994	200	78 (20)	78 (18)	0,998	401	79 (3)	75 (6)
Terbutilazina	0,996	650	109 (9)	85 (3)	0,997	179	105 (17)	87 (18)	1,000	358	94 (17)	104 (13)
Tetraconazol	0,997	570	117 (9)	107 (9)	0,998	157	73 (14)	108 (9)	0,998	314	84 (2)	90 (11)
Tiabendazol	0,997	418	104 (5)	96 (8)	0,993	110	110 (13)	94 (114)	0,996	230	89 (3)	84 (15)
Tiacloprido	0,997	661	102 (16)	91 (9)	0,998	182	94 (16)	92 (9)	1,000	365	87 (11)	86 (8)
Tiametoxam	1,000	1683	119 (10)	98 (6)	0,991	464	95 (10)	101 (20)	0,990	929	97 (13)	74 (3)
Tiobencarbe	0,994	738	89 (20)	112 (6)	0,998	204	77 (18)	70 (2)	0,998	407	83 (15)	81 (17)
Tiodicarbe	0,993	1565	91 (19)	74 (18)	0,994	432	118 (14)	102 (8)	0,998	855	84 (15)	97 (3)
Tiofanato metílico	0,994	322	110 (5)	82 (1)	0,998	89	115 (5)	82 (7)	0,996	178	71 (17)	87 (11)
Tolilfluanida	0,993	628	97 910)	70 (19)	0,992	173	72 (18)	74 (14)	0,998	346	73 (20)	100 (5)
Triadimefom	0,992	2983	97 (18)	91 (14)	0,993	823	119 (14)	80 (6)	0,997	1646	80 (9)	83 (2)
Triadimenol	0,998	885	118 (14)	103 (16)	0,995	244	108 (13)	112 (6)	0,999	488	105 (14)	89 (9)
Triazofós	0,997	441	119 (9)	96 (8)	0,997	122	85 (16)	79 (9)	0,995	243	93 (8)	88 (5)
Triclorfom	0,995	352	120 (4)	100 (2)	0,992	97	95 (16)	87 (19)	0,996	194	79 (18)	89 (9)
Tridemorfe	0,996	18008	107 (15)	70 (2)	0,994	5734	116 (18)	119 (7)	0,996	10457	87 (10)	86 (20)
Trifloxistrobina	0,997	571	104 (4)	90 (14)	0,998	158	103 (16)	80 (16)	0,997	315	72 (10)	94 (9)

(conclusão)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>			(RSD%) 10 µg kg <sup>-1</sup>	(RSD%) Pi 10 µg kg <sup>-1</sup>
Triflumizol	0,993	418	115 (5)	101 (2)	0,993	115	70 (1)	74 (18)	0,997	230	90 (11)	78 (12)
Triflumurom	0,999	312	80 (16)	73 (12)	0,995	86	74 (10)	71 (13)	0,997	172	93 (8)	113 (9)
Triticonazol	0,991	2403	101 (15)	90 (16)	0,992	663	115 (14)	70 (20)	1,000	1326	83 (2)	77 (7)
Vamidotiona	0,993	2436	117 (9)	102 (2)	0,998	672	117 (19)	105 (12)	0,994	1344	106 (18)	80 (9)

Carbendazim = soma de carbendazim e benomil; Pi = Precisão intermediária; Rec = recuperação.

### 4.3.2 Validação do método MSPD modificado

Os dados de validação para matriz pera para o método MSPD são apresentados na Tabela 11 e para as demais frutas na Tabela 12. A linearidade através de curva preparada na matriz foi confirmada na faixa avaliada (2 a 80  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), com coeficiente de determinação ( $r^2$ ) maior ou igual a 0,990 para todos os analitos.

Para avaliar o efeito da matriz as curvas de analíticas foram preparadas tanto em solvente como em matriz (pera, ameixa, maçã ou pêssego). O efeito matriz (EM%) mostrou valores positivos significativos ( $> \pm 20\%$ ) para alguns compostos como: clorpirifós etílico com EM positivo para pera, maçã e pêssego e negativo para maçã. Assim, a identificação e quantificação dos compostos foi feita utilizando a calibração de matriz para cada tipo de matriz.

A exatidão e a precisão foram avaliadas e todos os agrotóxicos apresentaram resultados adequados em todos os níveis (10, 50 e 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), com recuperação variando de 70 a 120% e RSD menor ou igual a 20%.

O LOQ foi determinado experimentalmente, como a menor concentração fortificada que obteve bons resultados de exatidão e precisão, sendo 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para 131 agrotóxicos em pera. Para as demais matrizes (ameixa, maçã e pêssego), a exatidão e precisão foram avaliadas apenas no nível LOQ (10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), obtendo também resultados aceitáveis. O LOD foi estimado em 3,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para todos os compostos.

Como benefícios, em relação ao método primeiramente proposto por Barker e colaboradores em 1989 (Figura 1), a extração por MSPD apresentada neste trabalho reduziu as quantidades de sorvente e solvente, contribuindo para a menor geração de resíduos e contaminação dos analistas, além de simplificar o procedimento, tornando-o mais rápido e preciso.

Para obtenção destes resultados foi imprescindível o uso das esferas metálicas e do ultrassom. Enquanto as esferas realizam a maceração e auxiliam na etapa de extração, aumentando a homogeneização com o solvente, o ultrassom acelera a etapa de extração através da maior movimentação das moléculas de solventes que interagem com os analitos e com a matriz.



Assim, os resultados de validação da técnica MSPD modificada mostraram-se satisfatórios para análise multirresíduo de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssego com análise por UHPLC-MS/MS.

**Tabela 11** – Resultados de validação do método MSPD: linearidade (coeficiente de determinação,  $r^2$ ), efeito matriz (EM %), exatidão (recuperação, %) e precisão (RSD, %) para matriz pera.

(continua)

Compostos	$r^2$	EM (%)	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
3-OH Carbofurano	0,998	-39	93 (13)	76 (18)	86 (20)	72 (12)	72 (16)	74 (8)
Acetamiprido	0,999	-34	91 (11)	76 (20)	73 (11)	91 (16)	71 (20)	86 (17)
Ametrina	0,996	-33	71 (10)	87 (12)	70 (4)	92 (9)	91 (16)	93 (18)
Atrazina	0,996	-44	86 (18)	98 (10)	71 (18)	76 (9)	71 (18)	77 (12)
Azaconazole	0,996	-31	101 (15)	93 (11)	81 (15)	70 (11)	74 (20)	70 (13)
Azimsulfurom	0,990	-31	92 (20)	83 (20)	73 (20)	87 (14)	85 (15)	92 (18)
Azinfós metílico	0,992	-34	91 (15)	93 (19)	77 (15)	93 (12)	74 (15)	91 (20)
Azoxistrobina	0,997	-26	93 (16)	115 (14)	82 (15)	70 (14)	78 (18)	76 (19)
Bentazona	0,992	-43	73 (9)	72 (9)	83 (10)	117 (14)	73 (13)	75 (17)
Bispiribaque sódico	0,995	-17	93 (9)	75 (20)	77 (9)	98 (15)	97 (11)	71 (14)
Boscalida	0,997	1	72 (11)	90 (19)	71 (4)	87 (19)	93 (10)	71 (10)
Bupirimato	0,999	-20	71 (14)	70 (18)	70 (19)	84 (19)	73 (19)	96 (17)
Carbaril	0,995	-34	97 (14)	89 (15)	84 (20)	94 (18)	76 (11)	75 (11)
Carbendazim*	0,998	-42	82 (6)	113 (9)	70 (1)	76 (18)	87 (20)	98 (19)
Carbofurano	0,998	-41	83 (19)	84 (20)	71 (9)	83 (11)	93 (10)	115 (16)
Carboxina	0,996	-38	74 (11)	72 (16)	71 (6)	71 (17)	71 (9)	71 (16)
Cianazina	0,997	-15	71 (15)	103 (15)	70 (11)	73 (16)	77 (16)	82 (19)
Ciazofamida	0,999	76	87 (18)	110 (13)	78 (5)	101 (15)	93 (15)	71 (19)
Cimoxanil	0,995	-29	93 (17)	91 (15)	85 (19)	73 (11)	72 (18)	72 (16)
Ciproconazol	0,994	-28	71 (12)	71 (15)	70 (11)	84 (12)	86 (12)	91 (12)
Ciprodinil	0,991	-49	84 (9)	71 (17)	95 (20)	86 (13)	71 (13)	84 (18)
Clomazone	0,999	111	75 (15)	80 (13)	76 (15)	71 (20)	73 (17)	89 (15)
Clorantraniliprol	0,995	-33	98 (16)	117 (16)	89 (18)	73 (10)	70 (10)	70 (14)
Clorbromurom	0,992	-20	91 (18)	94 (5)	84 (20)	71 (14)	70 (9)	76 (20)
Clorfenvinfós	0,996	-32	70 (19)	93 (19)	77 (20)	76 (10)	72 (11)	94 (10)
Clorimurom etílico	0,992	-12	78 (17)	97 (16)	72 (16)	93 (17)	97 (14)	74 (12)
Clorpirifós	0,999	225	76 (20)	74 (20)	72 (18)	120 (11)	79 (20)	80 (13)
Clorpirifós metílico	0,997	126	117 (5)	120 (10)	75 (20)	117 (19)	76 (12)	103 (16)
Clotianidina	0,999	-44	97 (18)	76 (18)	83 (13)	73 (15)	70 (11)	71 (15)
Cresoxim metílico	0,997	-51	86 (11)	72 (16)	70 (13)	93 (12)	94 (17)	93 (10)

(continuação)

Compostos	$r^2$	EM (%)	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Deltametrina	0,995	-7	73 (11)	73 (16)	71 (10)	77 (19)	72 (18)	72 (20)
Demetom sulfona	0,995	-46	96 (15)	89 (19)	78 (14)	75 (14)	70 (20)	76 (14)
Desmedifam	0,996	-25	94 (13)	73 (8)	75 (13)	89 (19)	83 (16)	70 (15)
Diazinona	0,998	-2	76 (14)	70 (5)	71 (13)	78 (15)	85 (20)	70 (19)
Diclofluanida	0,994	-33	108 (15)	72 (15)	81 (16)	88 (20)	70 (20)	108 (18)
Diclorvós	0,991	-51	103 (20)	85 (14)	110 (13)	86 (10)	101 (17)	107 (19)
Dicrotofós	0,993	-70	95 (15)	102 (20)	77 (15)	93 (12)	75 (11)	70 (18)
Difenoconazol	0,993	89	70 (12)	88 (16)	70 (10)	72 (15)	90 (20)	70 (11)
Dimetenamida	0,993	-29	71 (14)	72 (20)	71 (17)	83 (13)	77 (18)	80 (19)
Dimetoato	0,995	-29	93 (14)	80 (17)	72 (14)	101 (11)	95 (20)	109 (17)
Dimetomorfe	0,997	11	94 (15)	97 (20)	99 (18)	96 (13)	89 (12)	71 (10)
Dimoxistrobina	0,999	-61	93 (19)	98 (11)	78 (17)	71 (11)	96 (19)	103 (11)
Diniconazol	0,997	-41	70 (19)	96 (20)	76 (16)	114 (11)	79 (19)	94 (18)
Diurum	0,990	-40	96 (19)	70 (18)	77 (17)	85 (19)	70 (17)	76 (11)
Epoxiconazol	0,999	-30	82 (14)	72 (20)	83 (10)	120 (17)	99 (14)	72 (19)
Espirodiclofem	0,996	107	70 (15)	79 (19)	70 (14)	87 (15)	98 (13)	95 (20)
Etiofencarbe sulfona	0,999	-30	90 (18)	71 (12)	72 (18)	70 (14)	100 (10)	70 (17)
Etiofencarbe sulfóxido	0,991	-63	84 (19)	83 (19)	72 (16)	70 (10)	120 (17)	71 (14)
Etiprole	0,997	18	86 (20)	77 (18)	77 (20)	70 (17)	76 (11)	97 (10)
Etoprofós	0,992	-23	91 (10)	80 (20)	75 (9)	81 (11)	77 (19)	70 (17)
Etoxisulfurom	0,994	-47	75 (20)	99 (15)	98 (16)	83 (20)	71 (16)	70 (10)
Famoxadona	0,996	843	71 (18)	70 (2)	73 (16)	100 (15)	78 (20)	70 (16)
Fenamifós	0,999	-71	91 (9)	94 (17)	70 (18)	86 (18)	79 (10)	70 (15)
Fenbuconazol	0,996	4	93 (12)	94 (17)	84 (18)	71 (13)	95 (12)	88 (11)
Fenoxicarbe	0,999	153	91 (17)	73 (14)	77 (17)	111 (11)	97 (13)	70 (12)
Fenpropatrina	0,997	89	74 (19)	81 (6)	70 (6)	85 (19)	85 (16)	78 (13)
Fentiona	0,999	-3	90 (20)	88 (19)	92 (18)	113 (16)	72 (18)	72 (19)
Fluazifope butílico	0,992	78	71 (2)	73 (4)	70 (1)	76 (20)	93 (15)	109 (14)
Flufenoxurom	0,992	90	73 (18)	70 (15)	78 (20)	73 (16)	107 (13)	84 (19)
Fluquinconazol	0,999	-53	115 (7)	89 (15)	106 (12)	74 (20)	70 (15)	85 (15)
Fluroxipir	0,995	-19	109 (20)	113 (19)	87 (18)	96 (10)	104 (16)	93 (20)
Flusilazol	0,999	29	80 (11)	93 (17)	70 (9)	92 (12)	84 (15)	70 (15)
Flutolanil	0,996	-67	113 (16)	98 (16)	89 (16)	88 (13)	87 (11)	70 (15)
Fosmete	0,995	-31	99 (13)	72 (10)	90 (16)	78 (19)	106 (9)	87 (19)
Furatiocarbe	0,999	60	71 (20)	94 (20)	70 (16)	86 (15)	70 (13)	71 (13)
Hexaconazol	0,998	5	104 (14)	87 (17)	94 (14)	70 (19)	99 (9)	81 (11)
Imazalil	0,999	52	73 (4)	70 (11)	70 (4)	84 (11)	71 (14)	76 (19)
Imidacloprido	0,992	-21	101 (18)	72 (6)	81 (18)	85 (19)	70 (19)	87 (17)
Iprovalicarbe	0,999	-32	81 (18)	83 (20)	70 (18)	108 (20)	95 (19)	70 (14)

(continuação)

Compostos	$r^2$	EM (%)	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Linurom	0,992	-34	86 (19)	70 (14)	73 (19)	70 (18)	73 (14)	94 (17)
Malationa	0,996	-9	101 (7)	120 (13)	107 (18)	101 (17)	74 (10)	97 (11)
Mecarbam	0,996	-50	107 (14)	71 (11)	84 (11)	108 (10)	100 (17)	70 (19)
Mefosfolam	0,991	-48	96 (8)	70 (7)	76 (8)	75 (11)	91 (11)	71 (16)
Mepronil	0,991	18	88 (17)	70 (3)	74 (13)	91 (16)	93 (19)	91 (20)
Metalaxil	0,998	-29	70 (7)	76 (18)	70 (18)	74 (15)	90 (16)	71 (10)
Metamidofós	0,994	-84	92 (19)	101 (14)	79 (20)	80 (20)	113 (10)	70 (19)
Metconazol	0,995	-62	108 (19)	97 (20)	85 (19)	73 (20)	115 (20)	109 (5)
Metidationa	0,999	-22	104 (15)	73 (19)	77 (16)	71 (16)	104 (15)	73 (16)
Metiocarbe sulfona	0,995	-34	84 (15)	74 (10)	70 (14)	101 (18)	81 (10)	114 (20)
Metiocarbe sulfóxido	0,998	-36	93 (8)	94 (16)	86 (20)	72 (7)	102 (10)	88 (7)
Metobromurom	0,999	-37	89 (19)	92 (17)	76 (16)	79 (16)	70 (13)	89 (12)
Metolacloro	0,998	-23	101 (17)	100 (18)	94 (16)	77 (20)	70 (11)	70 (19)
Metomil	0,995	-56	73 (9)	87 (20)	71 (3)	80 (9)	97 (12)	98 (18)
Metoxifenoazida	0,991	-42	101 (18)	85 (10)	70 (20)	76 (15)	77 (15)	86 (20)
Metoxurom	0,999	-34	95 (14)	78 (12)	76 (14)	99 (17)	96 (11)	70 (18)
Metribuzim	0,999	-49	109 (12)	70 (13)	81 (16)	94 (10)	94 (11)	73 (15)
Metsulfurom metílico	0,995	1	96 (7)	86 (18)	86 (6)	81 (11)	88 (17)	73 (18)
Mevinfós	0,996	-62	89 (13)	79 (20)	70 (13)	70 (16)	89 (14)	113 (13)
Monocrotofós	0,993	-69	71 (8)	70 (10)	71 (7)	93 (18)	98 (10)	72 (11)
Monolinurom	0,992	-41	71 (13)	71 (5)	70 (6)	94 (20)	87 (17)	70 (15)
Nuarimol	0,997	-38	96 (16)	95 (17)	99 (20)	72 (12)	83 (11)	113 (19)
Ometoato	0,991	-84	103 (16)	88 (10)	81 (17)	81 (19)	77 (15)	70 (11)
Oxamil	0,996	-72	114 (10)	111 (12)	84 (16)	72 (18)	99 (12)	78 (10)
Paraoxom etílico	0,998	-45	79 (18)	97 (12)	71 (9)	71 (19)	96 (13)	90 (15)
Parationa	0,999	36	94 (19)	70 (19)	76 (20)	70 (17)	82 (20)	84 (16)
Parationa metílica	0,997	-82	85 (4)	85 (9)	85 (3)	82 (14)	83 (20)	76 (15)
Pencicurom	0,997	24	76 (15)	78 (18)	87 (20)	70 (17)	84 (18)	77 (12)
Penconazol	0,996	-17	70 (19)	85 (19)	70 (17)	98 (10)	73 (16)	73 (11)
Pendimetalina	0,999	385	120 (14)	113 (9)	71 (15)	70 (11)	92 (20)	70 (13)
Pimetrozina	0,994	-89	78 (20)	76 (20)	72 (19)	117 (20)	70 (12)	86 (19)
Piraclostrobina	0,999	-31	76 (20)	71 (16)	72 (16)	74 (12)	77 (13)	75 (19)
Pirazofós	0,999	-18	99 (17)	86 (19)	89 (16)	78 (15)	98 (19)	85 (20)
Pirazosulfurom etílico	0,999	-33	82 (16)	100 (18)	71 (2)	110 (9)	105 (14)	120 (12)
Piridabem	0,997	147	70 (10)	70 (20)	71 (10)	98 (16)	88 (19)	116 (18)
Piridafentiona	0,998	2	87 (20)	74 (19)	71 (20)	96 (10)	118 (15)	81 (17)
Pirifenoxi	0,994	-31	70 (6)	77 (18)	74 (20)	86 (17)	102 (20)	70 (10)
Pirimetanil	0,995	-43	81 (9)	70 (15)	71 (7)	106 (17)	70 (8)	95 (11)
Pirimifós metílico	0,996	-17	72 (19)	72 (20)	70 (15)	70 (16)	89 (15)	70 (14)

(conclusão)

Compostos	$r^2$	EM (%)	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
			Recuperação % (Precisão, repetitividade, RSD%)			Recuperação % (Precisão intermediária, RSD%)		
			10	50	100	10	50	100
Piriproxifem	0,991	312	70 (8)	70 (12)	70 (7)	86 (18)	100 (18)	75 (16)
Prometrina	0,994	-35	70 (11)	76 (19)	73 (11)	116 (20)	94 (10)	78 (19)
Propanil	0,995	-36	100 (17)	93 (16)	80 (17)	99 (15)	82 (15)	70 (15)
Propiconazol	0,996	-54	102 (12)	93 (15)	82 (13)	72 (19)	70 (16)	71 (14)
Propoxur	0,994	-36	94 (14)	70 (16)	75 (14)	113 (10)	84 (11)	70 (15)
Quinalfós	0,999	21	88 (11)	108 (18)	77 (20)	71 (12)	77 (20)	71 (15)
Quinoxifem	0,996	197	70 (10)	70 (19)	70 (6)	70 (18)	71 (15)	70 (15)
Simazina	0,996	-49	117 (15)	98 (18)	94 (15)	98 (14)	79 (18)	81 (10)
Tebuconazol	0,996	-39	86 (15)	76 (20)	70 (14)	98 (19)	100 (11)	70 (12)
Tebufenozida	0,997	-14	74 (12)	87 (20)	70 (10)	95 (19)	87 (10)	71 (15)
Tebufenpirade	0,993	261	77 (12)	98 (17)	70 (10)	71 (20)	115 (19)	71 (13)
Terbutilazina	0,999	-40	75 (15)	75 (20)	70 (9)	118 (11)	100 (11)	90 (10)
Tetraconazol	0,999	2	78 (10)	98 (20)	70 (8)	72 (19)	93 (20)	80 (15)
Tiabendazol	0,994	-68	98 (12)	100 (10)	80 (20)	100 (16)	75 (10)	94 (20)
Tiacloprido	0,994	-41	85 (9)	70 (19)	70 (9)	89 (20)	71 (13)	70 (20)
Tiametoxam	0,998	-17	110 (14)	95 (16)	89 (15)	76 (16)	70 (15)	90 (16)
Tiofanato metílico	0,999	-32	105 (7)	87 (12)	84 (7)	87 (20)	81 (10)	82 (18)
Triazofós	0,999	-6	98 (12)	71 (16)	87 (10)	94 (12)	70 (18)	70 (9)
Triclorfom	0,999	-15	116 (13)	114 (20)	113 (13)	70 (12)	80 (11)	96 (20)
Trifloxistrobina	0,998	62	96 (9)	118 (20)	95 (20)	89 (13)	84 (15)	70 (17)
Triflumurom	0,999	-33	118 (15)	100 (17)	90 (8)	87 (18)	71 (19)	79 (20)
Vamidationa	0,999	-47	81 (16)	79 (11)	70 (11)	80 (10)	81 (11)	83 (11)

Carbendazim = soma de carbendazim e benomil.

