



**FURG**

**Dissertação de Mestrado**

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM  
PITAYA EMPREGANDO QuEChERS E GC-MS/MS**

---

**Tainá Maria Saúgo**

**PPGQTA**

**Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil**

**2024**

Ficha catalográfica

S255d Saúgo, Tainá Maria

Determinação multirresíduo de agrotóxicos em pitaya empregando QuEChERS e GC-MS/MS / Tainá Maria Saúgo. – 2024.

84 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, Santo Antônio da Patrulha/RS, 2024.

**Universidade Federal do Rio Grande - FURG Escola de Química e Alimentos**

**Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental**

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**Determinação multirresíduo de agrotóxicos em Pitaya empregando  
QuEChERS e GC-MS/MS**

Elaborado por

**Tainá Maria Saúgo**

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica  
e Ambiental

**Comissão Examinadora**

Documento assinado digitalmente  
 **FABIO FERREIRA GONCALVES**  
Data: 18/03/2024 15:45:35-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves (FURG)**  
(Presidente-Orientador)

Documento assinado digitalmente  
 **CRISTINA BENINCA**  
Data: 07/02/2024 09:50:22-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Cristina Beninca (FURG)**

Documento assinado digitalmente  
 **PIMPERNELLI JONCO DOS SANTOS**  
Data: 07/02/2024 11:18:41-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Dr. Pimperelli Jonco dos Santos (BUNGE)**

Documento assinado digitalmente  
 **LENISE GUIMARAES DE OLIVEIRA**  
Data: 07/02/2024 14:37:16-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Dr<sup>a</sup>. Lenise Guimarães de Oliveira (FURG)**

Santo Antônio da Patrulha, 05 de fevereiro de 2024

# **DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM PITAYA EMPREGANDO QuEChERS E GC-MS/MS**

por

**TAINÁ MARIA SAÚGO**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL

PPGQTA

Santo Antônio da Patrulha, RS - Brasil

2024

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço ao Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins (em memória) pela orientação, pelo suporte, por me ensinar tudo que pôde, por sempre estar disposto a me ajudar, a me corrigir e auxiliar em meu crescimento profissional. Agradeço por todo o tempo que dedicou a minha dissertação, agradeço pelas palavras de conforto, por me fazer acreditar que sou capaz de realizar meus sonhos e me fazer reacreditar que a química é o meu lugar. Escrever esse agradecimento com palavras é algo complicado, pois a pessoa que mais gostaria de agradecer não irá ler, o sentimento de gratidão pela orientação do Prof. Dr. Manoel é maior do que pode ser expressa em palavras, tentar resumir isso em algumas linhas se torna pequeno perto de tudo que ele merece. Então agradeço a ele toda essa dissertação, cada linha desse trabalho tem um pouquinho dele e é para ele, sinto por não ter falado para ele em vida o quanto sua participação em meu mestrado foi significativa. O que me conforta é saber que tudo que planejamos juntos para esse trabalho foi concretizado, sinto um orgulho imenso em ter sido sua aluna e sou imensamente grata por ter tido o privilégio de conhecer o ser humano incrível que Manoel foi. Algumas pessoas passam por nossas vidas e as marcam positivamente, já outras pessoas tem o poder de transformá-las.*

*Agradeço ao Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves por me acolher como sua orientada em um momento tão difícil, por todo apoio e confiança auxiliando na finalização deste trabalho e tornando ele possível.*

*A banca de avaliação, Prof. Dra. Cristina Benincá, Prof. Dra. Lenise Guimarães de Oliveira, a Dra. Pimperelli Jonco dos Santos.*

*Agradeço ao Prof. Dr. Renato Zanella pelo apoio, por me receber de braços abertos em seu laboratório, proporcionado que esse trabalho fosse realizado e finalizado. Pela orientação e confiança, muito obrigada.*

*Agradeço aos professores Bruno Meira e Daiane Dias pelo auxílio que me possibilitou voltar a Santa Maria concluir meu trabalho.*

*Agradeço a Marcia Kurz, Marcia Victória, Lenise Guimarães e Silvia Messagi pela amizade, pela ajuda nos experimentos práticos e por tudo que me ensinaram.*

*Agradeço a toda equipe do LARP, em especial a Pimperelli que foi um anjo que encontrei em meu caminho sem sua ajuda essa dissertação não existiria, a Francieli que abriu sua casa para mim e me proporcionou bons momentos em sua companhia, a Julia por tantas alegrias, a Rafael por toda a ajuda nos dias de validação, a Luana pelas conversas e bons momentos, a Cleusa por ser a pessoas que me recebeu em Santa Maria, pelas caronas e risadas, a todos por todo auxílio durante o tempo que estive em Santa Maria – RS.*

*Agradeço aos meus amigos Idelso, Josi e Antônio por serem minha principal rede de apoio dentro da pós-graduação, por todos os bons e maus momentos que*

*passamos juntos, pelo apoio e pela força de sempre. Vocês são parte de tudo que vivi neste momento e quero agradecer a possibilidade de ter-lhes em minha trajetória e espero ter um pouquinho de vocês comigo sempre.*

*Agradeço a minha família, meus pais Isolde e Cleomar por todo apoio durante esse período difícil, porém muito construtivo. Aos meus avós Pedro e Inês, pois foram vocês que me tornaram Química Industrial, sem vocês eu não teria chegado a pós-graduação e talvez sem vocês não estaria finalizando esse mestrado.*

*Ao meu companheiro Rafael, que a muitos anos vem me apoiando e acreditando muito em mim, diversas vezes quando nem eu mesma acredito. Por todo o suporte que me deu, por não me deixar cair, por segurar a minha mão e sempre me levar para frente, sou imensamente grata pela sua presença nesse momento tão turbulento, Obrigada.*

*A PROPESP pelo auxílio financeiro.*

*Á CAPES pelo auxílio financeiro fornecido.*

*Ao PPGQTA.*

## SUMÁRIO

---



---

<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xvi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
3.1 Pitaya ( <i>Hylocereus undatus</i> e <i>Hylocereus polyrhizius</i> ).....	4
3.1.1 Composição Química da Pitaya.....	5
3.1.2 Produção de Pitaya no Brasil.....	7
3.2 Agrotóxicos.....	9
3.2.1 Classificação dos Agrotóxicos.....	11
3.2.2 Resíduos de Agrotóxicos em Frutas e Vegetais.....	12
3.2.3 Limites Máximos de Resíduos.....	13
3.3 Métodos de Preparo de Amostra para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya.....	15
3.3.1 Método QuEChERS.....	20
3.3.2 Quitosana como Sorvente de Limpeza.....	22
3.3.3 Diluição do Extrato em Acetonitrila.....	23
3.4 Métodos Cromatográficos para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos.....	24
3.4.1 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas.....	24
3.5 Validação de Métodos Cromatográficos.....	26
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
4.1 Instrumentação.....	28
4.2 Reagentes e Materiais Utilizados.....	28
4.3 Amostras de Pitaya.....	30
4.4 Padrão de controle.....	32
4.5 Compostos Selecionados e Preparo das Soluções Analíticas.....	33