**Tabela 12** – Resultados de validação para o método de MSPD para matrizes ameixa, maçã e pêsego: linearidade ( $r^2$ ), efeito matriz (%), exatidão (em termos de recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária)

(continua)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%	$r^2$	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$			(RSD%) 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(RSD%) Pi 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$
3-OH Carbofurano	0,997	-3	70 (20)	86 (9)	0,996	-27	83 (10)	93 (16)	0,991	-58	80 (14)	72 (16)
Acetamiprido	0,999	-9	91 (20)	87 (19)	0,995	-38	98 (15)	90 (19)	0,997	-53	76 (20)	73 (15)
Ametrina	0,992	-3	76 (12)	71 (20)	0,995	-26	117 (18)	86 (12)	0,998	-37	70 (17)	73 (19)
Atrazina	0,999	-3	73 (18)	84 (16)	0,993	-29	89 (13)	108 (14)	0,995	-45	72 (11)	81 (16)
Azaconazole	0,994	-6	86 (17)	83 (18)	0,999	-24	114 (11)	116 (14)	0,991	-34	106 (6)	100 (9)
Azimsulfurom	0,992	-39	70 (10)	72 (20)	0,999	-42	111 (15)	71 (15)	0,997	-36	87 (20)	70 (11)
Azinfós mellico	0,994	-23	73 (11)	88 (9)	0,990	-49	84 (19)	101 (19)	0,995	-40	120 (16)	107 (14)
Azoxistrobina	0,992	-3	108 (16)	108 (11)	0,994	-25	73 (11)	95 (15)	0,994	-30	102 (14)	77 (14)
Bentazona	0,991	-46	72 (15)	77 (10)	0,999	-49	70 (15)	94 (20)	0,992	-71	70 (13)	75 (6)
Bispiribaque sódico	0,998	-11	81 (16)	82 (19)	0,997	-39	78 (17)	86 (20)	0,999	-34	98 (11)	71 (19)
Boscalida	0,994	6	116 (9)	113 (11)	0,993	-19	110 (18)	107 (16)	0,995	-6	71 (10)	84 (8)
Bupirimato	0,999	-41	106 (9)	70 (20)	0,993	-44	95 (12)	70 (18)	0,999	-57	88 (7)	70 (13)
Carbaril	0,997	13	100 (11)	101 (10)	0,992	-37	89 (13)	78 (7)	0,996	-49	95 (11)	94 (18)
Carbendazim*	0,994	-7	71 (19)	85 (16)	0,990	-34	97 (18)	92 (9)	0,999	-50	83 (14)	73 (19)
Carbofurano	0,999	-9	87 (8)	70 (9)	0,991	-38	76 (20)	88 (15)	0,997	-51	70 (12)	74 (20)
Carboxina	0,997	-13	101 (10)	77 (11)	0,993	-35	79 (12)	99 (9)	0,999	-42	86 (14)	89 (14)
Cianazina	0,999	9	98 (10)	76 (11)	0,999	-32	103 (20)	93 (12)	0,993	-21	81 (19)	96 (16)
Ciazofamida	0,995	64	71 (10)	91 (11)	0,999	-34	70 (13)	70 (13)	0,993	-18	76 (11)	71 (15)
Cimoxanil	0,995	-7	107 (15)	80 (20)	0,992	-51	94 (16)	72 (19)	0,999	-64	71 (17)	76 (11)
Ciproconazol	0,994	-37	71 (16)	75 (10)	0,999	-69	70 (15)	71 (14)	0,998	-55	72 (12)	93 (12)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Ciprodinil	0,997	-17	84 (15)	70 (14)	0,995	-36	76 (10)	75 (19)	0,991	-32	77 (13)	104 (13)
Clomazone	0,999	293	70 (10)	71 (11)	0,999	-96	87 (20)	93 (16)	0,999	-35	98 (13)	78 (20)
Clorantraniliprol	0,997	-15	75 (17)	89 (15)	0,999	-8	84 (10)	70 (15)	0,992	-21	75 (14)	70 (10)
Clorbromurom	0,996	19	120 (14)	77 (14)	0,997	-13	97 (14)	91 (20)	0,995	-28	93 (15)	77 (20)
Clorfenvinfós	0,996	0	107 (13)	87 (15)	0,996	19	71 (14)	70 (13)	0,999	-19	76 (14)	70 (17)
Clorimurom etílico	0,999	-47	95 (13)	100 (10)	0,999	-38	115 (15)	94 (10)	0,998	-50	97 (7)	99 (18)
Clorpirifós	0,997	13	102 (13)	70 (15)	0,996	6	89 (19)	82 (11)	0,995	-6	100 (20)	71 (12)
Clorpirifós metílico	0,997	155	77 (16)	83 (18)	0,999	-34	106 (4)	93 (10)	0,999	73	115 (12)	82 (13)
Clotianidina	0,991	-11	86 (14)	92 (19)	0,995	-50	71 (9)	76 (11)	0,991	-47	72 (13)	101 (15)
Cresoxim metílico	0,999	44	72 (17)	93 (15)	0,993	-45	71 (15)	109 (10)	0,998	-54	70 (18)	81 (11)
Deltametrina	0,999	-11	70 (11)	70 (9)	0,998	0	109 (6)	73 (15)	0,995	-29	77 (14)	96 (19)
Demetom sulfona	0,993	-2	88 (12)	70 (13)	0,991	-25	113 (20)	70 (20)	0,998	-41	77 (19)	70 (14)
Desmedifam	0,997	0	70 (13)	76 (13)	0,992	-24	87 (15)	77 (17)	0,998	-39	74 (16)	71 (19)
Diazinona	0,999	42	78 (19)	70 (16)	0,994	24	120 (15)	70 (11)	0,999	8	70 (18)	93 (15)
Diclofluanida	0,998	85	83 (19)	76 (11)	0,990	-39	110 (13)	71 (20)	0,993	29	71 (19)	90 (11)
Diclorvós	0,996	18	92 (14)	93 (19)	0,997	-26	87 (18)	94 (6)	0,997	-53	86 (11)	90 (9)
Dicrotofós	0,997	-14	73 (15)	86 (20)	0,994	-33	78 (11)	70 (16)	0,996	-55	71 (17)	73 (14)
Difenoconazol	0,998	69	88 (15)	101 (10)	0,999	-6	85 (10)	72 (14)	0,997	12	83 (14)	92 (14)
Dimetenamida	0,993	3	70 (10)	100 (14)	0,998	-23	85 (19)	101 (13)	0,992	-38	79 (10)	70 (6)
Dimetoato	0,994	-3	74 (15)	94 (13)	0,992	-41	85 (11)	96 (11)	0,994	-57	76 (17)	87 (19)
Dimetomorfe	0,994	-26	93 (18)	75 (13)	0,996	-1	80 (20)	74 (7)	0,997	-62	71 (15)	72 (13)
Dimoxistrobina	0,996	-38	80 (13)	99 (13)	0,998	-44	93 (10)	90 (14)	0,997	-58	71 (10)	84 (12)
Diniconazol	0,993	-43	72 (11)	98 (16)	0,991	-25	70 (11)	74 (13)	0,990	-56	70 (20)	82 (14)
Diurum	0,993	-28	99 (15)	117 (15)	0,992	-48	98 (20)	72 (19)	0,992	-59	83 (16)	81 (14)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Epoxiconazol	0,994	-54	86 (19)	98 (10)	0,997	-55	71 (10)	70 (11)	0,999	-52	71 (18)	72 (15)
Espirodiclofem	0,995	-20	74 (14)	90 (11)	0,999	-11	81 (20)	84 (14)	0,996	3	71 (12)	75 (10)
Etiofencarbe sulfona	0,997	-14	89 (15)	94 (17)	0,995	-32	87 (16)	70 (17)	0,995	-53	70 (8)	70 (20)
Etiofencarbe sulfóxido	0,992	-22	91 (19)	74 (4)	0,997	-48	93 (9)	97 (12)	0,992	-58	89 (9)	84 (17)
Etiprole	0,990	45	93 (19)	72 (15)	0,990	-61	91 (9)	73 (13)	0,993	-14	73 (15)	82 (11)
Etoprofós	0,994	-16	77 (18)	71 (15)	0,991	-32	85 (11)	87 (14)	0,996	-47	71 (16)	84 (6)
Etoxisulfurom	0,999	-27	70 (18)	95 (19)	0,996	-41	70 (14)	83 (12)	0,999	-74	72 (8)	88 (20)
Famoxadona	0,996	500	70 (19)	76 (16)	0,990	158	70 (10)	113 (13)	0,990	87	70 (18)	101 (14)
Fenamifós	0,994	-33	94 (17)	91 (16)	0,993	-47	113 (15)	85 (9)	0,991	-50	70 (19)	86 (13)
Fenbuconazol	0,992	-13	97 (10)	96 (20)	0,996	-28	98 (11)	77 (15)	0,999	-31	77 (20)	87 (11)
Fenoxicarbe	0,999	25	99 (11)	73 (17)	0,990	-42	89 (18)	100 (8)	0,993	53	70 (16)	83 (14)
Fenpropatrina	0,999	-7	82 (20)	70 (11)	0,998	-33	88 (11)	84 (13)	0,991	-46	71 (14)	89 (13)
Fentiona	0,995	73	100 (9)	79 (15)	0,996	-17	115 (19)	92 (18)	0,999	-18	76 (20)	91 (19)
Fluazafiope butílico	0,999	21	71 (16)	70 (19)	0,997	-13	71 (17)	80 (19)	0,995	-5	75 (10)	70 (11)
Flufenoxurom	0,992	-37	93 (20)	91 (19)	0,997	3	71 (14)	70 (20)	0,993	-40	70 (11)	76 (17)
Fluquinconazol	0,997	-24	115 (10)	94 (19)	0,999	-55	71 (10)	70 (16)	0,998	-47	70 (12)	78 (12)
Fluroxipir	0,997	38	82 (12)	84 (14)	0,990	9	70 (17)	93 (14)	0,999	8	76 (14)	86 (13)
Flusilazol	0,997	83	108 (13)	109 (18)	0,990	-36	76 (11)	101 (20)	0,993	25	100 (14)	94 (14)
Flutolanil	0,998	7	97 (8)	70 (19)	0,990	-31	78 (16)	75 (18)	0,996	-35	99 (15)	98 (20)
Fosmete	0,995	-5	90 (18)	77 (10)	0,999	-37	70 (11)	97 (20)	0,998	-42	76 (11)	83 (19)
Furaticarbe	0,992	43	93 (15)	71 (10)	0,997	-27	70 (19)	74 (11)	0,997	-39	72 (19)	71 (15)
Hexaconazol	0,994	-42	98 (13)	70 (20)	0,992	-57	72 (15)	95 (10)	0,993	-63	78 (17)	76 (13)
Imazalil	0,995	95	78 (11)	73 (13)	0,991	56	70 (10)	91 (19)	0,994	41	96 (18)	73 (9)
Imidacloprido	0,994	6	70 (11)	86 (13)	0,994	-17	116 (20)	70 (11)	0,997	-19	79 (12)	70 (15)

(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Iprovalicarbe	0,999	-31	76 (19)	70 (11)	0,996	-40	84 (12)	91 (20)	0,999	-57	94 (13)	84 (16)
Linurom	0,992	-3	101 (14)	77 (10)	0,994	-25	95 (12)	71 (15)	0,994	-40	70 (15)	73 (14)
Malationa	0,997	-39	93 (10)	96 (15)	0,994	-46	120 (12)	86 (20)	0,999	-52	81 (10)	70 (14)
Mecarbam	0,996	-50	81 (17)	86 (16)	0,990	-59	113 (15)	70 (20)	0,999	-58	93 (20)	77 (6)
Mefosfolam	0,995	-18	96 (11)	86 (9)	0,993	-35	71 (10)	96 (16)	0,996	-39	86 (16)	86 (19)
Mepronil	0,991	-18	70 (10)	91 (11)	0,997	3	71 (12)	91 (18)	0,999	-14	94 (18)	70 (13)
Metalaxil	0,993	0	76 (19)	94 (12)	0,994	-32	94 (9)	74 (7)	0,994	-38	87 (8)	70 (12)
Metamidofós	0,995	-35	72 (20)	74 (19)	0,995	-51	96 (7)	89 (15)	0,991	-74	79 (15)	70 (14)
Metconazol	0,991	-29	71 (11)	70 (13)	0,993	-48	70 (14)	78 (9)	0,997	-64	97 (9)	72 (14)
Metidationa	0,999	-23	71 (10)	87 (14)	0,994	-46	118 (20)	93 (16)	0,996	-48	94 (16)	84 (15)
Metiocarbe sulfona	0,999	-15	76 (16)	70 (19)	0,995	-36	95 (17)	77 (20)	0,997	-53	98 (15)	70 (19)
Metiocarbe sulfóxido	0,992	-19	71 (9)	78 (15)	0,997	-33	73 (11)	76 (17)	0,995	-46	74 (18)	72 (18)
Metobromurom	0,996	-1	75 (14)	89 (18)	0,994	-24	99 (16)	75 (17)	0,998	-39	95 (10)	70 (17)
Metolacoloro	0,995	4	77 (20)	79 (18)	0,999	-16	72 (14)	117 (14)	0,998	-24	120 (19)	75 (14)
Metomil	0,996	-31	72 (9)	97 (19)	0,994	-49	73 (6)	71 (11)	0,994	-74	70 (13)	71 (11)
Metoxifenoazida	0,995	-5	93 (11)	72 (19)	0,997	-29	71 (20)	91 (19)	0,998	-75	73 (11)	77 (19)
Metoxurom	0,996	-30	104 (12)	70 (11)	0,991	-55	90 (13)	71 (10)	0,993	-61	71 (11)	70 (10)
Metribuzim	0,994	-15	73 (8)	93 (10)	0,996	-53	104 (11)	74 (17)	0,995	-49	81 (20)	70 (17)
Metsulfurom metílico	0,995	-18	77 (10)	94 (17)	0,997	-38	87 (7)	78 (11)	0,999	-26	98 (12)	70 (11)
Mevinfós	0,998	-11	96 (11)	84 (10)	0,996	-64	94 (14)	73 (10)	0,998	-59	79 (15)	70 (15)
Monocrotofós	0,994	-25	70 (10)	77 (11)	0,991	-40	118 (13)	96 (12)	0,997	-63	95 (9)	99 (19)
Monolinurom	0,994	-9	77 (17)	98 (12)	0,998	-39	100 (19)	90 (16)	0,993	-50	88 (9)	92 (4)
Nuarimol	0,993	-11	70 (10)	70 (14)	0,990	-54	90 (11)	98 (9)	0,994	-40	100 (10)	80 (19)
Ometoato	0,995	-7	77 (11)	76 (14)	0,999	-34	96 (17)	75 (9)	0,998	-58	80 (16)	76 (20)



(continuação)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Oxamil	0,996	-34	74 (12)	74 (8)	0,993	-54	89 (12)	103 (11)	0,999	-72	88 (9)	81 (10)
Paraoxom etílico	0,999	1	71 (14)	72 (19)	0,993	-33	78 (13)	71 (14)	0,994	-42	73 (9)	70 (9)
Parationa	0,999	-54	70 (15)	71 (18)	0,990	-44	72 (14)	85 (16)	0,990	-68	70 (11)	96 (20)
Parationa metílica	0,990	-49	70 (19)	70 (11)	0,995	-18	72 (13)	98 (15)	0,999	-63	117 (10)	89 (18)
Pencicuirom	0,995	0	94 (19)	91 (17)	0,993	-18	73 (10)	73 (15)	0,996	-37	70 (16)	78 (11)
Penconazol	0,993	70	93 (19)	71 (9)	0,996	27	70 (11)	114 (19)	0,999	-34	111 (15)	84 (13)
Pendimetalina	0,998	94	86 (14)	73 (14)	0,995	-26	70 (19)	110 (10)	0,996	-19	95 (15)	89 (10)
Pimetrozina	0,997	-67	92 (9)	70 (18)	0,992	-43	73 (13)	120 (19)	0,992	-80	71 (9)	70 (16)
Piraclostrobina	0,992	14	101 (16)	74 (17)	0,995	-25	101 (9)	87 (4)	0,999	-55	110 (11)	77 (18)
Pirazofós	0,996	19	79 (20)	81 (10)	0,999	-39	72 (15)	85 (19)	0,999	-29	85 (14)	70 (7)
Pirazosulfurom etílico	0,991	-15	70 (17)	70 (11)	0,996	-45	81 (16)	80 (20)	0,991	-75	93 (16)	94 (9)
Piridabem	0,995	-21	96 (17)	78 (16)	0,995	-10	86 (15)	98 (10)	0,992	-40	71 (15)	71 (15)
Piridafentiona	0,999	2	76 (8)	98 (15)	0,994	-27	72 (13)	93 (9)	0,999	-2	91 (19)	91 (16)
Pirifenoxi	0,994	-15	87 (12)	70 (10)	0,994	-32	70 (9)	70 (20)	0,994	-61	85 (15)	109 (20)
Pirimetanil	0,994	19	74 (19)	73 (9)	0,996	-22	76 (15)	113 (12)	0,994	-38	98 (10)	71 (17)
Pirimifós metílico	0,999	-21	71 (19)	75 (17)	0,995	-29	81 (15)	79 (12)	0,999	-59	97 (12)	71 (11)
Piriproxifem	0,997	36	71 (11)	79 (17)	0,996	-21	70 (16)	88 (12)	0,995	-49	115 (20)	86 (16)
Prometrina	0,992	-5	70 (20)	117 (11)	0,995	-31	94 (14)	115 (15)	0,990	-40	89 (13)	106 (20)
Propanil	0,998	36	71 (10)	120 (16)	0,998	-10	73 (7)	105 (13)	0,998	-54	87 (19)	84 (10)
Propiconazol	0,995	-25	73 (20)	75 (11)	0,994	-46	75 (20)	71 (11)	0,998	-46	103 (14)	70 (15)
Propoxur	0,993	-14	83 (15)	71 (12)	0,991	-46	76 (15)	109 (15)	0,998	-60	113 (15)	87 (20)
Quinalfós	0,992	69	72 (18)	70 (18)	0,994	-1	71 (18)	71 (15)	0,999	7	71 (12)	71 (20)
Quinoxifem	0,994	166	71 (19)	95 (13)	0,994	27	93 (13)	70 (12)	0,995	57	72 (12)	109 (18)
Simazina	0,993	-10	84 (17)	99 (18)	0,993	-31	80 (18)	116 (9)	0,992	-48	71 (11)	120 (20)

(conclusão)

Compostos	Ameixa				Maçã				Pêssego			
	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%	r <sup>2</sup>	EM (%)	Rec%	Rec%
			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi			(RSD%)	(RSD%) Pi
			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>			10 µg kg <sup>-1</sup>	10 µg kg <sup>-1</sup>
Tebuconazol	0,997	-32	70 (10)	88 (10)	0,999	-38	83 (10)	120 (7)	0,991	-57	113 (14)	70 (11)
Tebufenozida	0,990	-37	82 (17)	92 (19)	0,998	-70	70 (15)	71 (20)	0,996	-39	94 (14)	114 (14)
Tebufenpirade	0,997	176	72 (11)	98 (11)	0,998	32	102 (16)	96 (10)	0,997	108	118 (15)	70 (16)
Terbutilazina	0,995	0	83 (10)	100 (15)	0,994	-40	93 (15)	73 (9)	0,997	-44	73 (15)	74 (15)
Tetraconazol	0,992	23	81 (15)	80 (10)	0,990	27	82 (11)	99 (11)	0,994	-13	72 (19)	70 (19)
Tiabendazol	0,995	-39	70 (16)	75 (16)	0,993	-29	75 (12)	104 (14)	0,994	-51	87 (4)	86 (15)
Tiacloprido	0,995	-25	71 (10)	80 (9)	0,996	-43	70 (13)	118 (14)	0,997	-49	100 (19)	71 (10)
Tiametoxam	0,995	-9	72 (8)	76 (9)	0,999	-29	70 (19)	96 (6)	0,993	-38	89 (20)	94 (20)
Tiofanato metílico	0,994	-12	70 (12)	103 (11)	0,998	-28	70 (14)	72 (19)	0,992	-33	72 (15)	70 (12)
Triazofós	0,998	26	70 (14)	81 (11)	0,999	-5	96 (15)	81 (15)	0,998	-16	90 (20)	81 (9)
Triclorfom	0,999	17	89 (19)	73 (17)	0,994	-4	113 (8)	70 (19)	0,993	-20	76 (18)	70 (15)
Trifloxistrobina	0,999	48	84 (19)	70 (10)	0,995	12	79 (9)	101 (16)	0,998	5	72 (7)	113 (10)
Triflumurom	0,999	28	73 (11)	85 (11)	0,992	-13	70 (15)	86 (20)	0,995	0	72 (9)	71 (20)
Vamidationa	0,994	-19	75 (10)	80 (12)	0,992	-37	75 (16)	76 (10)	0,992	-49	70 (15)	70 (16)

Carbendazim = soma de carbendazim e benomil; Pi = Precisão intermediária; Rec = recuperação.

#### 4.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS VALIDADOS

Os métodos QuEChERS e MSPD desenvolvidos neste trabalho mostraram-se eficientes para determinação de mais de uma centena de resíduos de agrotóxicos, ambos de maneira simples e eficaz.

Enquanto o método QuEChERS utiliza 10 mL de acetonitrila, para o MSPD são necessários apenas 4 mL, o que contribui para a Química Verde, além de diminuir a exposição do analista a solventes tóxicos, como o diclorometano utilizado no método de mini Luke (LUKE *et al.*, 1988).

Enquanto o método QuEChERS torna possível a análise de 161 agrotóxicos, com o MSPD foi possível analisar 131 destes. Os 30 analitos que não puderam ser analisados variam de classe, pKa, Kow, Koc e solubilidade (Tabela 4), não havendo um critério de concordância entre eles. Sabe-se que durante o procedimento de extração ocorrem diferentes interações entre analitos/matriz, matriz/solvente e solvente/matriz. Em análises multirresíduo também podem ocorrer interações entre os próprios analitos, o que impossibilita o entendimento do mecanismo da extração.

Durante a extração foi possível observar que a técnica de MSPD extrai uma menor quantidade de interferentes da matriz, apresentando um extrato mais límpido em relação ao QuEChERS. Isto é comprovado pelos valores de efeito matriz, onde para o método QuEChERS foi significativamente positivo para todos os analitos e matrizes. Como o método QuEChERS não foi utilizada etapa de limpeza e no MSPD a extração e limpeza constitui uma mesma etapa, estes resultados são considerados coniventes.

Os altos valores de EM para o método QuEChERS também podem ter gerado maiores valores de recuperação, em relação ao MSPD. Quando o EM é positivo, há um aumento de sinal, o que favorece a detectabilidade do método (KRUVE *et al.*, 2008).

A seletividade foi assegurada para ambos, bem como apresentaram os mesmos limites de quantificação ( $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) e detecção ( $3,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) para os analitos validados. Entretanto, devido aos fatores de diluição, a faixa linear para os dois métodos é diferenciada, sendo de 5 a  $200 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o QuEChERS e 2 a  $80 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o MSPD, não representando inconvenientes para suas aplicações na rotina de análises.

Ainda, foram selecionadas e analisadas 2 amostras de cada matriz (n=3) com 3 procedimentos: 1) método QuEChERS acetato, método oficial da AOAC (LEHOTAY *et al.*, 2005), 2) método QuEChERS acetato modificado e validado neste trabalho, 3)

método MSPD proposto e validado neste trabalho. Os resultados obtidos (Tabela 13) foram comparados através do teste *t* de *Student*. De acordo com o teste *t* os resultados encontrados na análise real das amostras são estatisticamente equivalentes e, desta forma, os dois métodos desenvolvidos neste trabalho possibilitam a análise de amostras reais em laboratórios de rotina.

**Tabela 13** – Comparação dos métodos QuEChERS e MSPD em termos de teste *t* da análise de amostras reais.

Amostras	Compostos	Resíduos de agrotóxicos nas amostras reais ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )		
		QuEChERS AOAC	QuEChERS acetato	MSPD
P386-1 (ameixa)	Tebuconazol	22,8	24,1	23,5
P386-3 (ameixa)	Tebuconazol	11,5	11,8	11,0
P268 (maçã)	Acetamiprido	42,0	41,5	40,7
	Pirimetanil	402,0	400,6	398,3
P269 (maçã)	Tiabendazol	315,0	314,7	308,3
P222-6 (pera)	Clorantraniliprole	98,7	103,8	105,3
P277 (pera)	Tiabendazol	145,0	146,2	150,0
P323-8 (pêssego)	Acetamiprido	108,3	103,7	110,0
P386-10 (pêssego)	Clorantraniliprole	14,2	13,6	12,9
	Tebuconazol	33,5	32,6	31,8

#### 4.5 MONITORAMENTO

A análise de todas as amostras foi realizada com adição de padrão de controle (atrazina deuterada) na concentração de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ , e todos os resultados de exatidão e precisão foram satisfatórios (recuperação entre 75 - 112%, com RSD <16%), comprovando a eficácia de extração dos analitos. Também foi avaliado o *ion ratio*, para evitar resultados falso-positivos, sendo encontrados valores de até 20%, dentro da faixa aceitável ( $\pm 30\%$ ) (SANTÉ, 2015).

Durante os 2 anos de recebimento de amostras, foram coletadas 41 amostras de pera, 33 amostras de maçã, 16 amostras de ameixa e 10 amostras de pêssego, provenientes da Argentina e Chile, totalizando 100 amostras analisadas. A Tabela 14 e a Figura 17 apresentam os resultados positivos das amostras analisadas.

O método QuEChERS desenvolvido neste trabalho foi escolhido para o monitoramento das amostras, uma vez que possibilita a análise de um maior número de agrotóxicos, 161 no total. Dos 161 agrotóxicos analisados 21 foram quantificados nas amostras.

**Tabela 14** – Resultados positivos ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) da aplicação do método QuEChERS validado neste trabalho no monitoramento de resíduos de agrotóxicos em ameixa, maçã, pera e pêssigo.

(continua)

Compostos	Amostras de Pera																		
	P222-03	P222-04	P222-05	P222-06	P222-08	P272	P274	P275	P276	P277	P282	P289-4	P289-5	P289-6	P289-7	P289-8	P289-9	P296	P297
Acetamiprido	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	42,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	21,2	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ
Carbendazim	n.d.	44,0	n.d.	n.d.	17,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	10,8	n.d.
Clorantraniliprole	16,6	n.d.	45,8	103,8	n.d.	932,5	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,4	<LOQ	n.d.	<LOQ
Fenazaquim	13,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pirifenoxi	15,2	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pirimetanil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	18,9	<LOQ	125,7	n.d.	229,7	214,5	81,9	n.d.	173,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiabendazol	160,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	666,3	244,2	n.d.	146,2	130,3	n.d.	0,0	95,3	<LOQ	161,4	<LOQ	n.d.	263,1
Tiacloprido	n.d.	n.d.	27,1	n.d.	44,4	12,7	23,2	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	n.d.	20,3	n.d.	n.d.	17,3	n.d.
Tiofanato metílico	n.d.	11,2	n.d.	n.d.	125,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	111,6	n.d.

## Amostras de Ameixa

Compostos	P222-01	P386-1	P386-2	P386-3
Bifentrina	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.
Clorantraniliprole	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ
Tebuconazol	n.d.	24,1	n.d.	11,8

## Amostras de Pêssego

Compostos	P323-8	P374-6	P374-7	P386-9	P386-10	P450-08
Acetamiprido	103,7	34,9	n.d.	55,1	n.d.	n.d.
Clorantraniliprole	n.d.	n.d.	n.d.	16,8	13,6	n.d.
Imidacloprido	n.d.	10,7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Pirimetanil	<LOQ	27,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tebuconazol	n.d.	40,3	588,8	<LOQ	32,6	22,0

(conclusão)

## Amostras de Maçã – parte I

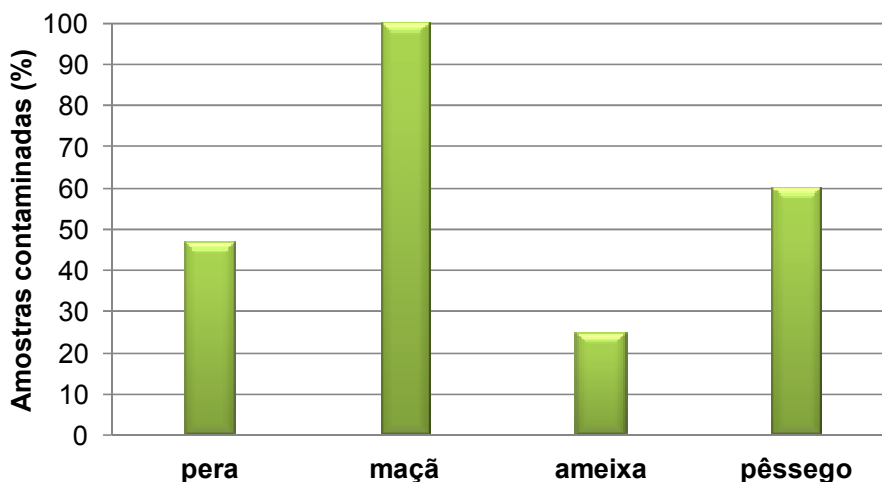
Compostos	P222-02	P268	P269	P270	P271	P281	P289-1	P289-2	P289-3	P293	P294	P295	P298	P299	P323-1	P323-2	P323-3	P323-4	P358-1	P358-2
Acetamiprido	21,5	41,5	n.d.	13,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	31,3	10,5	<LOQ	117,2	n.d.	n.d.	47,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Boscalida	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,2
Carbendazim	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	13,0	n.d.	<LOQ	12,8	n.d.	n.d.	23,8	n.d.	n.d.	38,7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clorpirifós	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	22,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clorantraniliprole	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	n.d.	28,7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24,4	12,9	20,7	14,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Espirodiclofem	17,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	22,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Metoxifenoazida	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,5	n.d.	n.d.	n.d.
Pimimetanil	2334,6	400,6	n.d.	88,9	67,7	n.d.	11,0	n.d.	n.d.	n.d.	53,1	<LOQ	1400,7	1382,1	383,0	780,1	869,0	359,6	1243,7	n.d.
Tiabendazol	n.d.	n.d.	314,7	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiacloprido	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.	<LOQ	n.d.	12,5	21,4	n.d.	n.d.	n.d.
Tiofanato metílico	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	71,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

## Amostras Maçã – parte II

Compostos	P386-4	P386-5	P386-6	P386-7	P391-1	P391-2	P391-3	P433-1	P450-01	P450-02	P450-03	P450-04	P273
Acetamiprido	55,8	n.d.	<LOQ	n.d.	21,6	n.d.	10,8	<LOQ	n.d.	11,9	<LOQ	n.d.	n.d.
Carbendazim	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	17,5	n.d.	n.d.	82,6	n.d.	n.d.
Clorantraniliprole	<LOQ	<LOQ	n.d.	n.d.	n.d.	16,1	5,3	26,7	10,4	37,9	n.d.	n.d.	n.d.
Fosmete	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.
Metoxifenoazida	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.
Piraclostrobina	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.
Pimimetanil	234,3	1351,6	n.d.	316,3	n.d.	n.d.	14,7	n.d.	n.d.	415,0	n.d.	16,7	268,3
Tebufenazida	n.d.	n.d.	25,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiabendazol	n.d.	n.d.	323,4	n.d.	253,0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	775,3	31,2	n.d.	n.d.
Tiacloprido	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	30,9	n.d.	19,9	n.d.	n.d.	n.d.	3,6	n.d.	n.d.

n.d. – analito não detectado; &lt; LOQ - analito identificado, mas não quantificado.

**Figura 17** – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêssigo) em relação as matrizes



Quanto às amostras de pera, 20 de 41 amostras analisadas apresentaram resíduos de um ou mais agrotóxicos, ou seja 48% (Figura 17). Nove compostos diferentes foram determinados, sendo que o composto que apareceu com maior frequência foi o tiabendazol e o que apareceu em maior concentração foi o clorantraniliprole ( $932,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Tiabendazol é um fungicida do grupo benzimidazol com LMR (Brasil) de  $10.000 \mu\text{g kg}^{-1}$  para maçã e pera, ele é recomendado para produção a cultura de pera e encontra-se dentro dos limites estabelecidos.

Han *et al.* (2015) estudaram a presença de resíduos de agrotóxicos na casca, polpa e na embalagem de papel de peras produzidas na China e encontraram clorpirifós ( $10,0$  a  $846 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), malationa ( $5,8$  a  $239 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) e difenoconazol ( $65$  a  $105 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) na casca; pirimetanil na polpa ( $0,3$  a  $235 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) e na casca ( $2,1$  a  $1859 \mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Dentre as 33 amostras de maçã, todas apresentavam pelo menos resíduo de um agrotóxico, como pode ser observado na Figura 17, onde apenas a maçã chegou a 100% das amostras positivas para um ou mais agrotóxicos. Dos compostos analisados, 14 deles foram determinados em concentrações <LOQ até  $2.334,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Dos agrotóxicos recomendados para produção no Brasil, foram encontrados nas amostras: acetamiprido, carbendazim, clorantraniliprole, espiroclorfenol, metoxifenozida, piraclostrobina, pirimetanil, tebufenozida, tiabendazol e tiofanato-metílico.

O composto que apareceu com maior frequência foi o pirimetanil, sendo determinado em 21 amostras de maçã. Além disso, o pirimetanil possuiu também a maior concentração dentre todas as amostras, pois a amostra P222-02 apresentou

2.334,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Pirimetanil é um fungicida do grupo anilinopirimidina com LMR (Brasil) de 1.000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para maçã e proibido para pera, estando assim, acima dos limites recomendados para a cultura analisada.

TICHA *et al.* (2008) avaliaram a presença de resíduos de 8 agrotóxicos durante o plantio e a estocagem de maçãs, e também determinaram a presença de pirimetanil e tebuconazol, entre outros compostos analisados por cromatografia gasosa.

Dentre as 16 amostras de ameixa analisadas 4 foram positivas (25%, Figura 17), sendo que 4 compostos foram determinados, nenhum indicado para a cultura; o composto tebuconazol apresentou a maior concentração (24,1  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Da mesma forma, das 10 amostras de pêssigo analisadas, foram quantificados resíduos de agrotóxicos em 6 destas (60%, Figura 17). Dos 5 compostos determinados, apenas três deles (clorantraniliprole, imidacloprido e tebuconazol) são indicados para esta cultura; tebuconazol foi o que apareceu com maior frequência e também em maior concentração (588,8  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Tebuconazol é um fungicida do grupo triazol com LMR (Brasil) de 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para maçã, sem limites estabelecidos para outras culturas no país.

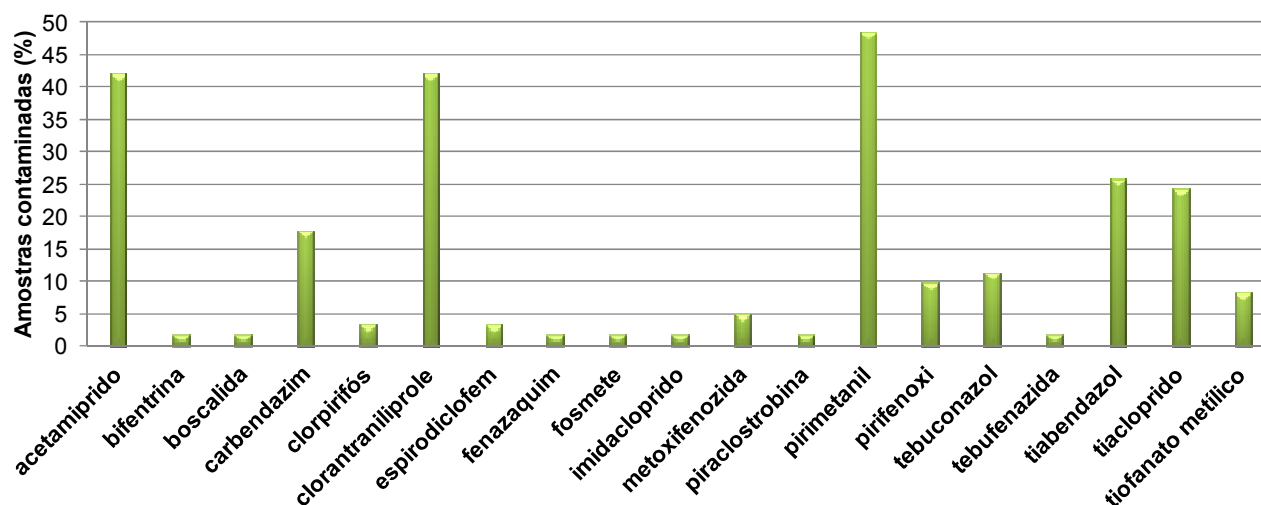
NÚÑEZ *et al.* (2012) determinaram 100 compostos em amostras de ameixa e pêssigo e encontraram com maior frequência resíduos azoxistrobina (0,1 a 1  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ), além dos compostos diazinona, etiofencarbe, imazalil e terbutilazina.