4.6 Condições Cromatográficas do Sistema GC-MS/MS para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya .....	39
4.7 Desenvolvimento de Método de Preparo de Amostra para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya por GC-MS/MS.....	39
4.7.1 Testes Iniciais de Preparo de Amostra.....	39
4.7.2 Avaliação da Presença de Coextrativos no Extrato da Matriz .....	41
4.7.3 Avaliação da Recuperação dos Compostos Após Etapa de Diluição (sem d-SPE).....	42
4.7.4 Avaliação Visual da Mudança de pH no Extrato de Pitaya e Avaliação da Limpeza dos Extratos por UV-Vis e Modo Full Scan em GC-MS/MS .....	43
4.8 Validação do método de preparo de amostra empregando QuEChERS para determinação de resíduos de agrotóxicos em pitaya.....	44
<b>5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
5.1 Condições do Sistema Cromatográfico GC-MS/MS .....	46
5.2 Preparo de Amostra.....	51
5.2.1 Testes Iniciais de Preparo de Amostra.....	51
5.2.2 Avaliação da Presença de Coextrativos no Extrato da Matriz .....	54
5.2.3 Avaliação da Recuperação dos Compostos Após Etapa de Diluição (sem d-SPE).....	57
5.2.4 Avaliação Visual da Mudança de pH no Extrato de Pitaya e Avaliação da Limpeza dos Extratos por UV-Vis e Modo Full Scan em GC-MS/MS .....	60
5.3 Validação do método .....	64
5.3.1 Seletividade.....	64
5.3.2 Linearidade e Curva Analítica .....	65
5.3.3 Limites de Detecção e Quantificação .....	66
5.3.4 Exatidão e Precisão (Repetibilidade e Precisão Intermediária).....	67
5.3.5 Efeito matriz .....	67
5.4 Aplicação do Método em Amostras Reais .....	73
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>78</b>

## LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1. Pitaya de polpa branca e polpa rosa, A - <i>Hylocereus undatus</i> , B - <i>Hylocereus polyrhzius</i> . .....	4
Figura 2. A – Cladódios da pitaya, B – Flor da pitaya .....	5
Figura 3. Estrutura química dos pigmentos presentes na pitaya.....	7
Figura 4. Variações do método QuEChERS. ....	21
Figura 5. Estrutura química da quitosana.....	23
Figura 6. Mapa da cidade de onde as amostras de pitaya foram adquiridas. ....	31
Figura 7. Adição de Padrão de Controle em matriz de pitaya .....	32
Figura 8. Procedimento de extração com diferentes sorventes de limpeza utilizados na etapa de <i>clean up</i> para avaliação dos compostos em estudo no nível de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ .....	42
Figura 9. Procedimento de extração com diferentes fatores de diluição após etapa de partição. ....	43
Figura 10. Cromatograma de íons totais obtido por GC-MS/MS a partir de uma solução padrão 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ preparada na matriz de pitaya. ....	50
Figura 11. Método de preparo de amostra validado no presente estudo. ....	51
Figura 12. Extração utilizando as três versões do método QuEChERS para matriz polpa de pitaya rosa(a) e original para polpa de pitaya branca (a).....	52
Figura 13. Cromatogramas sobrepostos de brancos em modo <i>Full Scan</i> , acetato (cromatograma preto), citrato (cromatograma vermelho), original (cromatograma verde). ....	52
Figura 14. Pigmento dos extratos de pitaya para os diferentes sorventes de limpeza.....	55
Figura 15 Melhores condições de limpeza visual após etapa de <i>clean up</i> com diferentes sorventes. ....	55
Figura 16. Extrato sem etapa de <i>clean up</i> com diferentes ajustes de pH. ....	61
Figura 17. Ajuste de pH após etapa de <i>clean up</i> , A: PSA, B: Quitosana. ....	61
Figura 18. Comparação dos extratos sem <i>Clean up</i> (espectro vermelha) e após <i>Clean up</i> com quitosana (espectro azul) e PSA (espectro verde). ....	62

Figura 19. Avaliação da Limpeza do Extrato em Modo <i>Full Scan</i> por GC-MS/MS, cromatograma verde (sem limpeza) cromatograma preto (PSA) cromatograma vermelho (quitosana).....	63
Figura 20. Cromatograma de íons totais obtidos do branco, branco reagente e fortificação de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ .....	64
Figura 21. Cromatograma MRM de atrazina obtidos do branco, branco reagente e fortificação do extrato de pitaya de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ .....	65
Figura 22. Amostra P1176 com presença de Metolaclor e Tebuconazol. ....	74
Figura 23. Amostra P1177 com presença de Metolaclor.....	74

## LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1. Propriedade nutricionais da Pitaya de polpa branca.....	6
Tabela 2. Ranking dos estados produtores de pitaya no Brasil .....	8
Tabela 3. Ranking da comercialização de agrotóxicos no Brasil no ano de 2021.....	10
Tabela 4. Classificação do grau de toxicidade dos agrotóxicos. ....	12
Tabela 5. Compostos com LMR estabelecidos para a pitaya.....	13
Tabela 6. Métodos analíticos descritos para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas tropicais. ....	17
Tabela 7. Parâmetros avaliados na validação. ....	26
Tabela 8. Código, localidade e tipo de polpa das amostras. ....	31
Tabela 9. Informações dos analitos em estudo, pKa, fórmula molecular, classe química, ação agronômica, .....	34
Tabela 10. Identificação dos sorventes .....	41
Tabela 11. Parâmetros de validação do método e seus critérios de aceitação.....	45
Tabela 12. Tempo de Retenção (TR), Transições Iônicas e Energia de Colisão (EC, eV) dos Compostos analisados e Padrão de Controle.....	46
Tabela 13. Identificação dos sorventes .....	54
Tabela 14. Linearidade e efeito Matriz 2 e 3 vezes. ....	58
Tabela 15. Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em pitaya empregando QuEChERS e GC-MS/MS desenvolvidos nesse trabalho. ..	69
Tabela 16. Resíduos de Agrotóxicos encontrados em amostras de pitaya empregando o método validado neste estudo. As amostras que contém nd não foram detectadas nenhum dos agrotóxicos. ....	73

## LISTA DE GRÁFICOS

---

Gráfico 1. Recuperação entre 70 – 120% dos compostos nas três variações do método QuEChERS com fortificações no nível de 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ com $\text{RSD} \leq 20\%$ .....	53
Gráfico 2. Número de compostos recuperados com diferentes sorventes de limpeza.....	56
Gráfico 3. Recuperação dos compostos no nível de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ sem etapa de d-SPE.....	58
Gráfico 4. Curvas de atrazina para comprovação da linearidade.....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

1. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária
2. C18, octadecilsilano
3. CI, ionização química, do inglês *chemical ionisation*
4. d-SPE, extração em fase sólida dispersiva, do inglês *dispersive solid phase extraction*
5. DnS, diluir e injetar, do inglês *dilute and shoot*
6. EI, ionização por impacto de elétrons, do inglês *electron ionization*
7. ESI, ionização por eletronebulização, do inglês *electrospray ionization*
8. EU, União Européia, do inglês *European Union*
9. FAO, Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*
10. GC, cromatografia a gás, do inglês *gas chromatography*
11. LARCO, Laboratório de Análises de Resíduos e Contaminantes
12. LARP, Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas
13. LC, cromatografia líquida, do inglês *liquid chromatography*
14. LC-MS/MS, cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês *liquid chromatography – tandem mass spectrometry*
15. LMR, limite máximo de resíduos
16. LOD, limite de detecção, do inglês *limit of detection*
17. LOQ, limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*
18. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
19. MRM, monitoramento de reações múltiplas, do inglês *multiple reaction monitoring*
20. MS, espectrometria de massas, do inglês *mass spectrometry*
21. MS/MS, espectrometria de massas em série, do inglês *tandem mass spectrometry*
22. PARA, Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
23. PNCRC, Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
24. PSA, amina primária secundária, do inglês *primary secondary amine*
25. QuEChERS, rápido, fácil, barato, efetivo, robusto e seguro, do inglês *quick, easy, cheap, effective, rugged, safe*
26. RSD%, desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*
27. SIM, monitoramento seletivo de íons, do inglês *selected ion monitoring*
28. SRM, monitoramento seletivo de reações, do inglês *selected reaction monitoring*
29. WHO, Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*

30. TBCA, Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos
31. TACO, A Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

## RESUMO

---

Título: **DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM PITAYA EMPREGANDO QuEChERS E GC-MS/MS**

Autor: Tainá Maria Saúgo

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves

A pitaya, de nome científico *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhzius*, vem sendo cada vez mais consumida no Brasil. Contudo, a sua produção deve ser realizada de forma orgânica, pois atualmente no país não existem programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos que englobem essa espécie. O monitoramento de agrotóxicos em alimentos é um processo essencial, tendo em vista que diversos compostos apresentam efeitos deletérios a saúde humana. O estabelecimento do Limite máximo de Resíduos (LMR) visa garantir que os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos estejam dentro dos limites considerados seguros para o consumo humano. Para a cultura de pitaya são encontrados LMRs estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* e pela União Europeia. Portanto, devido à falta de métodos de preparo de amostras para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de pitaya, foi desenvolvido e validado um método multirresíduo de agrotóxicos, contendo 78 compostos validados. Para a extração destes compostos, empregou-se o método QuEChERS utilizando um sorvente de limpeza não convencional, a quitosana. O sistema GC-MS/MS foi utilizado para a determinação dos agrotóxicos e o método validado foi aplicado em amostras comerciais, sendo 17 amostras, onde 5 de polpa branca e 11 polpa rosa de 4 diferentes estados do Brasil, como Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo. Das 17 amostras, apenas 2 apresentaram resíduos de agrotóxicos, sendo tebuconazol e metolaclor em concentrações abaixo do Limite de Quantificação do método de ( $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Desta forma, não foi possível quantificar os analitos, apenas detectá-los. Devido ao Limite de Quantificação o método se mostrou adequado para todos os compostos em estudo no presente trabalho que possuem LMRs preconizados pela União Europeia.

**Palavras-Chave:** Frutas tropicais, Quitosana, Biosorvente.

## ABSTRACT

---

Title: **MULTI-RESIDUE DETERMINATION OF PESTICIDES IN PITAYA USING QuEChERS AND GC-MS/MS**

Autor: Tainá Maria Saúgo

Orientador: Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves

Pitaya, with the scientific names *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhzius*, has been increasingly consumed in Brazil. However, its production must be carried out organically, as there are currently no pesticide residue monitoring programs in the country that cover this species. Monitoring pesticides in food is an essential process, considering that several compounds have harmful effects on human health. The establishment of the Maximum Residue Limit (MRL) aims to ensure that pesticide residue levels in food are within the limits considered safe for human consumption. For pitaya cultivation, MRLs established by Codex Alimentarius and the European Union are found. Therefore, due to the lack of sample preparation methods for the determination of pesticide residues in pitaya samples, a multi-pesticide residue method was developed and validated, containing 78 validated compounds. To extract these compounds, the QuEChERS method was used using an unconventional cleaning sorbent, chitosan. The GC-MS/MS system was used to determine pesticides and the validated method was applied to commercial samples, 17 samples, 5 of which were white pulp and 11 pink pulp from 4 different states in Brazil, such as Paraná, Rio Grande do South, Santa Catarina and São Paulo. Of the 17 samples, only 2 showed pesticide residues, being tebuconazole and metolachlor in concentrations below the Quantification Limit of the method ( $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Therefore, it was not possible to quantify the analytes, only to detect them. Due to the Limit of Quantification, the method proved to be suitable for all compounds under study in the present work that have MRLs recommended by the European Union.

**Keywords:** Tropical fruits, Chitosan, Biosorbent.

# 1. INTRODUÇÃO

---

---

O crescimento populacional acarretou a necessidade de produzir alimentos em grande escala e, para que isso fosse possível, as soluções tecnológicas adotadas levaram à uma crescente utilização de agrotóxicos no controle de pragas e de doenças presentes nas culturas, sendo a efetividade de uma área produtiva diretamente influenciada pela utilização de agrotóxicos (LIANG, *et al.*, 2022).

No entanto os agrotóxicos são substâncias químicas tóxicas e algumas apresentam efeitos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos, podendo causar danos à saúde humana, mesmo nas baixas concentrações remanescentes nos alimentos cultivados, preservados ou contaminados com estas substâncias. Para controle da exposição pela via alimentar à agrotóxicos, são estabelecidos limites máximos de resíduos (LMRs) para as principais culturas e de acordo com o agrotóxico registrado e autorizado para uso na respectiva safra (CONCHA-MEYER, *et al.*, 2019; ANVISA, 2022).

Uma cultura que vem ganhando destaque e possui grande valor comercial é a Pitaya cuja variedade alimentícia tem sido associada a efeitos benéficos à saúde. Mas até o ano de 2023 não há LMRs estabelecidos no Brasil para as espécies de Pitaya (ANVISA, 2022), o que significa que esta cultura não é monitorada e controlada oficialmente no Brasil quanto a presença de resíduos de agrotóxicos.

O controle ou monitoramento de agrotóxicos em alimentos requer geralmente técnicas analíticas de separação, identificação e quantificação, tais como a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas em série (GC-MS/MS) e a cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas em série (LC-MS/MS), que propiciem determinações analíticas com alta sensibilidade, seletividade e confiabilidade. No entanto, essas técnicas requerem etapas de preparo da amostra efetivas, a fim de assegurar altas sensibilidades analíticas e, conseqüentemente, baixos limites de detecção (KAUR, *et al.*, 2021). Métodos aprimorados de preparo de amostra são necessários para extrair de forma eficiente as baixas concentrações de agrotóxicos observados em alimentos e para produzir extratos purificados, necessários para monitorar os alimentos quanto à presença de agrotóxicos de acordo com os respectivos LMRs por método instrumentais (ZAIDON, *et al.*, 2019).

Os procedimentos de preparo mais utilizados são baseados na extração em fase sólida, na extração líquido-líquido, na extração líquido-líquido dispersivo e no método QuEChERS (KAUR, *et al.*,2021).

Desta forma, objetivou-se desenvolver e validar uma metodologia analítica para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de pitaya empregando GC-MS/MS, bem como estudar as condições de extração aplicando o método QuEChERS, reduzindo ao máximo o consumo de sorventes e demais reagentes. Por fim, após validação do método analítico, avaliar a presença destes compostos em amostras para confirmar a efetividade do método, visando contribuir no aumento do conhecimento quanto às práticas de cultivo em relação ao uso de substâncias químicas para o controle de pragas e doenças e para sua preservação até o consumo.

## 2. OBJETIVOS

---

### *Objetivo Principal*

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver e validar um método multirresíduo para determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de polpa de pitaya de polpa utilizando cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas.

### *Objetivos Específicos*

- Comparar as diferentes versões do método QuEChERS para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de polpa de pitaya;
- Desenvolver e otimizar o preparo de amostra para extração de resíduos de agrotóxicos em pitaya utilizando método QuEChERS em amostras de polpa pitaya;
- Avaliar a diluição do extrato após a etapa de partição do método QuEChERS em diferentes proporções;
- Validar metodologia analítica utilizando cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas;
- Aplicar o método validado em amostras comerciais de polpa de pitaya.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

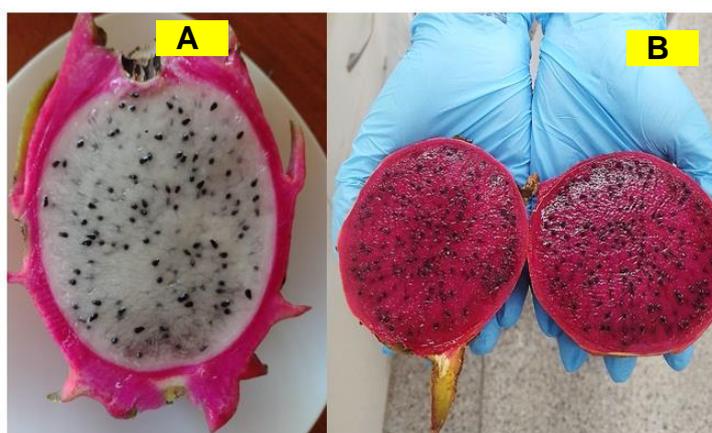
---

#### 3.1 Pitaya (*Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhzius*)

A pitaya de polpa branca e de polpa rosa cujos nomes científicos são *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhzius*, respectivamente, pertencem à família *Cactaceae* e possuem diversas propriedades farmacológicas. Essas espécies são facilmente produzidas, se adaptando a ambientes com baixa disponibilidade hídrica, característica que atrai grande interesse na sua produção. Essa fruta é originária do México e América central, desenvolvendo-se em climas tropicais e subtropicais, sendo produzida também no Brasil (DE SOUSA ANTUNES, *et al.*, 2021; DEY, *et al.*, 2022).

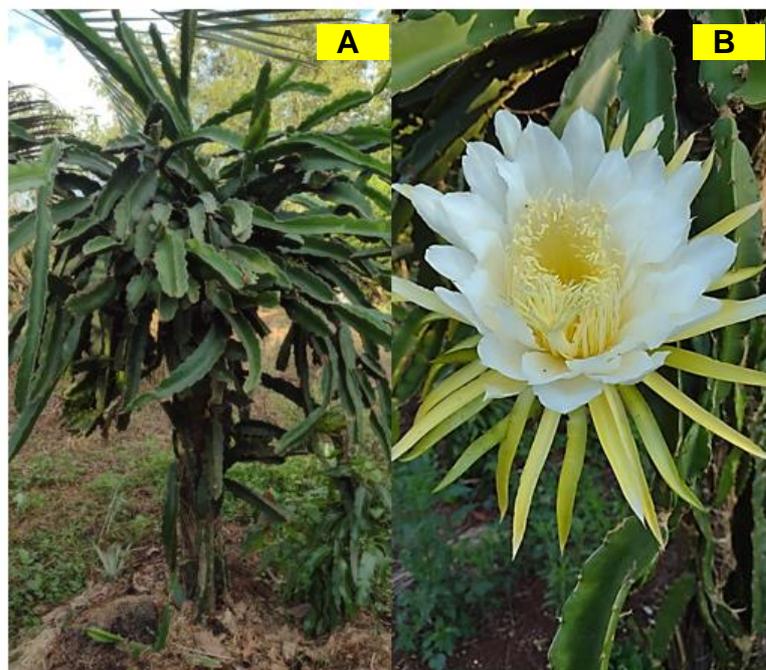
A pitaya possui pequenas sementes pretas em seu interior e sua casca atípica foi o motivo dela ser conhecida também com fruta do dragão. Além destes nomes em buscas científicas, ela pode ser encontrada também como pitahaya (DEY, *et al.*, 2022; LE, *et al.*, 2021). Consumo da pitaya no Brasil teve um grande aumento nos últimos anos, sua polpa pode ser consumida *in natura* ou utilizada na produção de doces, bebidas e sorvetes (GEORGIN, *et al.*, 2022). Na Figura 1 estão ilustradas as espécies *Hylocereus undatus* e *Hylocereus polyrhzius* e na Figura 2 suas flores e cladódios responsáveis pela sustentação da planta.

**Figura 1.** Pitaya de polpa branca e polpa rosa, A - *Hylocereus undatus*, B - *Hylocereus polyrhzius*.



Fonte: Autor

**Figura 2.** A – Cladódios da pitaya, B – Flor da pitaya



**Fonte:** Autor

Em sua parte comestível (polpa) são encontrados compostos que possuem atividade antioxidante, citotóxica e anti-inflamatória. Sua casca é fonte de agentes antibacterianos, sendo que, estas características podem ser atribuídas a presença de flavonoides, ácidos fenólicos e betacianinas (GEORGIN, *et al.*, 2022). Outra espécie de pitaya que não é comumente encontrada em mercados e fruteiras são de casca amarela e polpa branca de nome científico *Selenicereus megalanthus*. Essa espécie é considerada um híbrido natural entre o gênero *Hylocereus* e *Selenicereus*, podendo pertencer a um gênero distinto, mas ainda fazendo parte da família cactaceae (LE, *et al.*, 2021).

### 3.1.1 Composição Química da Pitaya

Tanto sua polpa como sua casca possuem grande quantidade de água, são ricas em fibras e vitaminas, possuem minerais, antioxidantes e carboidratos, por outro lado, os teores de proteínas e gorduras são relativamente baixos (LE, *et al.*, 2021). Para formulação da Tabela 1 foi necessário recorrer a sites como o da TBCA (Tabela Brasileira de composição de Alimentos) que é desenvolvida pela Rede Brasileira de

Dados de Composição de Alimentos (*Brasilfoods*), Universidade de São Paulo (USP) e *Food Research Center* (FoRC/CEPID/FAPESP). Na Tabela TACO não foram encontrados dados sobre a pitaya. A tabela TACO é desenvolvida pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. E mesmo na TBCA só foram encontrados dados da pitaya de polpa branca, não sendo encontrado da pitaya de polpa rosa.