Em relação aos compostos, bem como para a matriz maçã, o pirimetanil foi o analito encontrado em um maior número de amostras de frutas, cerca de 48% de acordo com a Figura 18. Além disso, este agrotóxico também apresentou as maiores concentrações, variando de < LOQ a 2334,6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Tabela 14). O LMR no Brasil é de 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e na União Europeia 15000  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , estando desta forma, dentro do permitido na Europa, porém acima do permitido no Brasil.

O clorantraniliprole foi o segundo analito a aparecer mais vezes nas amostras considerando todas as matrizes analisadas (Figura 18), em concentrações de < LOQ a 932,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Tabela 15). Clorantraniliprole é um inseticida do grupo antranilamida recomendado para as culturas de maçã e pêssigo, possuindo LMR (Brasil) de 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  apenas para a cultura da maçã, sendo assim, algumas amostras estavam com valores acima do LMR permitido no país.



**Figura 18** – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêsego) em relação aos compostos



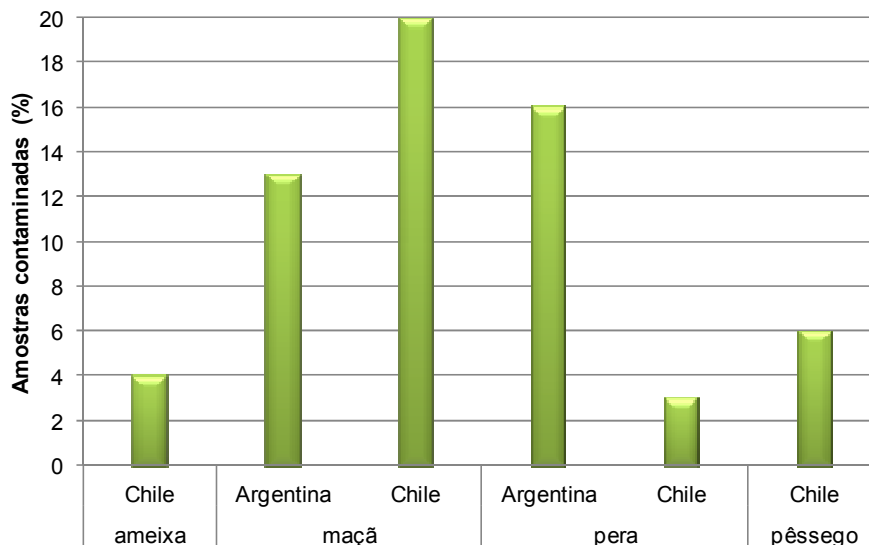
**Tabela 15** – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêsego) em relação às concentrações

Compostos	Concentração ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LMR ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )		
		Brasil	UE	Codex
Acetamiprido	< LOQ a 117,2	100	800	P
Bifentrina	< LOQ	P	300	P
Boscalida	12,2	P	2000	2000
Carbendazim	< LOQ a 82,6	5000	200	P
Clorantraniliprole	< LOQ a 932,5	100	50	P
Clorpirifós	22,1 e 24,1	1000	10	P
Espirodiclofem	17,3 e 22,2	500	800	P
Fenazaquim	13,4	P	100	P
Fosmete	< LOQ	1000	P	P
Imidacloprido	10,7	P	500	500
Metoxifenoazida	< LOQ a 12,5	200	2000	P
Piraclostrobina	< LOQ	2000	500	500
Pirifenoxi	< LOQ a 15,2	P	P	P
Pirimetanil	< LOQ a 2334,6	1000	15000	P
Tebuconazol	< LOQ a 588,8	100	300	1000
Tebufenazida	25,9	500	1000	P
Tiacloprido	< LOQ a 44,4	P	300	P
Tiabendazol	775,3	10000	5000	P

P: proibido, segundo o MAPA pode-se considerar  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$

Em relação aos países de origem das amostras contaminadas, há uma variação de acordo com a matriz, conforme Figura 19. Enquanto que as amostras de ameixa, maçã e pêsego contaminadas provêm principalmente do Chile, as amostras de pera positivas para agrotóxicos são originárias da Argentina.

**Figura 19** – Resultados da análise de amostras reais (ameixa, maçã, pera e pêsego) em relação ao país de origem



O Chile apresentou em 2012 um informe do “*Programa de monitoreo de residuos de plaguicidas en frutas*”, onde constata a presença de tiabendazole ( $4,75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) e pirimetanil ( $10,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) em amostras de maçã e, também, tiabendazole ( $140 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) e imazalil ( $80 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) em amostras de pêsego.

Resultados de monitoramento de amostras importadas são escassez no Brasil, entretanto o PARA divulgou em novembro/2016 um relatório dos resultados da análise de 2013, 2014 e 2015. Das frutas em estudo neste trabalho, o PARA monitorou apenas a cultura de maçã, onde 764 amostras provenientes de diferentes mercados de todo o Brasil foram analisadas de 2013 a 2015. Destas, 683 amostras foram consideradas satisfatórias, sendo que dez não apresentaram resíduos dos agrotóxicos pesquisados e 673 apresentaram resíduos em concentrações iguais ou inferiores ao LMR (ANVISA, 2016).

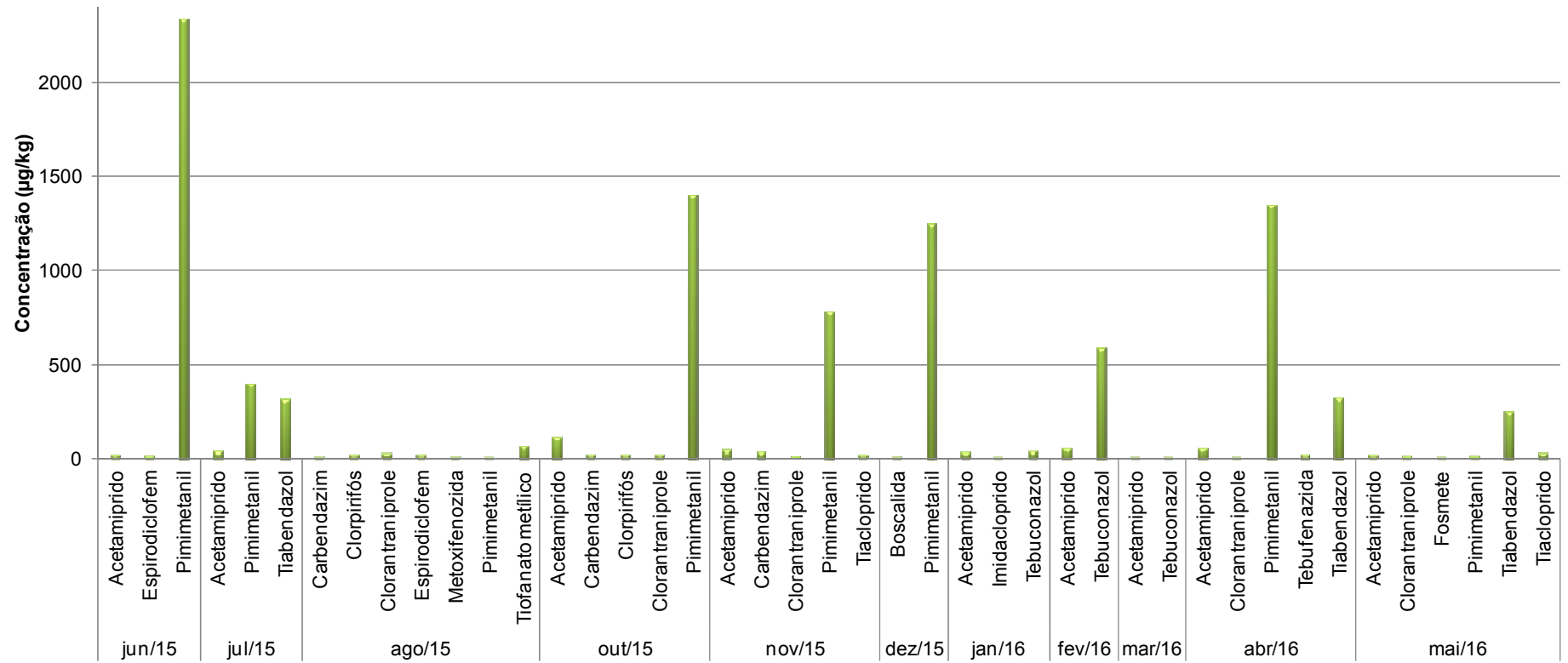
No total, foram detectados 47 agrotóxicos diferentes dentre os 185 pesquisados. O agrotóxico carbendazim foi determinado em 522 amostras, acetamiprido em 356 amostras e pirimetanil em 17 amostras. Das amostras analisadas, 68 apresentaram agrotóxicos não autorizados para a cultura de maçã, por exemplo, boscalida em 1 amostra e tiacloprido em 23 amostras. Ainda, o composto clorpirifós foi detectado em 260 amostras, fosmete em 125 amostras, metoxifenoazida em 1 amostra, piraclostrobina e 146 amostras, tiabendazol em 13 amostras mas todas em níveis abaixo do LMR. Os

agrotóxicos clorantraniliprole, espirodiclofem, tebufenozida não foram monitorados (ANVISA, 2016).

Finalmente, estudou-se a distribuição dos analitos conforme o mês de coleta (Figura 20). Este estudo foi realizado apenas para a matriz maçã, uma vez que todas as amostras foram positivas e havia dados de coleta de junho de 2015 a maio de 2016. Observa-se na Figura 20 que o pirimetanil foi o analito presente no maior número de amostras em 6 meses (junho, julho, outubro, novembro, dezembro e abril). Este é um agrotóxico recomendado para a cultura, logo nota-se que seu uso é contínuo na produção de maçãs. Ainda, o composto tiabendazol foi quantificado em altas concentrações nos meses de abril, maio e julho. Este composto é um fungicida muito utilizado na cultura de maçã e, também foi encontrado no monitoramento de agrotóxicos em frutas no Chile em 2012, como mencionado anteriormente.

A presença intensa de resíduos de agrotóxicos em amostras de ameixa, maçã, pera e pêsego demonstradas neste e em outros trabalhos, enfatizam a grande preocupação com a presença de resíduos de pesticidas nos alimentos em todo o mundo. Há, dessa forma, a urgente necessidade de se coibir o uso excessivo, muitas vezes irresponsável dos agrotóxicos, além de promover políticas públicas alinhadas com a lógica de uma transição agroecológica e promotora da qualidade alimentar das populações brasileiras (CONSEA, 2012).

**Figura 20** – Resultados da análise de amostras reais (maçã) em relação ao mês de coleta



## 5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, é possível concluir que as modificações realizadas nos dois métodos desenvolvidos foram extremamente importantes para assegurar a confiabilidade dos resultados, bem como atingir os objetivos propostos.

No método QuEChERS, a etapa de limpeza foi substituída por uma maior diluição do extrato em água ultrapura, mostrando-se de grande importância durante o desenvolvimento do trabalho, pois um extrato com menor quantidade de interferentes é essencial para a manutenção de todo o sistema de UHPLC-MS/MS, além de influenciar na recuperação dos analitos em estudo. Assim, o uso de maior fator de diluição aumentou a detectabilidade e também acelerou o procedimento de extração.

O método MSPD proposto neste trabalho é uma inovação científica de extrema relevância na análise de resíduos de agrotóxicos, uma vez que permite a extração com baixo consumo de solvente e tempo de análise curto. Para isto foi fundamental a utilização das esferas de aço inoxidável, que melhoraram a precisão do método, diminuindo a perda de analitos e o tempo de homogeneização. Enquanto que a extração assistida por ultrassom foi essencial para se obter melhores resultados de exatidão do método, que requer uma pequena quantidade de amostra e solvente, obtendo resultados igualmente robustos em comparação com procedimentos clássicos e oficiais, como o método QuEChERS acetato.

O monitoramento de amostras de ameixa, maçã, pera e pêssigo, mostrou uma grande preocupação com a contaminação das mesmas, uma vez que 21 compostos foram quantificados em concentração até  $2.334,6 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o composto pirimetanil em uma amostra de maçã. Das 100 amostras analisadas 62 estavam contaminadas com pelo menos um agrotóxico. A contaminação demonstra o não cumprimento dos direitos humanos quanto à uma alimentação saudável e livre de contaminantes e, portanto, deve o número de amostras importadas deve ser aumentado para obterem-se dados mais concretos quanto ao consumo brasileiro de alimentos importados.

Dessa forma, conclui-se que ambos os métodos propostos, QuEChERS e MSPD, para a determinação de agrotóxicos em frutas mostraram-se eficazes, bem como o uso do UHPLC-MS/MS, podendo ser aplicados em análises de rotina e monitoramento, por atender as legislações de acordo com os parâmetros de validação de métodos cromatográficos.

## **6 ENCAMINHAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS**

Nas atividades laboratoriais gera-se uma quantidade significativa de resíduos líquidos e sólidos, que devem ser adequadamente tratados ou descartados.

Neste sentido, os resíduos gerados durante o desenvolvimento deste trabalho foram armazenados em recipientes adequados e encaminhados ao almoxarifado do Departamento de Química (DQ) da UFSM, o qual é o responsável pela destinação dos resíduos gerados que serão posteriormente tratados por uma empresa terceirizada capacitada nessa área.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Ampliar o escopo de agrotóxicos a serem analisados em frutas por UHPLC-MS/MS;
- Desenvolver um método de análise cromatográfica por GC-MS/MS para expandir o escopo para analitos não passíveis de análise por cromatografia líquida;
- Testar sorventes alternativos para MSPD, como terra diatomácea e C18 de cartuchos de SPE reutilizado;
- Avaliar a aplicabilidade do método de extração MSPD modificado em outros tipos de matrizes, como alimentos de origem animal e amostras ambientais;
- Investigar a aplicação do método MSPD modificado para determinação de outros contaminantes orgânicos, como medicamentos veterinários, drogas de abuso e poluentes orgânico persistentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHILASH, P.C.; SINGH, V.; SINGH, N. Simplified determination of combined residues of lindane and other HCH isomers in vegetables, fruits, wheat, pulses and medicinal plants by matrix solid-phase dispersion (MSPD) followed by GC-ECD. **Food Chemistry**, v. 113, p. 267-271, 2009.

AGROFIT. Consulta de ingrediente ativo – ameixa, maçã, pêra, pêssego, 2015. Disponível em: <<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

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 AOAC International**, v. 86, p. 412, 2003.

ANASTASSIADES, M.; SCHERBAUM E.; TAŞDELENB.; ŠTAJNBAHER D. Recent Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis. **Crop Protection, Public Health, Environmental Safety**, Wiley-VCH, Weinheim, Germany (2007) 439 p.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2011a. Agrotóxicos e Toxicologia. Disponível em: <<http://www.portalanvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/agrotoxicologia/>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2011b. Programa de Análise de Resíduo de Agrotóxico em Alimentos (PARA), dados da coleta e análise de alimentos de 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/b380fe004965d38ab6abf74ed75891ae/Relat%C3%B3rio+PARA+2010+-+Vers%C3%A3o+Final.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 25 dez. 2016.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2012a. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Programa+de+Analise+de+Residuos+de+Agrotoxicos+em+Alimentos>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2012b. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, RE nº 27, de 17/05/2012.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2016. Relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015, de 25/11/2016.



BAIRD, C. Química Ambiental, 2ª ed., **Bookman**: Porto Alegre, 2002, cap. 6 e 7.

BAKIRSI, G. T.; HISIL, Y. Fast and simple extraction of pesticide residues in selected fruits and vegetables using tetrafluoroethane and toluene followed by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1901-1913, 2012.

BARBIERI; VIZZOTTO. Pequenas frutas ou frutas vermelhas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.33, n. 268, p.7-10, 2012.

BARBOSA, L. C. A. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. Viçosa, **UFV**, 2004. 215 p.

BRASIL, 2002. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. <<http://www.inpev.org.br/responsabilidades/legislacao/images/Decreto.PDF>>. Acesso em: 26 dez. 2016.

BANDEIRA, D. L.; QUINCOZES, E. R. F.; PEREIRA, D. P. Cultivo do Pessegueiro. Embrapa Clima Temperado, Sistemas de Produção 4, ISSN 1806-9207, Versão Eletrônica, Nov./2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/CultivodoPessegueiro/>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

BARKER, S. A.; LONG, A. R.; SHORT, C. R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 475, p. 353-361, 1989.

BARKER, S. A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p. 63-68, 2000.

BARKER, S. A. Use of matrix solid-phase dispersion for determining pesticides in fish and foods. In: WALKER, J. M. (ed) *Methods in biotechnology: analytical protocols for pesticide analysis*, **Humana Press**, cap. 5, 2005.

CABRERA, L. C.; MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Extração em Fase Sólida Dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 227-240, 2012.

CABRERA, L. C.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; PRIMEL, E. G.; ZANELLA, R. Evaluation of alternative sorbents for dispersive solid-phase extraction clean-up in the QuEChERS method for the determination of pesticide residues in rice by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v.39, p.1945-1954, 2016.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; MENEZES, E. J.; ESCARRONE, A. L. V.; MARTINS, C. M. G.; BIANCHINI, A.; PRIMEL, E. G. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC-MS. **Talanta**, v. 112, p. 63-68, 2013.

CAO, Y.; TANG, H.; CHEN, D.; LI, L. A novel method based on MSPD for simultaneous determination of 16 pesticide residues in tea by LC-MS/MS. **Journal of Chromatography B**, v. 998, p. 72-79, 2015.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERI, C.; GIANANTI, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2521-2532, 2010.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C. Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **Abrasco**, Rio de Janeiro, abril de 2012. 1ª Parte. 98 p.

CASTRO, L. A. S. Cultivo da Ameixeira. Embrapa Clima Temperado Sistemas de Produção 2, ISSN 1806-9207, Versão Eletrônica, Nov./2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ameixa/CultivodaAmeixeira/index.htm>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

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.

CODEX ALIMENTARIUS. Recommended methods of sampling for the determination of pesticide residues for compliance with MRLs CAC/GL 33-1999. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.org/>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

CODEX ALIMENTARIUS. Portion of commodities to which codex maximum residue limits apply and which is analyzed CAC/GL 41-1993. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.org/>>. Acesso em: 12 ago. 2016.

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, 2ª ed, **Unicamp**: Campinas, 2009, cap: 8 e 9.