**Tabela 1.** Propriedade nutricionais da Pitaya de polpa branca.

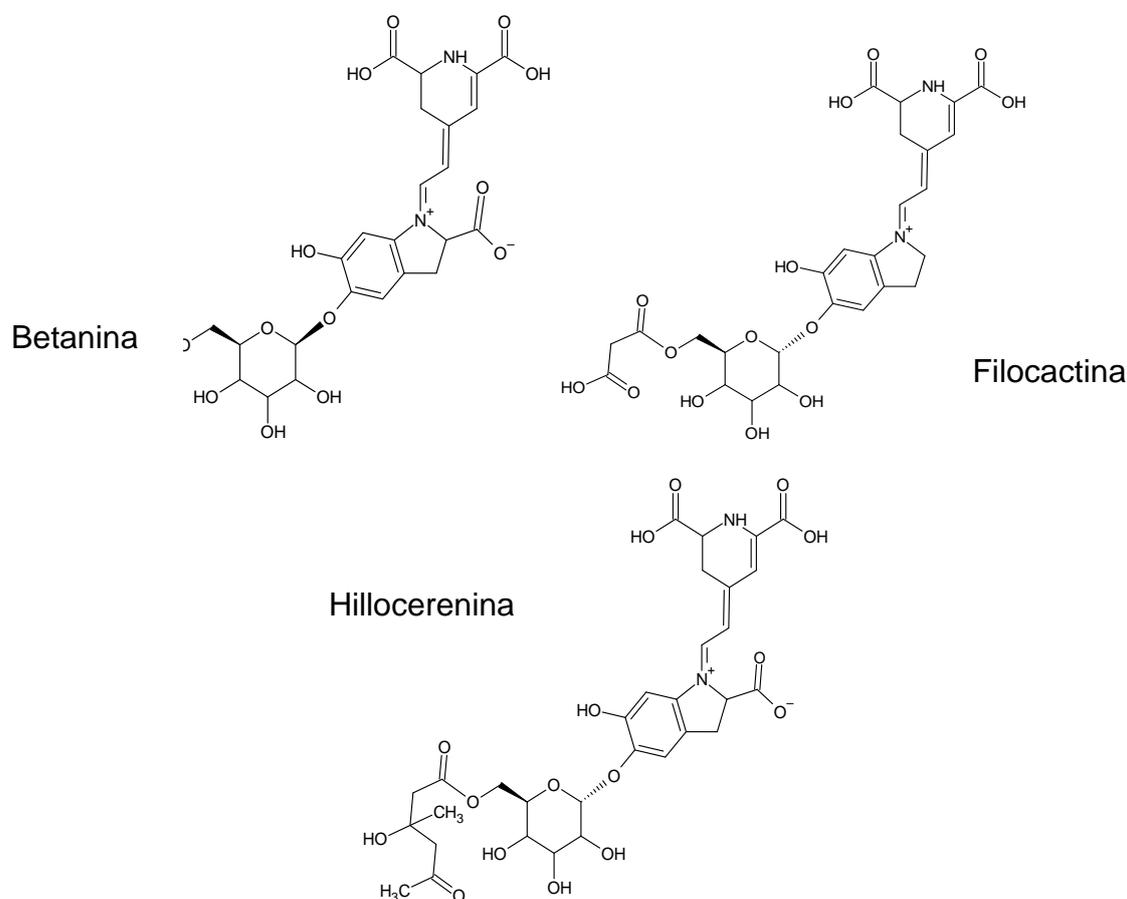
Componente	Concentração em 100 g de polpa
Água (g)	84,4
Carboidratos Totais (g)	13,2
Proteínas (g)	1,40
Lipídios (g)	0,40
Fibra (g)	1,80
Colesterol (mg)	0,00
Cálcio (mg)	10,0
Ferro (mg)	1,30
Fósforo (mg)	26,0
Vitamina C (mg)	8,00

Fonte: TBCA (2023).

Uma característica física muito marcante da pitaya é sua coloração purpura que se dá pela presença de pigmentos naturais, sendo os principais as betalainas, compostos heterocíclicos solúveis em água. As betalainas são divididas em dois grupos, as betaxantinas e as betacianinas. As betaxantinas conferem coloração amarelo-laranja para os frutos e as betacianinas conferem coloração vermelho-púrpura. As betalainas são considerados compostos antioxidantes devido as características de sua estrutura química (NUNES, *et al.*, 2014).

Dentre as betalainas que estão presentes nas frutas do gênero *Hylocereus* o grupo encontrado em frutas da casca ou polpa rosa são as betacianinas, não sendo encontrado as betaxantinas. Os pigmentos presentes nas frutas de polpa ou casca rosa são a betanina, filocactina e a hilocerenina (betalaina do ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico) (GONÇALVES, *et al.*, 2015). Na Figura 3 está apresentada a estrutura química das betalainas presentes na pitaya.

**Figura 3.** Estrutura química dos pigmentos presentes na pitaya.



Fonte: Autor

### 3.1.2 Produção de Pitaya no Brasil

No Brasil a pitaya de polpa branca (*Hylocereus undatus*) começou a ser produzida a partir de 1990, no estado de São Paulo, principalmente na região de Catanduva. Na década 2000, a pitaya de polpa rosa (*Hylocereus polyrhzius*) também começou a ser produzida e comercializada na região. Na mesma década, no estado da Paraíba foi identificado uma espécie nativa de pitaya, hoje conhecida como pitaya do Cerrado (*Selenicereus setaceus*). A principal região produtora de pitaya no Brasil é o Sudeste, onde ela se aclimatou muito bem, sendo que a época de produção é de dezembro a maio e a média da produção nessa região é de 14 toneladas por hectare (NUNES, *et al.*, 2014).

No sul do Brasil, o estado que se destaca na produção da pitaya é Santa Catarina, sendo o segundo estado no país com maior produção, atrás apenas de São Paulo. A plantação desta cultura no estado iniciou a cerca de 10 anos atrás, como uma alternativa a plantação de tabaco. Na safra de 2019/2020, cerca de 600 toneladas de pitaya foram produzidas em Santa Catarina, enquanto em 2021 a safra gerou em torno de 1000 toneladas da fruta, em média 40% a mais que na safra anterior. Toda essa produção é orientada pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), que auxilia os produtores em um manejo sustentável (Epagri SC. 2023). Na Tabela 2 estão apresentados os 10 estados com maior produção de pitaya no Brasil, segundo o Censo Agro de 2017, desenvolvido pelo IBGE.

**Tabela 2.** Ranking dos estados produtores de pitaya no Brasil

Ranking	Estado	Toneladas de Pitaya
1°	São Paulo	586
2°	Santa Catarina	350
3°	Minas Gerais	181
4°	Pará	152
5°	Rio Grande do Sul	41
6°	Paraná	34
7°	Rio de Janeiro	27
8°	Goiás	23
9°	Espírito Santo	10
10°	Bahia	5

Fonte: IBGE (2017).

A produção de pitaya no Brasil é relativamente nova comparado com outras espécies frutíferas. Contudo, devido ao aumento dessa espécie como uma monocultura o surgimento de pragas já é algo esperado. A ocorrência de insetos em plantações de pitaya pode variar de acordo com os vizinhos do pomar. Por exemplo, no caso de um pomar de pitaya que esteja próximo a uma lavoura de milho, após a colheita as pragas irão migrar para a região vizinha. A cultura pode ser atacada por insetos e fungos, e todas as formas recomendadas de combate são consideradas orgânicas, não utilizando de agrotóxicos (DOS SANTOS, *et al.*, 2022).

Dentre os insetos que atacam a pitaya estão as abelhas, que causam lesões aos cladódios, flores e frutos. A solução para essas é a plantação de fragmentos de

mata ao redor do pomar, como alguns pés de bananeira. Pulgões e Percevejos podem atacar a espécie e o recomendado é a utilização de agentes biológicos por meio de fungos entomopatogênicos que são fungos causadores de doenças em insetos, dentre os quais estão *Beauveria bassiana* e *Metarhizium*, ambas as pragas também podem ser controladas com óleo de neem. As cochonilhas que também atacam a pitaya, podem ser controladas pela pulverização de uma solução de 1% de óleo mineral e 1% de detergente neutro em água. Para a formiga cortadeira, a diversificação vegetal nesse caso é considerada a solução permanente (DOS SANTOS, *et al.*, 2022).

Ainda, a espécie pode ser atacada por doenças ocasionadas por fungos como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus sp* e por bactérias como *Pectobacterium carotovora* e *Erwinia carotovora* (DOS SANTOS, *et al.*, 2022) ressalta que quando houver contaminações nos cladódios esses devem ser retirados do pé, caso ocorra em frutas essas devem ser descartadas. Ainda ressalta que, devido à ausência de compostos sintéticos registrados no Brasil para a espécie, nenhum tipo de agrotóxico deve ser aplicado nos pés infectados.

### **3.2 Agrotóxicos**

Nas últimas décadas, o sistema de plantio mais utilizado foi o da monocultura em grande escala, sendo que esse sistema, por várias vezes, foi citado como a solução para a fome mundial por possibilitar que grandes quantidades de alimentos sejam produzidas. Contudo, hoje são conhecidas consequências negativas causadas por essa forma de produção, como o desmatamento e a utilização de agrotóxicos (ZIMMERMANN, 2009). Com o crescimento populacional e o aumento tecnológico, a produção agrícola foi ajustada, devido ao grande aumento na necessidade de produzir alimentos. Inicialmente, o controle e prevenção de pragas era realizado utilizando compostos inorgânicos e orgânicos naturais. Porém, a partir da década de 1930, compostos sintéticos começaram a ser utilizados para esse fim. Durante o período da Segunda Guerra Mundial, agentes sintéticos eram usados em campo de batalha e foi

possível observar que alguns compostos eram capazes de matar insetos (DE OLIVEIRA SILVA, *et al.*, 2019).

No Brasil, foi na década de 1960 que o uso de agrotóxicos sintéticos teve seu crescimento devido ao surgimento de programas governamentais que visavam modernizar a agricultura brasileira e torná-la atrativa para o mercado mundial (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003). Como almejado, a produção de alimentos cresceu muito nas últimas décadas no Brasil, inclusive exportando para inúmeros países. No entanto, o uso indiscriminado destes agentes químicos gerou maior exposição aos seres humanos e ao meio ambiente. (FINKLER; BATTISTI; ANASTÁCIO 2019).

No Brasil, a definição de agrotóxico é estabelecida pela Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, definida como Lei dos Agrotóxicos e pelo decreto nº 4.047 de janeiro de 2002 que atua sobre agrotóxicos e afins. Agrotóxicos são definidos como produtos químicos sintéticos utilizados para matar pragas como insetos e larvas, controlar o crescimento de fungos, além de regular o crescimento da vegetação em ambientes rurais e urbanos (INCA 2023).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) (2023) o Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos no mundo desde 2008. No ano de 2021 segundo o IBAMA, foram comercializadas 720.869,00 mil toneladas de agrotóxicos no Brasil, 5% a mais que no ano de 2020. Dentre esses os mais comercializados são os herbicidas (IBAMA 2023). Na Tabela 3 estão apresentados os 10 agrotóxicos mais vendidos no Brasil.

**Tabela 3.** Ranking da comercialização de agrotóxicos no Brasil no ano de 2021.

Ranking	Ingrediente Ativo	Vendas em Toneladas	Classe
1º	Glifosato e seu sais	219.585,51	Herbicida
2º	2,4-d	62.165,70	Herbicida
3º	Mancozebe	50.340,24	Fungicida
4º	Clorotalonil	38.320,40	Fungicida
5º	Atrazina	37.298,57	Herbicida
6º	Acefato	35.856,00	Inseticida
7º	Malationa	13.291,23	Inseticida
8º	Cletodim	9.750,70	Herbicida
9º	Enxofre	9.434,95	Fungicida
10º	S-metolacloro	9.374,02	Herbicida

**Fonte:** Adaptado de IBAMA (2023).

De acordo com dados do IBAMA, no ano de 2021 a região mais consumidora de agrotóxicos no país foi o Centro-Oeste, com destaque para o estado de Mato Grosso, sendo 258.192,86 mil toneladas consumidas. Como segunda região que mais consumiu agrotóxicos no ano de 2021 tem-se o Sul com 205.431,27 mil toneladas de ingrediente ativo, e o estado da região Sul que teve maior consumo foi o Rio Grande do Sul, seguido pelo Paraná e por fim Santa Catarina, sendo que a quantidade consumida no Rio Grande do Sul foi cinco vezes maior que em Santa Catarina (IBAMA 2023).

### **3.2.1 Classificação dos Agrotóxicos**

A classificação dos agrotóxicos é realizada observando o grupo químico de cada composto bem como sua toxicidade e considerando as pragas que eles são capazes de inibir (MENDES, *et al.*, 2019). São considerados inseticidas os compostos letais a insetos; fungicidas os compostos letais a fungos, ferrugem e bolores; herbicidas são compostos capazes de inibir o crescimento de ervas daninhas e invasoras; bactericidas são compostos capazes de inibir o crescimento de bactérias; acaricidas possuem ação letal em ácaros e parasitas; raticidas são letais a roedores e nematicidas são letais a nematoides e parasitas (DE OLIVEIRA; FAVARETO; ANTUNES 2013).

Em julho de 2022, a ANVISA publicou no Diário Oficial da União a reclassificação toxicológica de agrotóxicos já registrados no Brasil. Essa reclassificação se deve à implantação de um novo marco regulatório sobre os critérios de avaliação e classificação toxicológica de agrotóxicos regulamentados no Brasil. O número total de compostos avaliados foi de 1.942, sendo distribuídos entre as categorias: extremamente tóxicos, altamente tóxicos, moderadamente tóxicos, pouco tóxicos, improváveis de causar dano agudo e não classificados (ANVISA 2022).