CONSEA. Os impactos dos agrotóxicos na segurança alimentar e nutricional: contribuições do Consea. Brasília, setembro de 2012.

CORILO, Y. E., 2009. Quadrupolos. Disponível em: <<http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=8&codassunto=17&numero=3>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

COSTA, I.; LUIZ, I. F.; JULIÃO, L.; PALMIERI, F. G. Maçã: começa colheita de gala da safra 2016/17. **Hortifruti Brasil**, n. 164, p. 33, 2017.

COSTA, I. Maçã: com oferta restrita, preços ficam elevados o ano todo. **Hortifruti Brasil**, n. 163, p. 42-43, 2017.

CUNICO, M. W. M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, v. 9, p. 23, 2008.

DÓRIA, H. S. Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD). In: BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. D.; QUEIROZ, M. E.C. (Coord.). Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos. 1. ed. Rio de Janeiro: **LTC**, 2015. 263 p.

EMBRAPA. A cultura da pêra / Embrapa Clima Temperado. – Brasília, DF: Embrapa, **Informação Tecnológica**, 2007. 58 p.: il. – (Coleção Plantar, 58). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11924/2/00081330.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2017.

EURL-FV. Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection 0.1. Disponível em: <[http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/fv/ethyl\\_acetate\\_extraction.pdf](http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/fv/ethyl_acetate_extraction.pdf)>. Acesso em 30 fev. 2016.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. S.; SCHMTIZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e Perspectivas da Fruticultura de Clima Temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, p. 109-120, 2011.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS), 2011. FAOStat - Food and Agricultural commodities production. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 23 jan. 2017.

FENIK, J.; TANKIEWICZ, M.; BIZIUK, M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 814-826, 2011.

FERMAM, R. K. S.; ANTUNES, A. M. de S. Uso de defensivos agrícolas, Limites Máximos de Resíduos e impacto no comércio internacional: estudo de caso. **Economia e Agronegócio**, v.7, n. 2, p. 197-214, 2009.

FERRER, V.; LOZANO, A.; AGÜERA, A.; GIRÓN, A. J.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7634-7639, 2011.

FEKETE, S.; SCHAPPLER, J.; VEUTHEY, J.-L.; GUILLARME, D. Current and future trends in UHPLC. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 63, p. 2-13, 2014.

GOTO, T.; ITO, Y.; YAMADA, S.; MATSUMOTO, H.; OKA, H.; NAGASE, H. The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column. **Analytica Chimica Acta**, v. 555, p. 225-232, 2006.

GROSS, J. H. Mass spectrometry. A textbook. 1 ed. Alemanha: **Springer**, , 2004.

HAN J.-I.; FANG P.; XU X.-M.; LI-ZHENG X.-J.; SHEN H.T.; REN Y.-T. Study of the pesticides distribution in peel, pulp and paper bag and the safety of pear bagging. *Food Control*, v. 54, p. 338-346, 2015.

HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. 8 ed. Rio de Janeiro: **LTC**, 2012.

HERTZOG, G. I.; SOARES, K. L.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Study of vortex-assisted MSPD and LC-MS/MS using alternative solid supports for pharmaceutical extraction from marketed fish. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 4793-4803, 2015.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: a tutorial review. **Journal of Chromatography B**, v. 910, p. 2-13, 2012.

HYÖTYLÄINEN, T. Critical evaluation of sample pretreatment techniques. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 394, p. 743-758, 2009.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOQ-CGCRE-008, ver. 4, 2011.

JANSSON, C.; PIHLSTRÖMA, T.; ÖSTERDAHL, B. G.; MARKIDES, K. E. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1023, p. 93-104, 2004.

JARDIM, I. C. S. F.; ANDRADE, J. A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, p. 996-1012, 2009.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – Results from 2001 to 2010. **Food Control**, v. 25, p. 607-616, 2012.

JARDIM, A. N. O.; MELLO, A. C.; GOES, F. C. S.; JUNIOR, E. F. F.; CALDAS, E. D. Pesticide residues in cashew apple, guava, kaki and peach: GC–IECD, GC–FPD and LC–MS/MS multiresidue method validation, analysis and cumulative acute risk assessment. **Food Chemistry**, v. 164, p.195-204, 2014.

KEMMERICH, M.; RIZZETTI, T. M.; MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization by Central Composite Design of a Modified QuEChERS Method for Extraction of Pesticide Multiresidue in Sweet Pepper and Analysis by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 728-739, 2015.

KMELLAR, B.; FODOR, P.; PAREJA, L.; FERRER, C.; MARTINEZ-UROZ, M. A.; VALVERDE, A.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1215, p. 37-50, 2008.

KMELLAR, B.; ABRANKÓ, L.; FODOR, P.; LEHOTAY, S. J. Routine approach to qualitatively screening 300 pesticides and quantification of those frequently detected in fruit and vegetables using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Food Additives & Contaminants**, v. 27, p. 1415-1430, 2010.

KRUVE, A.; KÜNNAPAS, A.; HERODES, K.; LEITO, I. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1187, p. 58-66, 2008.

LACASSIE, E., DREYFUSS, M.-F., DAGUET, J. L., VIGNAUD, M., MARQUET, P., LANCHÂTRE, G. Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry multiresidue determination of pesticides in apples and pears. **Journal of Chromatography A**, v. 830, p. 135-143, 1999.

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. Validação de Métodos Cromatográficos de Análise. São Carlos: **RiMa**, 2004, 62 p.

LEHOTAY, S. J., MASTOVSKÁ, K., LIGHTFIELD, A. R. 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 AOAC International**, v. 88, p. 615, 2005.

LÓPEZ, M. G.; FUSSELL, R. J.; STEAD, S. L.; ROBERTS D.; MCCULLAGH, M.; RAO, R. Evaluation and validation of an accurate mass screening method for the analysis of pesticides in fruits and vegetables using liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry with automated detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1373, p. 40-50, 2014.

LUKE, M.; FROBERG, J. E.; MASUMOTO H. T.; J. Extraction and cleanup of organochloride, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography, **Journal of AOAC International**, v. 58, p. 1020-1026, 1975.

LUKE, M.; FROBERG, J. E.; DOOSE, G. M.; MASUMOTO, H. T. Improved multiresidue gas chromatographic determination of organophosphorus, organonitrogen, and organohalogen pesticides in produce, using flame photometric and electrolytic conductivity detectors. **Journal of AOAC International**, v. 64, p. 1187-1195, 1981.

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

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). 2011. Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes - Resíduos e Contaminantes. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/qualidade-seguranca-alimentos-bebidas/alimentos/residuos-e-contaminantes>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

MARUTESCU, L.; CHIFIRIUC, M. C. Molecular mechanisms of pesticides toxicity. In: Grumezescu, A. (Ed.). *New Pesticides and Soil Sensors*. 1. ed. Massachusetts: **Academic Press**, 2017. 792 p.

MATUSZEWSKI, B. K. Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC-MS bioanalysis. **Journal of Chromatography B**, v. 830, p. 293-300, 2006.

MDT. Estrutura e apresentação de Monografias, Dissertações e Teses. Universidade Federal de Santa Maria, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Biblioteca Central. 9ª ed. Santa Maria: **Editora da UFSM**, 2015, 72 p.

MORAIS, E. H. C.; BEGNINI, F. R.; JARDIM, I. C. S. F. Técnicas de preparo de amostra empregadas na determinação de agrotóxicos carbamatos em água e solo. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 146-162, 2013.

MUNARETTO, J. S.; VIERA, M. S.; MARTINS, M. L.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Quantitative Multiclass Pesticide Residue Analysis in Apple, Pear, and Grape by Modified QuEChERS and Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. **Journal of AOAC International**, v.99, p.1426-1435, 2016.

NETO, B. de B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos. 4a ed., **Bookman**, 2010, cap: 6.

NÚÑEZ, A.; GALLART-AYALA, H.; FERRER, I.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T. Strategies for the multi-residue analysis of 100 pesticides by liquid chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1249, p. 164-180, 2012.

ORTELLI, D.; EDDER, P.; CORVI, C. Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 520, p. 33-45, 2004.

PICÓ, Y.; FARRÉ, M.; SOLER, C.; BARCELÓ, D. Identification of unknown pesticides in fruits using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry imazalil as a case study of quantification. **Journal of Chromatography A**, v. 1176, p. 123-134, 2007.

PIRSAHEB, M.; FATTAHI, N.; POURHAGHIGHAT, S.; SHAMSIPUR, M.; SHARAFI, K. Simultaneous determination of imidacloprid and diazinon in apple and pear samples using sonication and dispersive liquid-liquid microextraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 825-831, 2015.

PIZZUTTI, I. R.; KOK, A. de; ZANELLA, R.; ADAIME, M. B.; HIEMSTRA, M.; WICKERT, C.; PRESTES, O. D. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization. **Journal of Chromatography A**, v. 1142, p. 123, 2007.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS – Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de

pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32 p. 1620-1634, 2009.

PRESTES, O. Método rápido para determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em alimentos de origem animal por LC-MS/MS. Tese de doutorado em Química, UFSM, Santa Maria, 2011. 130 p.

RADIŠIĆ, M.; GRUJIĆ, S.; VASILJEVIĆ, T.; LAUŠEVIĆ, M. Determination of selected pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 113, p. 712-719. 2009.

RAJSKI, L.; LOZANO, A.; BELMONTE-VALLES, N.; UCLÉS, A.; UVLÉS, S.; MEZCUA, M.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Comparison of three multiresidue methods to analyse pesticides in green tea with liquid and gas chromatography/tandem mass spectrometry. **Analyst**, v. 138, p. 921-93, 2013.

RAMBLA-ALEGRE, M.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. **Journal of Chromatography A**, v. 1232, p. 101-109, 2012.

RAMOS, J. J.; RIAL-OTERO, R.; RAMOS, L.; CAPELO, J. L. Ultrasonic-assisted matrix solid-phase dispersion as an improved methodology for the determination of pesticides in fruits. **Journal of Chromatography A**, v. 1212, p. 145-149, 2008.

RIBANI, M.; BOTTOLI, 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, p. 771, 2004.

RIZZETTI, T. M.; KEMMERICH, M.; MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 196, p. 25-33, 2015.

ROMBALDI, C.; ARIAS, J. L. O.; HERTZOG, G. I.; CALDAS, S. S.; VIEIRA, J. P.; PRIMEL, E. G. New environmentally friendly MSPD solid support based on golden mussel shell: characterization and application for extraction of organic contaminants from mussel tissue. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 4805-4814, 2015.

SANNINO, A.; BOLZONI, L.; BANDINI, M. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1036, p. 161-169, 2004.



SANTE (2015) Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document n° SANTE/11945/2015.

SOLER, C.; JAMES, K. J.; PICÓ, Y. Capabilities of different liquid chromatography tandem mass spectrometry systems in determining pesticide residues in food Application to estimate their daily intake. **Journal of Chromatography A**, v. 1157, p. 73-84, 2007.

SOUZA, M. R. R.; MOREIRA, C. O.; LIMA, T. G.; AQUINO, A.; DÓREA, H. S. Validation of a matrix solid phase dispersion (MSPD) technique for determination of pesticides in lyophilized eggs of the chicken *Gallus gallus domesticus*. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 195-401, 2013.

STASHENKO, E. E.; MARTÍNEZ, J. R. GC-MS: Más de un Analizador de Masas, ¿para qué? **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 25, 2010.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Quimica Nova**, v. 29, p. 338, 2006.

TICHA, J.; HAJŠLOVA, J.; JECH, M.; HONZICEK, J.; LACINA, O.; KOHOUTKOVA, J.; KOCOUREK, V.; LANSKY, M.; KLOUTVOROVA, J.; FALTA, V. Changes of pesticide residues in apples during cold storage. **Food Control**, v. 19, p. 247-256, 2008.

USDA (United States Department of Agricultural). Nutrient data for 2371 (pear), 2356 (peach), 2171 (apple) and 2398 (plum). Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>>. Acesso em 10 de jan. 2017.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Produção Integrada de Maçãs no Brasil. Embrapa Uva e Vinho, Sistema de Produção 1, ISSN 1678-8761, Versão Eletrônica, Jan/2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Maca/ProducaoIntegradaMaca/index.htm>>. Acesso em: 28 jan. 2017.

VIANA, M. M.; JULIÃO, L. Importação: um negócio que representa ameaças, mas também oportunidades ao produtor brasileiro. Hortifruti Brasil, nov de 2013. Disponível em: <[http://cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/129/mat\\_capa.pdf](http://cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/129/mat_capa.pdf)>. Acesso em: 18 jan. 2017.

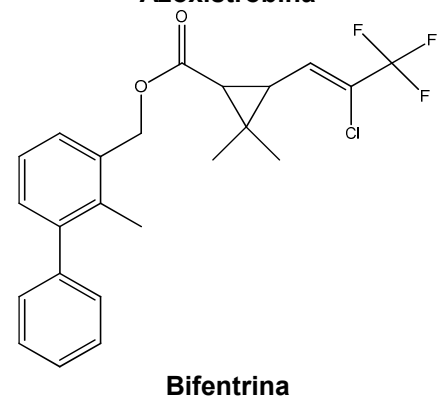
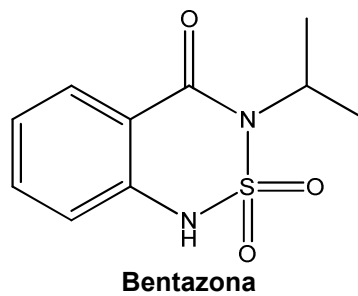
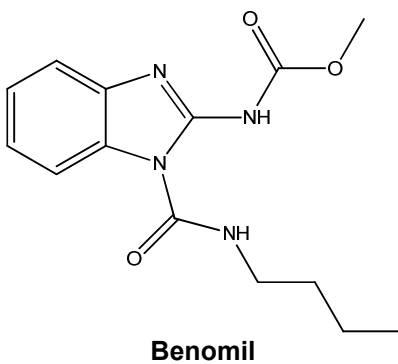
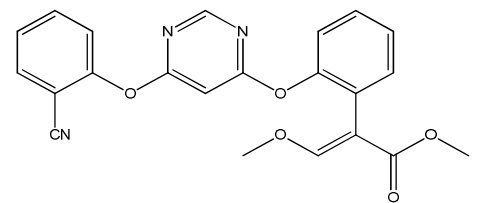
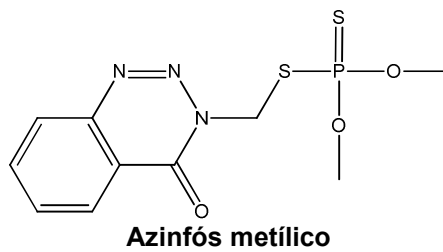
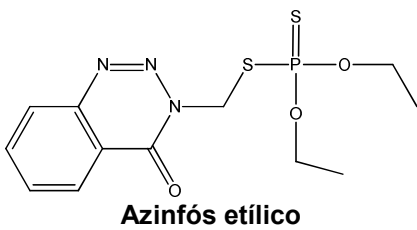
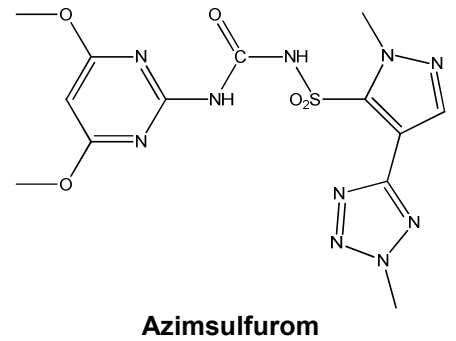
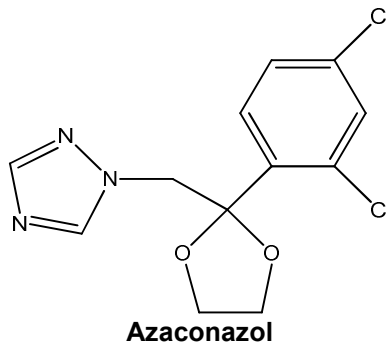
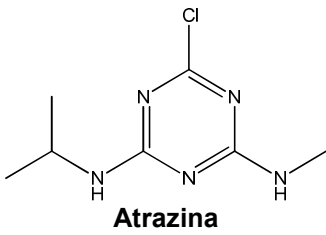
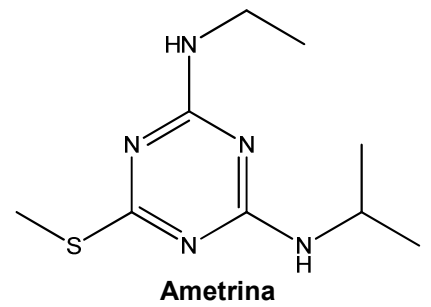
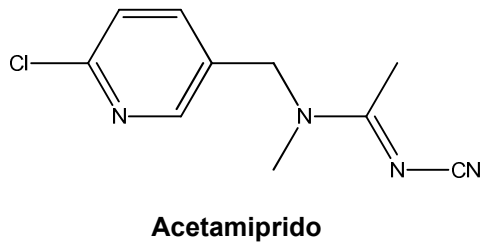
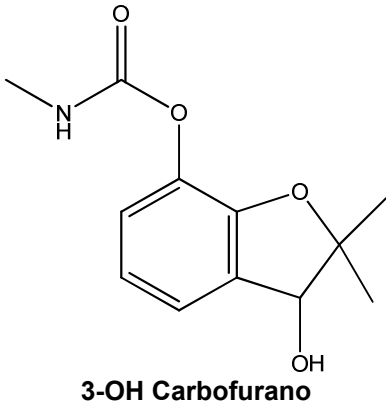
WILKOWSKA, A.; BIZIUK, M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. **Food Chemistry**, v. 125, p. 803, 2011.

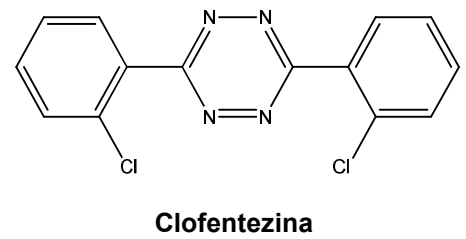
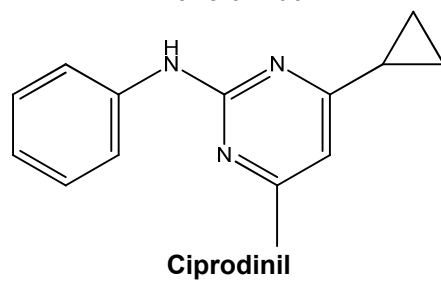
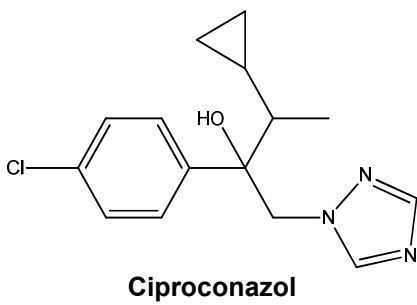
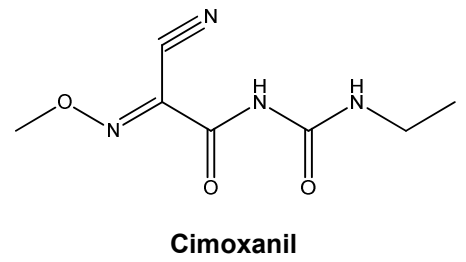
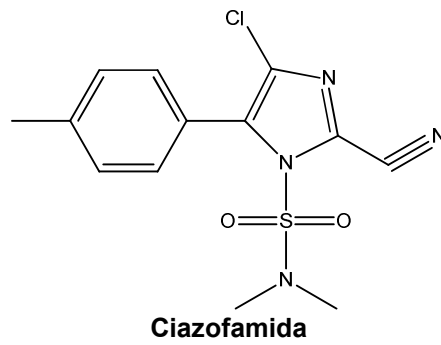
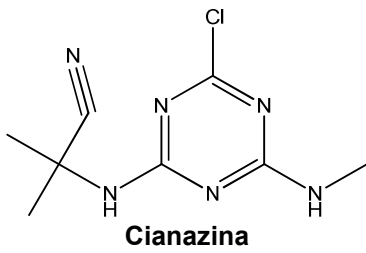
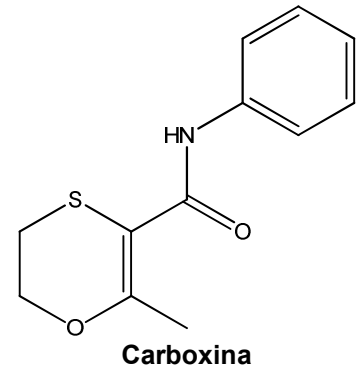
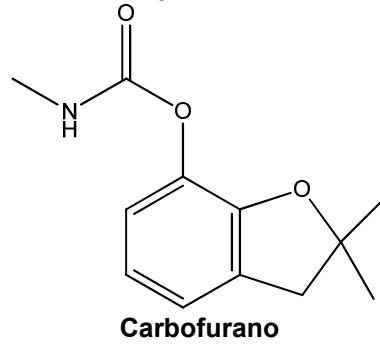
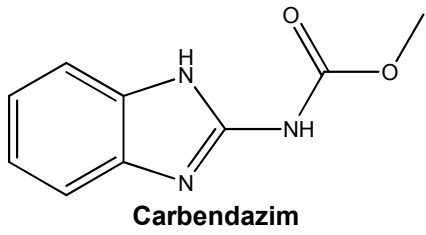
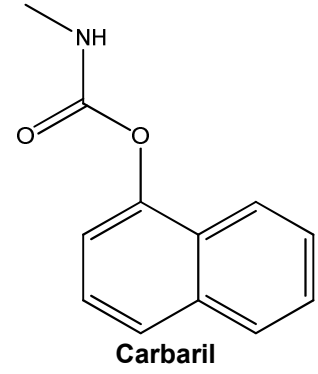
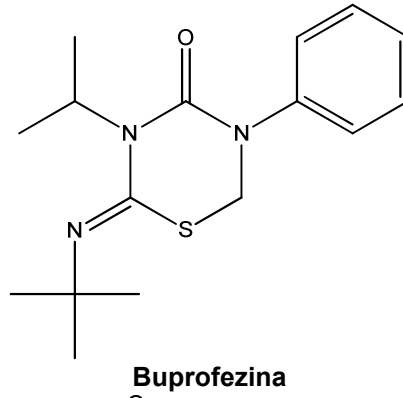
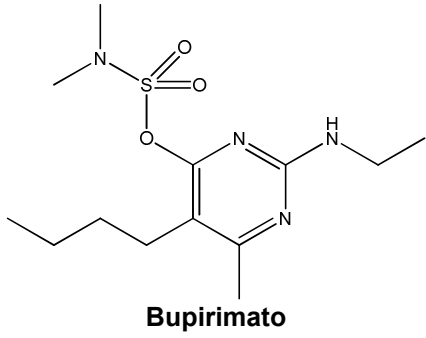
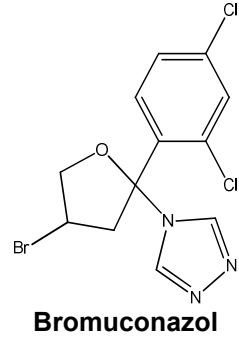
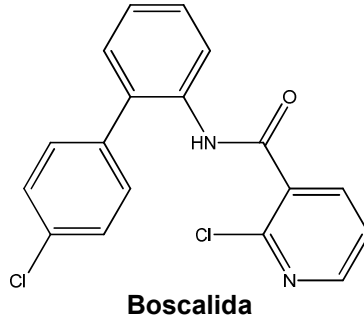
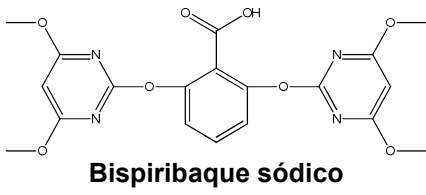
WU, R.-N.; DANG, Y.L.; NIU, L.; HU, H. Application of matrix solid-phase dispersion-HPLC method to determine patulin in apple and apple juice concentrate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 582-586, 2008.

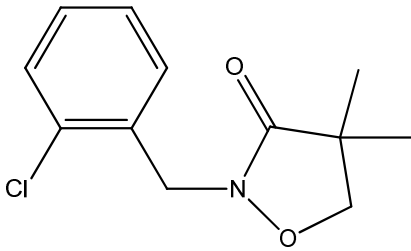
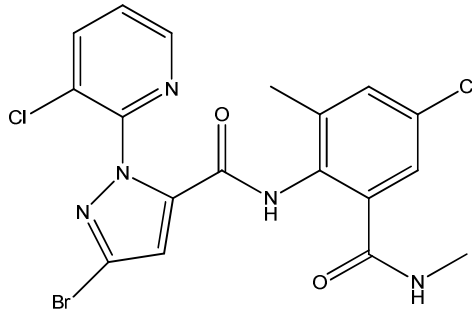
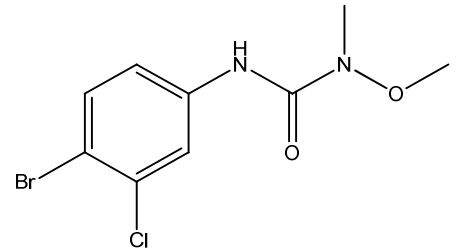
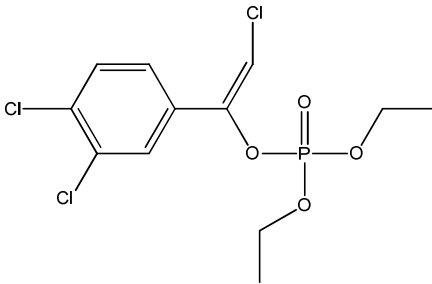
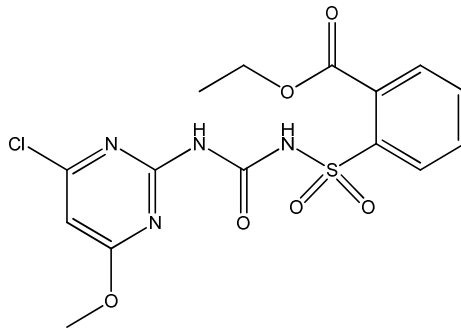
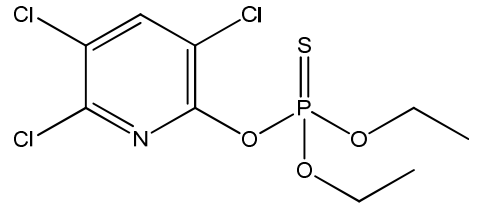
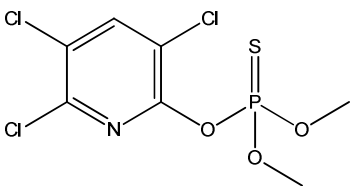
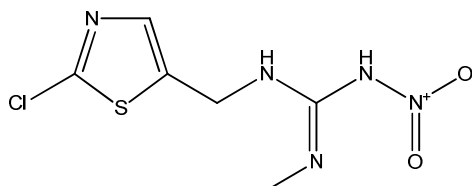
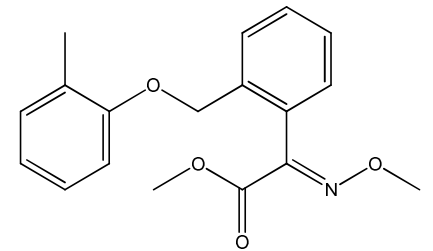
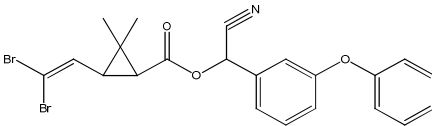
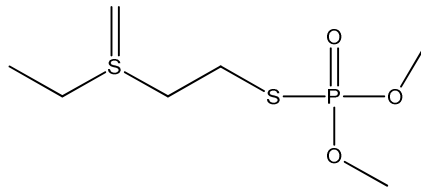
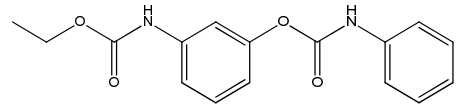
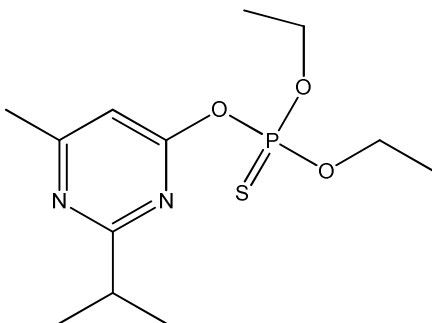
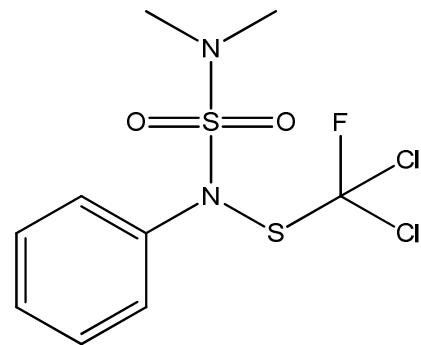
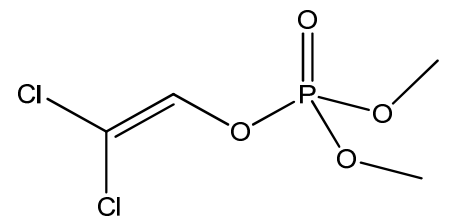
YANG, P.; CHANG, J. S.; WONG, J. W.; ZHANG, K.; KRYNITSKY, A. J.; BROMIRSKI, M.; WANG, J. Effect of Sample Dilution on Matrix Effects in Pesticide Analysis of Several Matrices by Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 5169-5177, 2015.

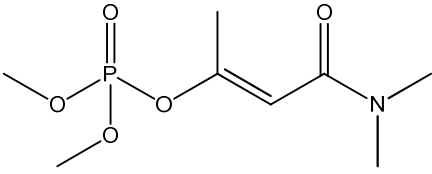
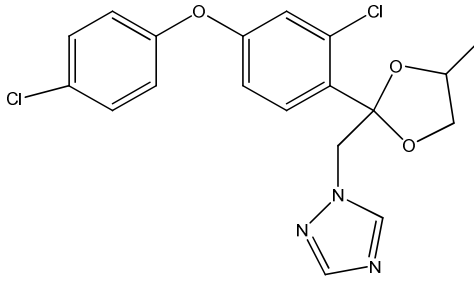
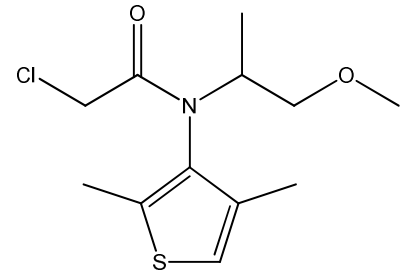
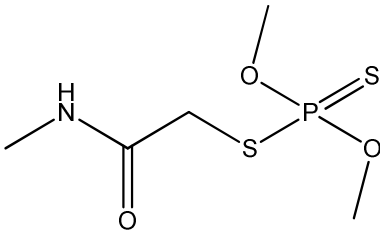
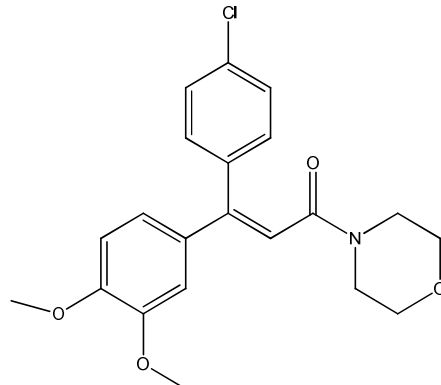
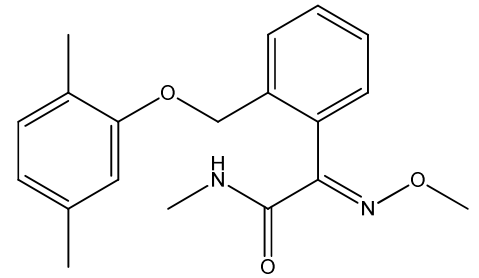
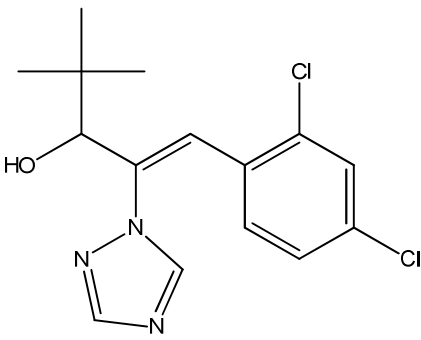
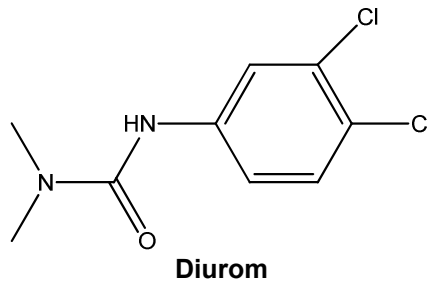
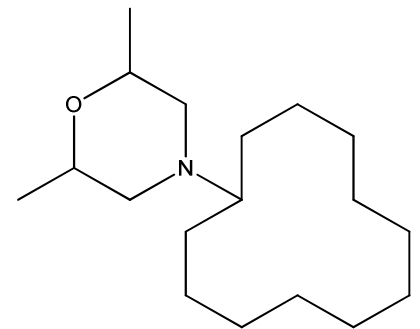
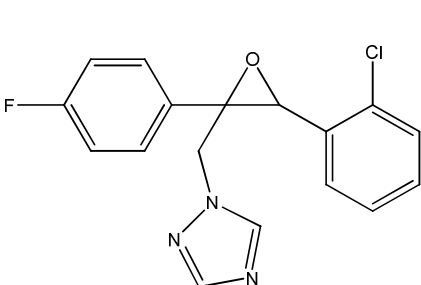
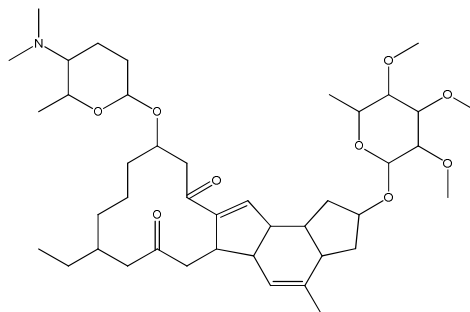
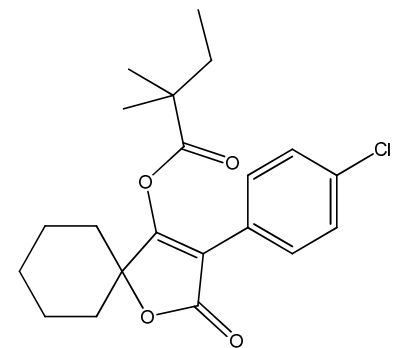
## ANEXOS

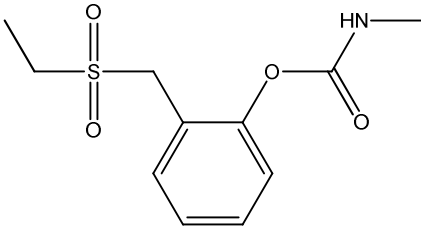
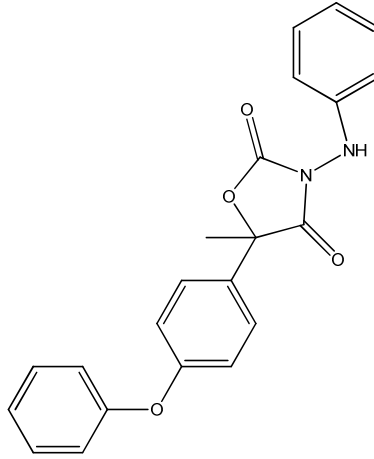
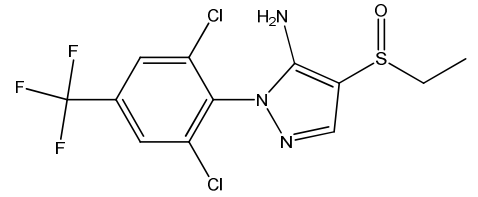
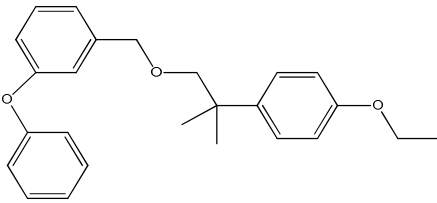
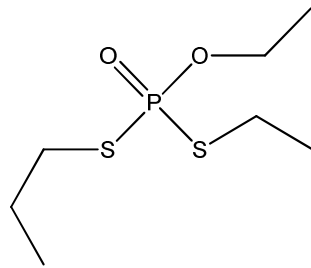
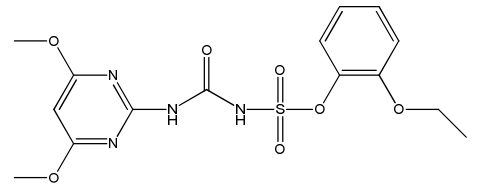
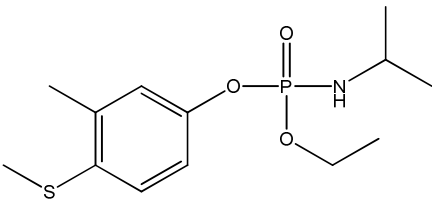
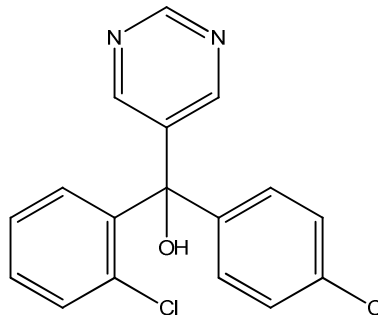
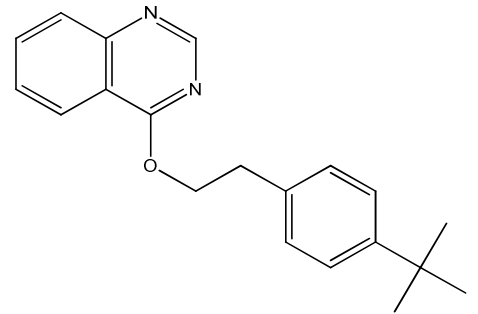
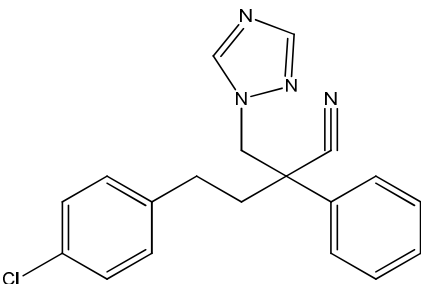
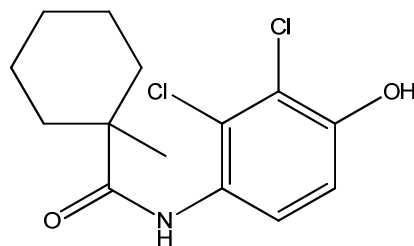
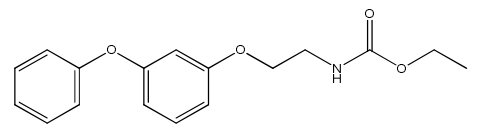
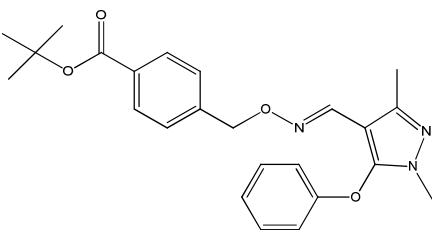
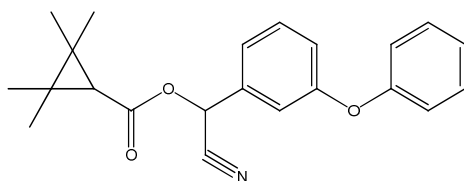
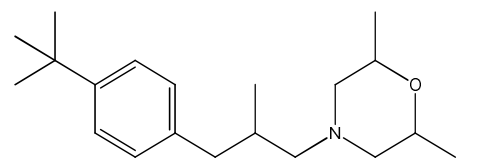
### Anexo A – Fórmulas estruturais dos agrotóxicos em estudo.