A reclassificação foi adotada observando os parâmetros de classificação toxicológica estabelecidas pelo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* – GHS). Com isso o Brasil passou a estar de acordo com

países da União Europeia, da Ásia e outros, possibilitando maior exportação de produtos alimentícios nacionais. O GHS alterou o número de classes, passando de quatro para cinco categorias, além de incluir a categoria “não classificados” empregado em produtos com baixíssimo potencial de dano, sendo aplicado a produtos de origem biológica (ANVISA 2022). Na Tabela 4 está apresentada a classificação dos agrotóxicos.

**Tabela 4.** Classificação do grau de toxicidade dos agrotóxicos.

<b>Categoria</b>	<b>Toxicidade</b>	<b>Rótulo</b>
1	Extremamente Tóxico	
2	Altamente Tóxico	
3	Moderadamente Tóxico	
4	Pouco Tóxico	
5	Improváveis de Causar Dano Agudo	
6	Não Classificados	

**Fonte:** adaptado de ANVISA (2023).

### 3.2.2 Resíduos de Agrotóxicos em Frutas e Vegetais

No Brasil existem dois programas oficiais de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em amostras alimentícias: I) Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), coordenado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que possui como objetivo monitorar a qualidade de produtos de origem vegetal e animal produzidos em território brasileiro, monitorando a ocorrência de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários (MAPA, 2023); II) Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), coordenado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos em alimentos de origem vegetal (ANVISA, 2023). Contudo, ambos os programas realizados no Brasil não incluem a Pitaya, e dessa forma, não existem LMRs definidos para esta cultura no Brasil.

### 3.2.3 Limites Máximos de Resíduos

Na bibliografia do *Codex Alimentarius*, e da União Europeia são estabelecidos LMR para diversos compostos. A pitaya está classificada como frutas de cactos junto da opúncia, fruta de coloração avermelhada que possui espinhos em sua casca. Na Tabela 5 estão apresentados alguns compostos que possuem LMR na União Europeia e que estão presentes no método analítico desenvolvido.

**Tabela 5.** Compostos com LMR estabelecidos para a pitaya.

<b>Compostos com LMR Estabelecidos</b>	<b>União Europeia (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
Alaclor	0,01
Aldrin	0,01
Atrazina	0,05
Benalaxil	0,01
Bifentrina	0,01
Boscalida	0,01
Bromopropilato	0,01
Bupirinato	0,01
Buprofezina	0,01
Cadusafos	0,01
Clorfenapir	0,01
Clorprofam	0,01
Clomazona	0,01
Ciprodinil	0,02
DDT-o,p'	0,05
DDT-p,p'	0,05
Dieldrin	0,01
Difenoconazol	0,15
Dissulfoton	0,01
Endosulfan alfa	0,05
Endossulfan beta	0,05
Endosulfan sulfato	0,05
Endrin	0,01
Epoxiconazol	0,05
Etion	0,01
Etoprofos	0,01
Fenamidona	0,01
Fenarimol	0,02
Fenazaquina	0,01
Fenpropimorfo	0,01

Fipronil	0,005
Fluquinconazol	0,01
Flusilazol	0,01
Flutriafol	0,01
Heptacloro	0,01
Hexaclorobenzeno	0,01
Cresoxime-metil	0,01
Metconazol	0,02
Metiocarbe	0,02
Metoxicloro, p,p'-	0,01
Metolacloro	0,05
Miclobutanil	0,01
Oxadixil	0,01
Paration-metil	0,01
Penconazol	0,01
Forato	0,01
Picoxistrobina	0,01
Pirimicarbe	0,01
Pirimifos-metil	0,01
Propiconazol I+II	0,01
Pirazofos	0,01
Piridabeno	0,01
Pirimetanil	0,01
Quinalfos	0,01
Espiromesifeno	0,02
Tebuconazol	0,02
Tebufenpirade	0,01
Teflutrina	0,01
Terbufos	0,01
Tetraconazol	0,02
Triadimefon	0,01
Triazofos	0,01
Trifloxistrobina	0,01
Trifluralina	0,01
Vinclozolina	0,01

---

**Fonte:** Adaptado de União Europeia (2023).

### 3.3 Métodos de Preparo de Amostra para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya

A determinação de resíduos de agrotóxicos é extremamente necessária para garantir a qualidade e segurança dos alimentos (ALCÂNTARA, *et al.*, 2019). Para realizar a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos é necessário realizar um prévio preparo de amostra, devido as características da amostra, a fim de obter uma solução adequada para a análise. Embora alguns métodos convencionais sejam usados, nem sempre são aplicáveis para todos os alimentos, resultando em extratos com impurezas e baixos valores de recuperação dos analitos (TETTE, *et al.*, 2016).

A partir da década de 1960 várias técnicas foram desenvolvidas e aprimoradas para a determinação de resíduos de agrotóxicos, visando melhorar o desempenho analítico e menor utilização de solventes orgânicos (PRESTES; ADAIME; ZANELLA 2011). O primeiro método empregado na extração de resíduos de agrotóxicos em alimentos foi o método de Mills na década de 1960, no qual era utilizado acetonitrila para a extração de compostos organoclorados apolares em amostras gordurosas. Já em 1975, o método de Luke foi desenvolvido para extração de compostos mais polares utilizando acetona, seguido de uma partição líquido-líquido com solventes apolares. Além disso foi adicionado a presença de cloreto de sódio para auxiliar na recuperação dos compostos (ZANELLA; PRESTES; ADAIME; MARTINS 2015).

A partir da década de 1990, foram desenvolvidos diferentes métodos que visavam a redução do volume dos solventes utilizados na etapa de extração, entre eles pode ser citada a Extração em Fase Sólida (do inglês *Solid Phase Extraction*, SPE) podendo ser empregando etapa de limpeza do extrato de matrizes alimentícias. Outras técnicas também foram desenvolvidas nesta época, como a Dispersão da Matriz em Fase Sólida (*Matrix Solid Phase Dispersion*, MSPD), Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*, SPME), e métodos envolvendo extração assistida por Microondas também foram aprimorados (PRESTES; ADAIME; ZANELLA 2011).

No ano de 2003 foi proposto por Anastassiades e colaboradores um método de preparo de amostra para multiresíduo de agrotóxicos, que pode ser aplicado em

uma imensa variedade de matrizes. Esse método leva o nome de QuEChERS, acrônimo em inglês para *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), que ao passar dos anos se provou satisfatório para análise de resíduos de agrotóxicos (PERESTRELO, R. *et al.*, 2019). Na Tabela 6 estão apresentados métodos de preparo de amostra já utilizados para a quantificação de resíduos de agrotóxicos em pitaya e em outras frutas tropicais, tendo em vista que seu consumo começou a crescer somente nos últimos 15 anos.