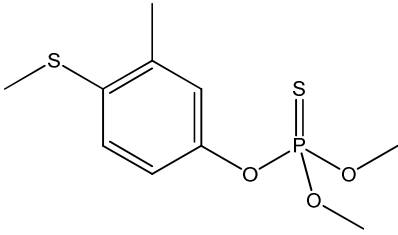




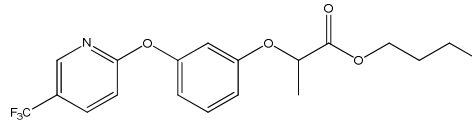
**Clomazone****Clorantraniliprol****Clorbromurom****Clorfenvinfos****Clorimurom etílico****Clorpirifós****Clorpirifós metílico****Clotianidina****Cresoxim metílico****Deltametrina****Demetom sulfona****Desmedifam****Diazinona****Diclofluanida****Diclorvós**

**Dicrotofós****Difenonazol****Dimetenamida****Dimetoato****Dimetomorfe****Dimoxistrobina****Diniconazol****Diurom****Dodemorfe****Epoxiconazol****Espinosade A****Espirodiclofeno**

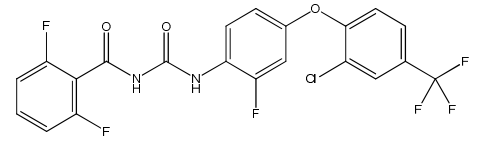
**Etiofencarbe sulfona****Etiofencarbe sulfóxido****Etiprole****Etofemproxi****Etoprofós****Etoxisulfurom****Fenamifós****Fenarimol****Fenazaquim****Fenbuconazol****Fenhexamida****Fenoxicarbe****Fempiroximato****Fempropatrina****Fempropimorfe**



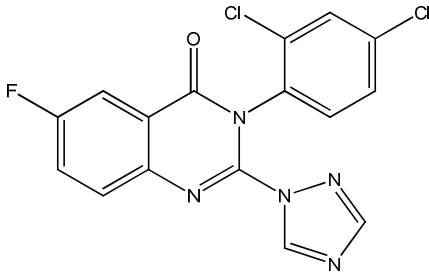
**Fentiona**



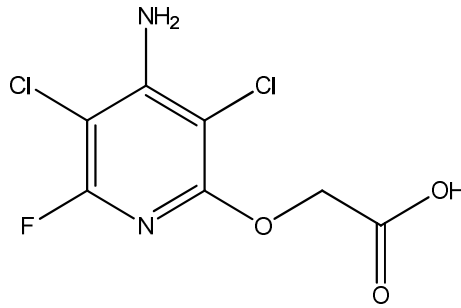
**Fluazifope P-butílico**



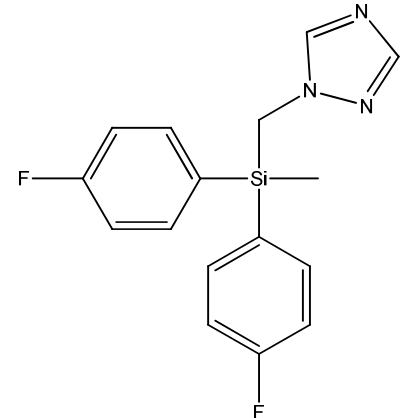
**Flufenoxurom**



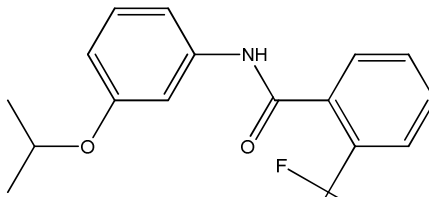
**Fluquiconazol**



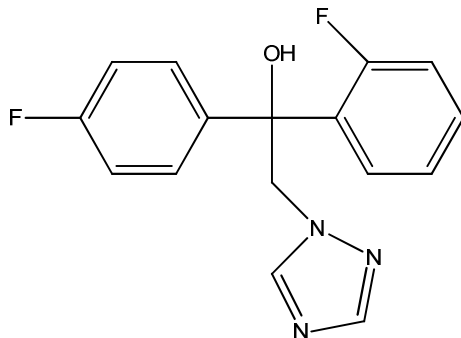
**Fluroxipir**



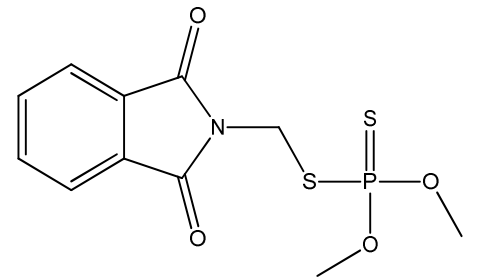
**Flusilasole**



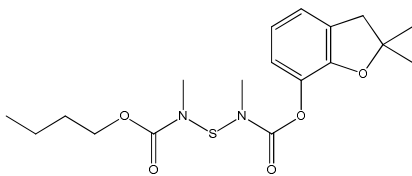
**Flutolanil**



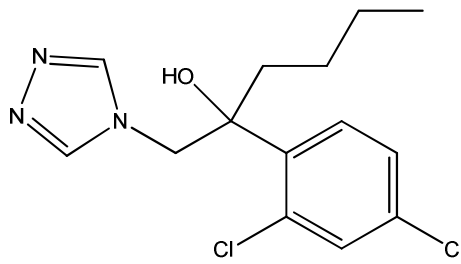
**Flutriafol**



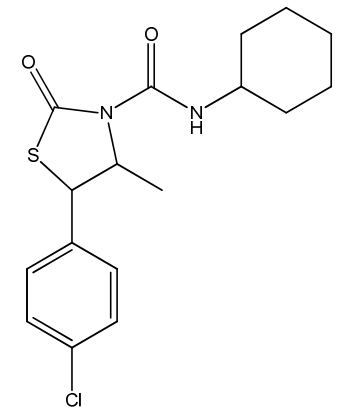
**Fosmete**



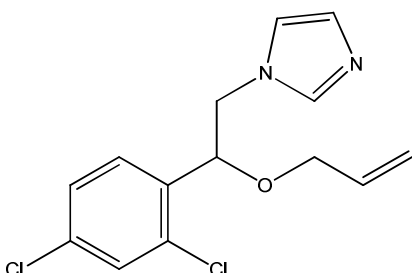
**Furatiocarbe**



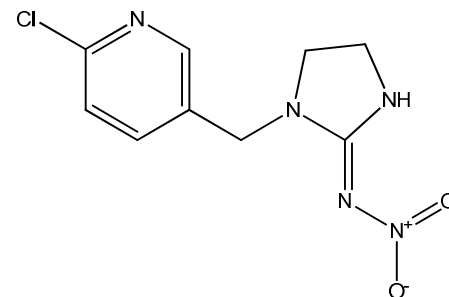
**Hexaconazol**



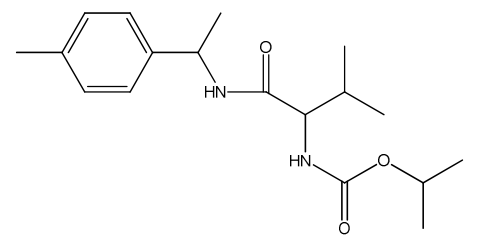
**Hexitiazoxi**



**Imazalil**

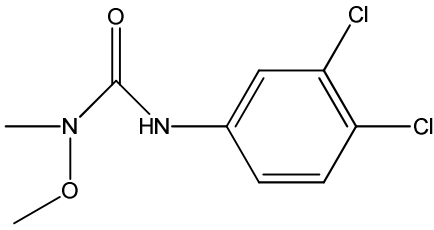
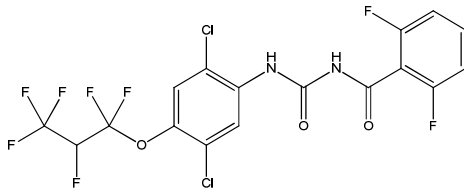
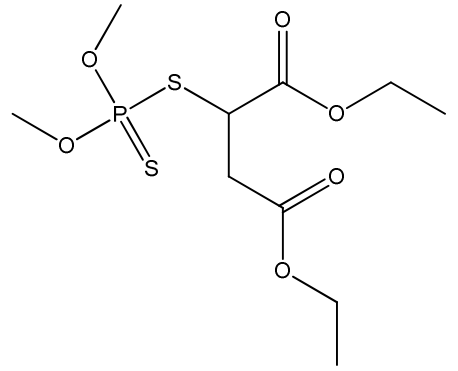
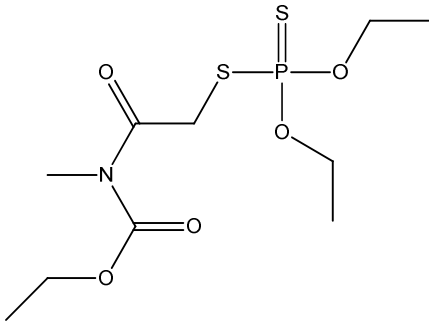
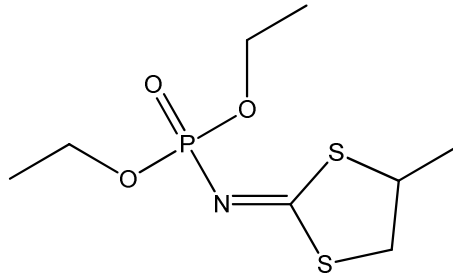
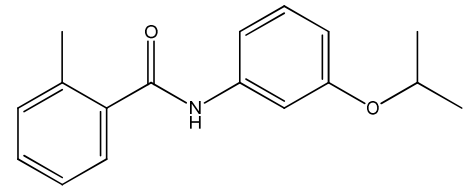
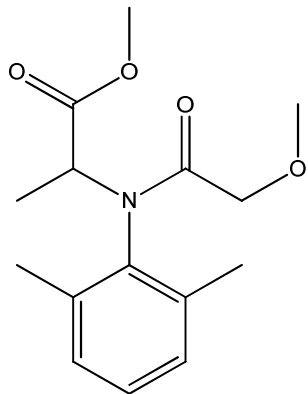
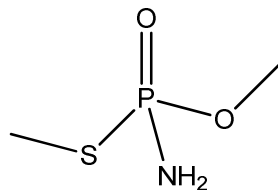
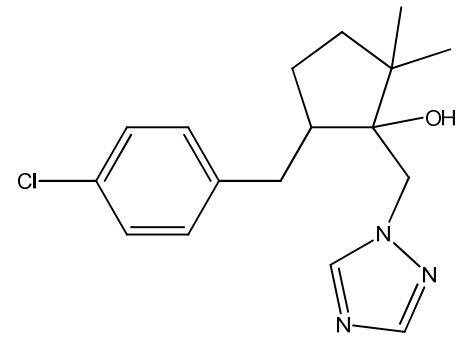
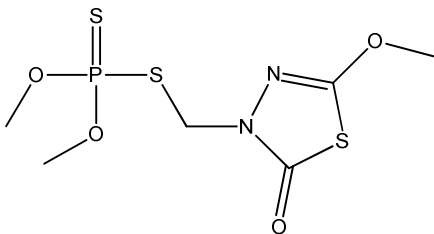
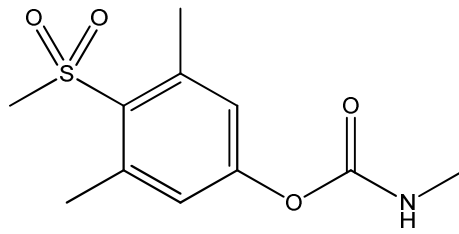
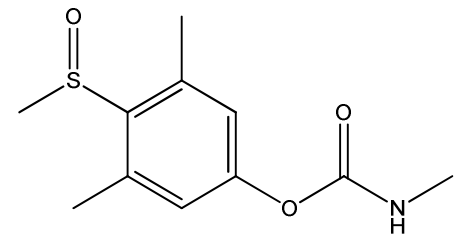
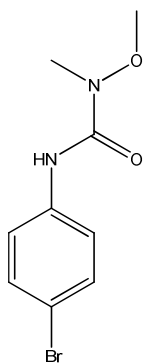
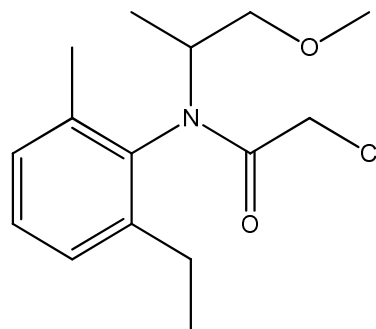
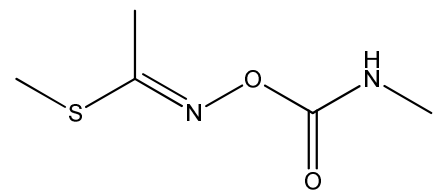


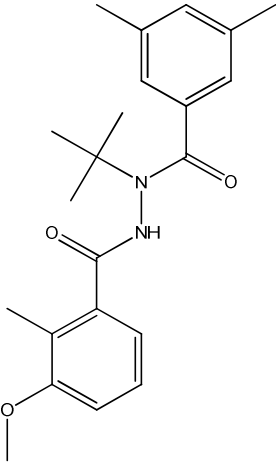
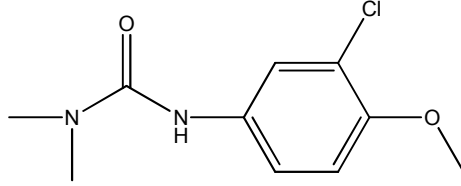
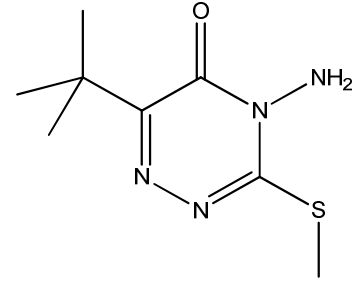
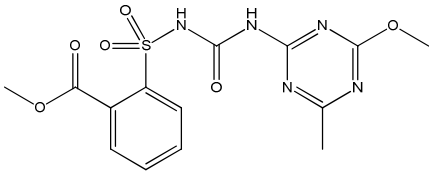
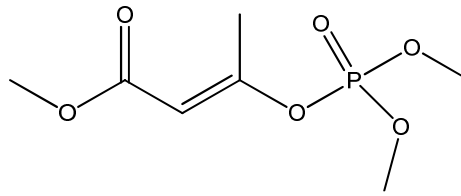
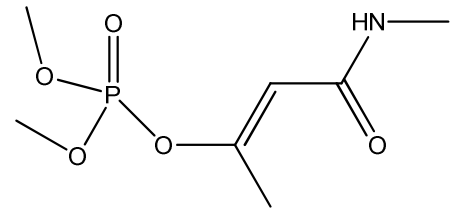
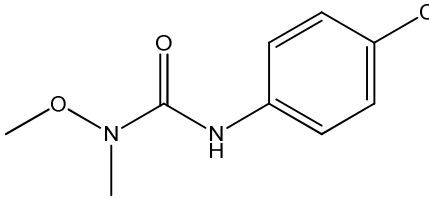
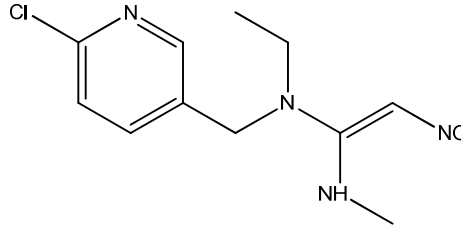
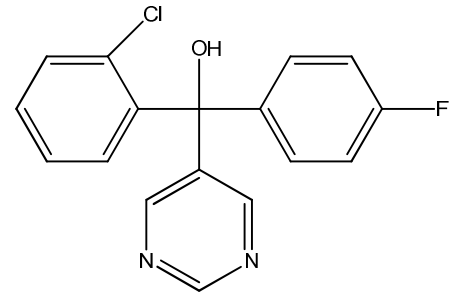
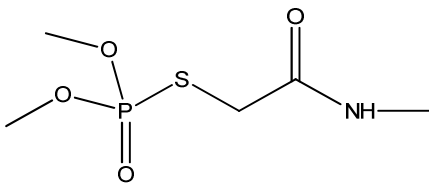
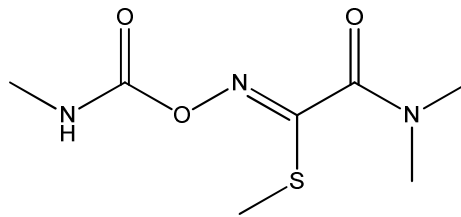
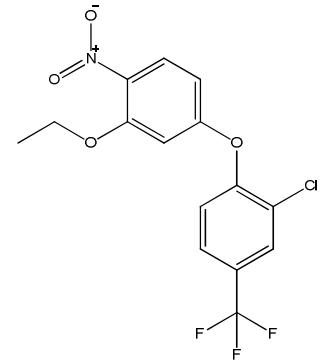
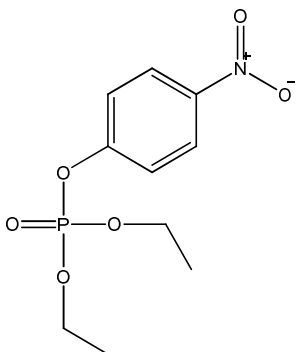
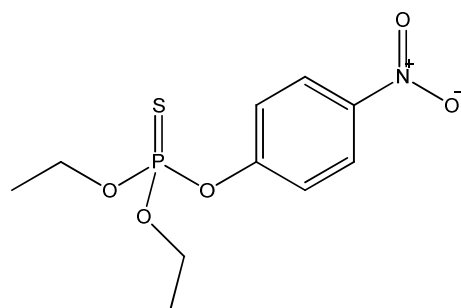
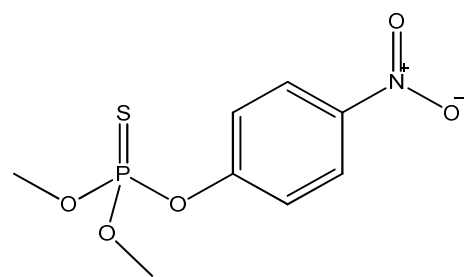
**Imidacloprido**

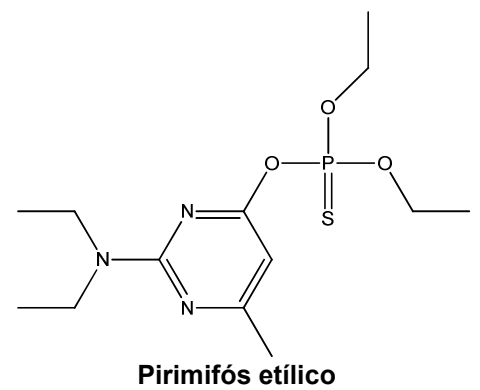
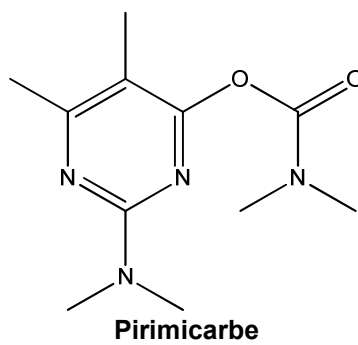
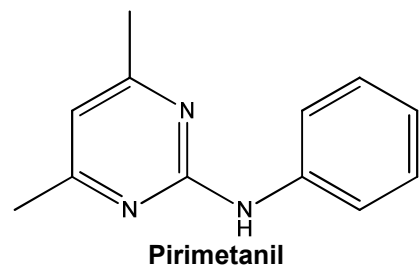
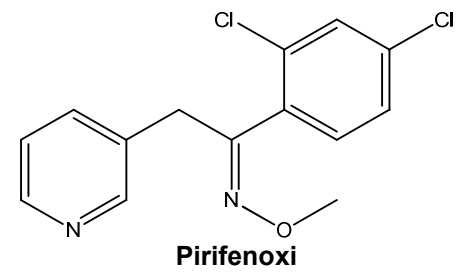
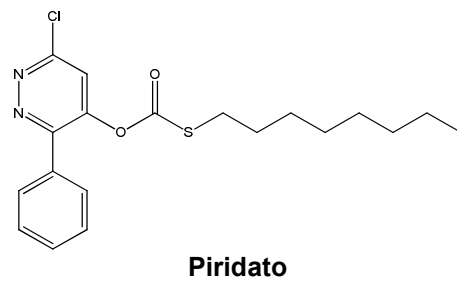
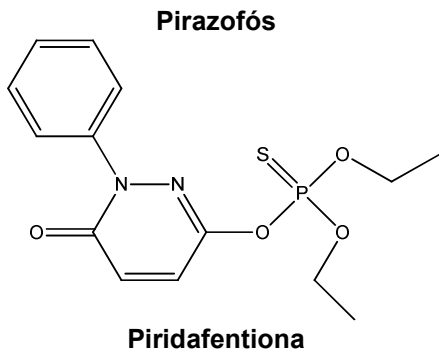
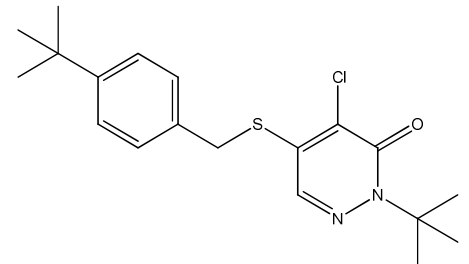
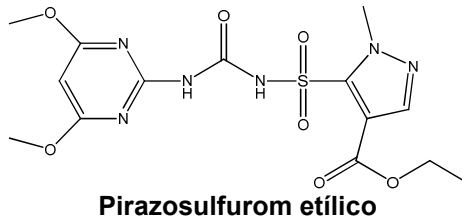
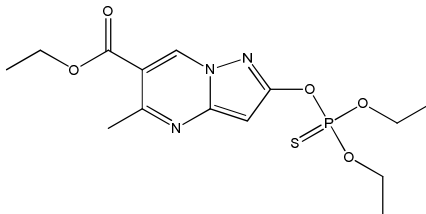
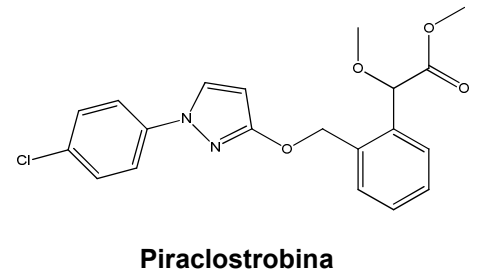
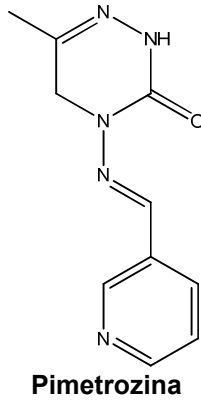
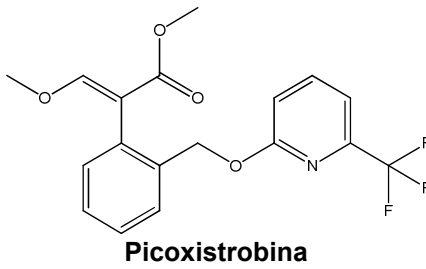
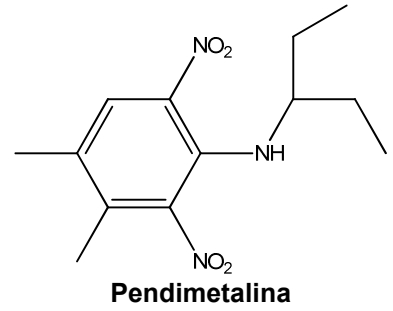
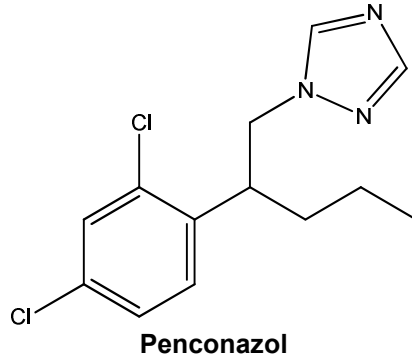
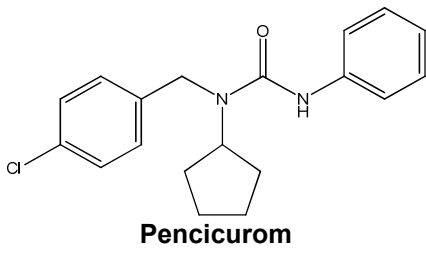


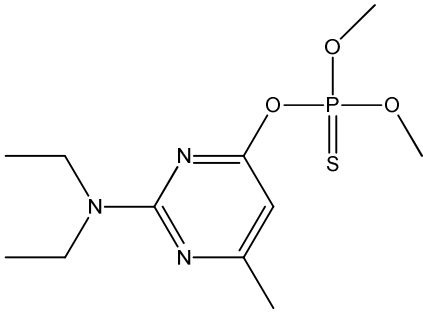
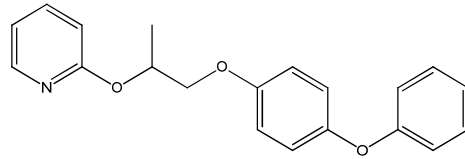
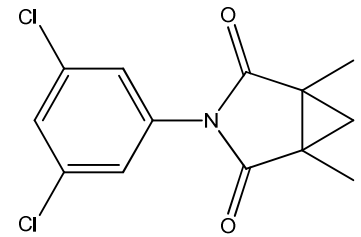
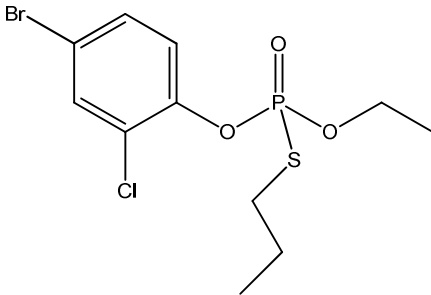
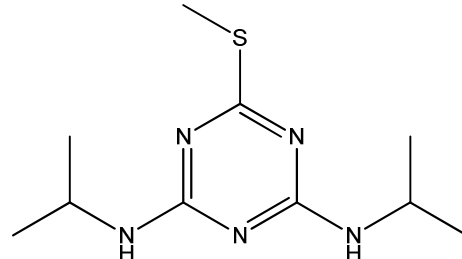
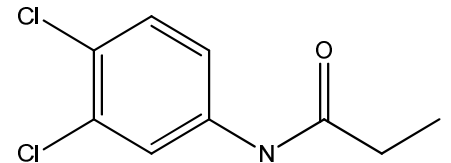
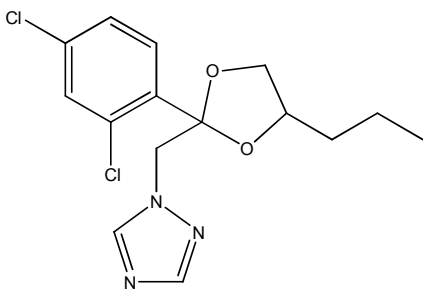
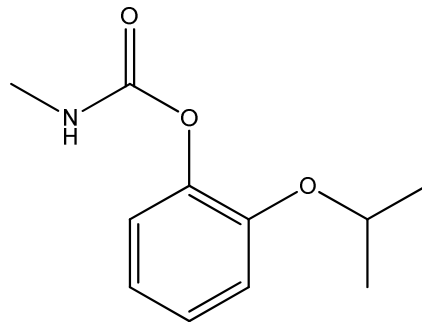
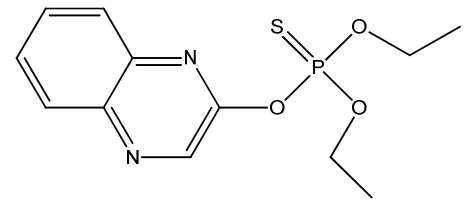
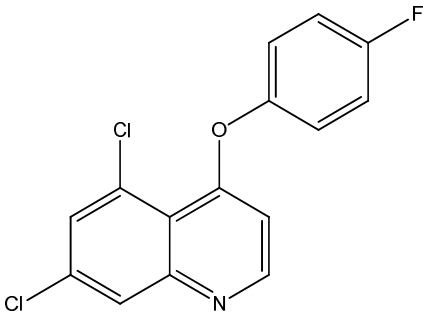
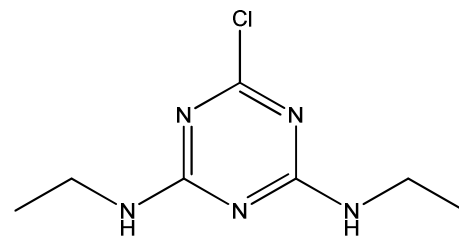
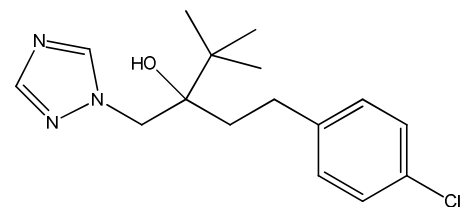
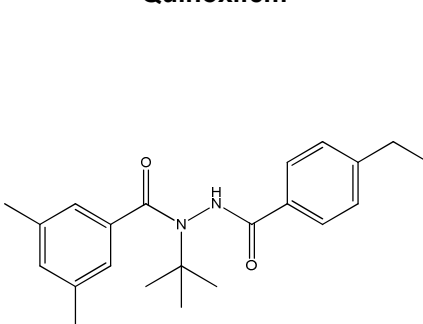
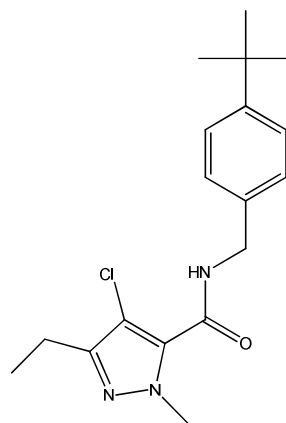
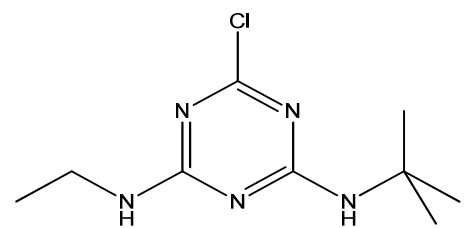
**Iprovalicarbe**

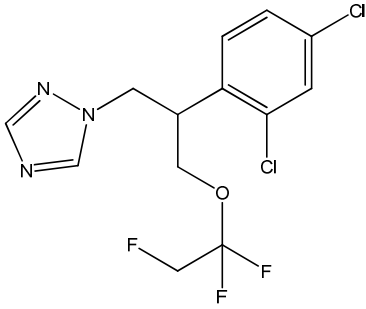
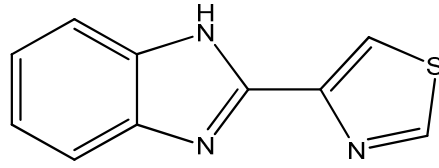
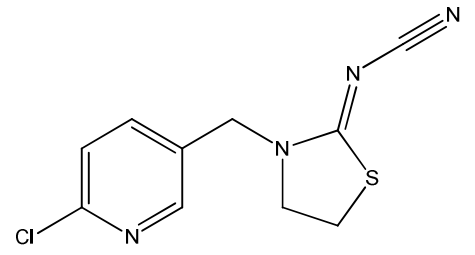
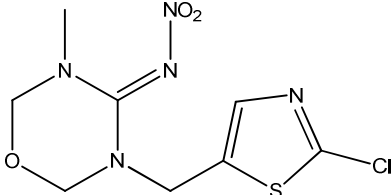
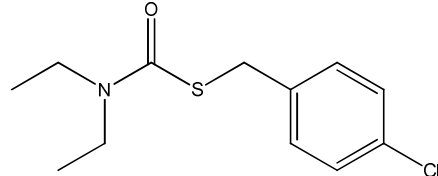
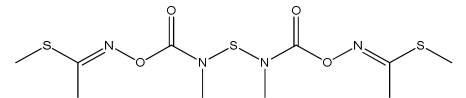
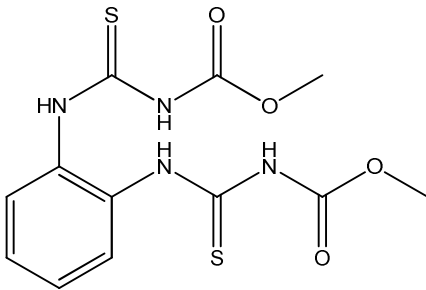
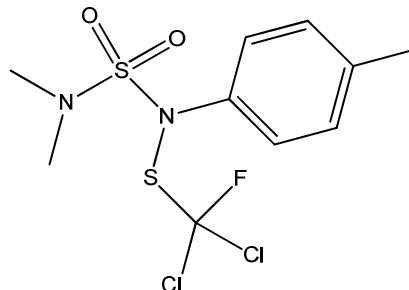
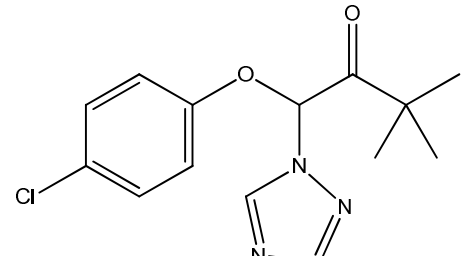
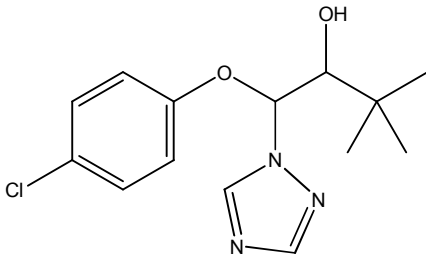
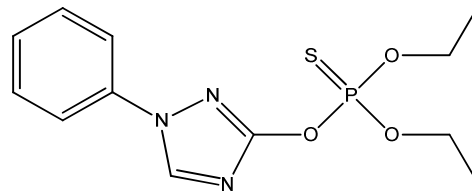
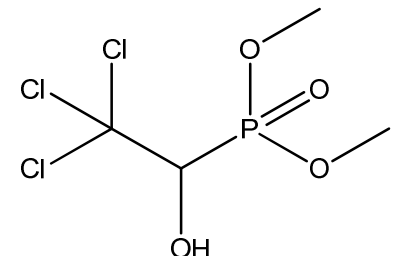
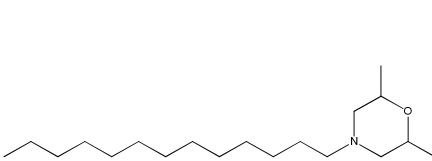
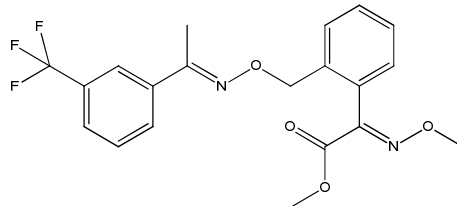
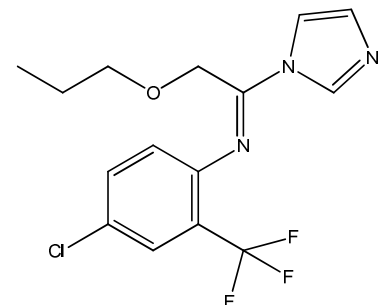
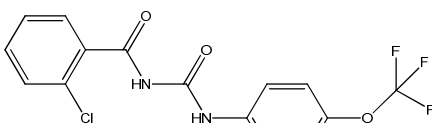
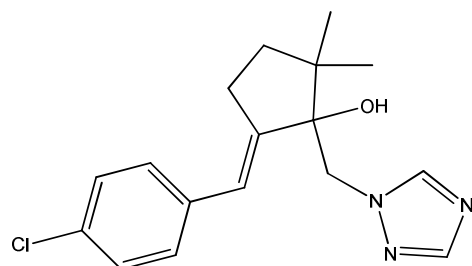
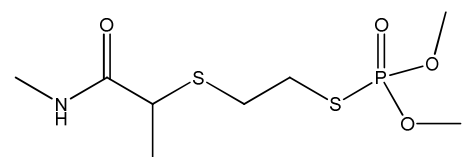


**Linurom****Lufenurom****Malationa****Mecarbam****Mefosfolam****Mepronil****Metalaxil****Metamidofós****Metconazol****Metidationa****Metiocarbe sulfona****Metiocarbe sulfóxido****Metobromurom****Metolacloro****Metomil**

**Metoxifenoziida****Metoxurom****Metribuzim****Metsulfurom metílico****Mevinfós****Monocrotofós****Monolinurom****Nitempiram****Nuarimol****Ometoato****Oxamil****Oxifluorfem****Paraoxom****Parationa****Parationa metilica**



**Pirimifós metílico****Piriproxifem****Procimidona****Profenofós****Prometrina****Propanil****Propiconazol****Propoxur****Quinalfós****Quinoxifem****Simazina****Tebuconazol****Tebufenozida****Tebufempirade****Terbutilazina**

**Tetraconazol****Tiabendazol****Tiacloprido****Tiametoxam****Tiobencarbe****Tiodicarbe****Tiofanato metílico****Tolifluanida****Triadimefom****Triadimenol****Triazofós****Triclorfom****Tridemorfe****Trifloxistrobina****Triflumizol****Triflumurom****Triticonazol****Vamidotiona**