**Tabela 6.** Métodos analíticos descritos para determinação de resíduos de agrotóxicos em frutas tropicais.

Compostos	Matriz	Método de Preparo de amostra	Clean-up (sorvente)	Detecção	Recuperação	Referência
11 agrotóxicos (multirresíduos)	Mamão, Melão, Pitaya	QuEChERS Acetato – 15 g de amostra foi adicionado a 15 mL de ACN 1% ácido acético, após agitação foram adicionados 6 g de MgSO <sub>4</sub> e 1,5 g de acetato de sódio anidro.	d-SPE  8 mL do extrato foram adicionados de 400 mg de PSA e 1200 mg de MgSO <sub>4</sub> . Posterior a agitação e centrifugação, 4 mL do extrato foi adicionado de 1 mL de tolueno e os extratos foram evaporados usando corrente de nitrogênio até volume de 0,5 mL. O volume foi completado até 1 mL com tolueno e 0,10 g de MgSO <sub>4</sub> foi adicionada. Por fim após, a centrifugação, o extrato foi analisado.	GC-MS	68 – 139%	(COELLO-VILLANUEVA, <i>et al.</i> , 2017)
33 agrotóxicos (multirresíduos)	Banana, Pitaya, Fisális	QuEChERS Acetato – 15 g foram adicionadas a 15 mL de ACN 1% ácido acético, após a agitação foram adicionados 1,5 g de acetato de sódio e 6 g de MgSO <sub>4</sub> .  QuEChERS Citrato – 10 g de amostra foi adicionada a 10 mL de ACN, após agitação o extrato foi adicionado a 1 g de NaCl, 1 g de C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> * 1,5H <sub>2</sub> O, 1,5 g de Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> e 4 g de MgSO <sub>4</sub> .	d-SPE  QuEChERS Acetato – 2 mL do extrato foi adicionado a 300 mg de MgSO <sub>4</sub> e 100 mg de PSA.  QuEChERS Citrato – 2 mL do extrato foi adicionado a 300 mg de MgSO <sub>4</sub> e 50 mg de PSA.	GC-MS	68 – 131%	ESPAÑA AMÓRTEGUI; GUERRERO DALLOS. 2014)

19 agrotóxicos (multirresíduos)	Maracujá, Pitaya, Goiaba, mamão	QuEChERS Citrato – 10 g de amostra foi adicionado a 10 mL de ACN, após a agitação 4 g de MgSO <sub>4</sub> , 1 g de NaCl, 0,5 g de C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> * 1,5H <sub>2</sub> O e 1 g de Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> foram adicionados ao extrato.	d-SPE 1 mL do extrato foi adicionado a 150 mg de MgSO <sub>4</sub> , 25 mg de PSA e 25 mg de C18.	LC-MS/MS 70 – 120%	(BOTERO-COY, <i>et al.</i> , 2015).
38 agrotóxicos (multirresíduos)	Graviola, Fisalis, Pitaya	QuEChERS Acetato – 5 g de amostra foram adicionadas a 10 mL de ACN 1% ácido acético. Após a agitação foram adicionados 1,5 g de acetato de sódio e 6 g de MgSO <sub>4</sub> .	d-SPE 1 mL do extrato foi adicionado a 150 mg de MgSO <sub>4</sub> , 50 mg de PSA e 50 mg de C18.	GC-MS 70 – 120%	(VARELA-MARTÍNEZ, <i>et al.</i> , 2020)
549 agrotóxicos (multirresíduos)	Pitaya, Carambola, Goiaba (e outros 60 <i>commodities</i> )	QuEChERS (o autor não apresenta qual versão do método foi utilizada).	–	LC-MS/MS GC-MS/MS	(SKRETTEBERG <i>et al.</i> , 2014)
2 agrotóxicos (difenoconazol e azoxystrobina)	Pitaya	QuEChERS Acetato – 15 g foram adicionadas a 15 mL de ACN 1% ácido acético. Após a agitação foram adicionados 1,5 g de acetato de sódio e 6 g de MgSO <sub>4</sub> .  QuEChERS Citrato – 10 g de amostra foi adicionada de 10 mL de ACN, após agitação o extrato foi adicionado a 1 g	d-SPE QuEChERS Acetato – 8 mL do extrato foi adicionado de 400 mg de PSA e 1200 mg de MgSO <sub>4</sub> .  QuEChERS Citrato – 6 mL do extrato foi adicionado a 900 mg de MgSO e 150 mg de PSA.	LC-MS/MS 75 – 119%	(Noegrohati, NOEGROHATI <i>et al.</i> , 2018)

<i>Continuação do autor anterior</i>		de NaCl, 0,5 g de $C_6H_6Na_2O_7^*$ 1,5H <sub>2</sub> O, 1 g de Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> e 4 g de MgSO <sub>4</sub> .			
6 agrotóxicos (piretróides)	Pitaya, Manga, maçã (e outros 15 <i>commodities</i> )	Extração Sólido-líquido – 5 g de amostra foi adicionada de 10 mL de diclorometano, sendo agitada e deixada em banho ultrassônico por 5 min.	d-SPE O extrato foi filtrado em filtros de papel e o extrato foi eluído em cartuchos de carbono grafitizado 250 mg, o extrato foi eluído com 8 mL de diclorometano e posteriormente foi evaporado a 37 °C e seu volume final foi completado até 1 mL com acetato de etila.	GC-ECD	– PAKVILAI, <i>et al.</i> , 2012

### 3.3.1 Método QuEChERS

Anastassiades *et al.* (2003) desenvolveram o método QuEChERS com o objetivo de superar limitações dos métodos já existentes. As principais características do método são: rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. O método propõe a possibilidade de atender os Limites Máximos de Resíduos estabelecidos por legislações nacionais e internacionais, e foi idealizado para produzir extratos que pudessem ser analisados por Cromatografia Líquida e a Gás (PRESTES *et al.*, 2011).

O método QuEChERS é dividido em três etapas: extração, partição e limpeza. A etapa de extração é realizada com adição de acetonitrila, onde a amostra é agitada manualmente ou com auxílio de vórtex. A acetonitrila propicia a extração de diversos analitos com polaridades diferentes e uma menor extração de interferentes presentes na amostra, como ceras, gorduras e pigmentos, além de ser adequada para sistemas de GC-MS/MS e LC-MS/MS (MUSARURWA, *et al.*, 2019; BORGES; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2015). A etapa de partição é realizada adicionando sais de partição como o sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) e cloreto de sódio (NaCl). A adição desses sais propiciará o efeito *salting out* e diminuirá a solubilidade dos compostos polares na fase aquosa e a remoção da água presente na fase orgânica. Na etapa de limpeza do extrato são utilizados com a adição de sorventes como PSA (amina primária-secundária do inglês *primary secondary amine*) que possui efeito quelante, sendo responsável por reter ácidos graxos e compostos polares presentes na matriz, e  $MgSO_4$  que irá remover uma possível fração aquosa que ainda esteja no extrato. Essa etapa é realizada por d-SPE do inglês: *dispersive Solid Phase Extraction* (PRESTES *et al.*, 2009).

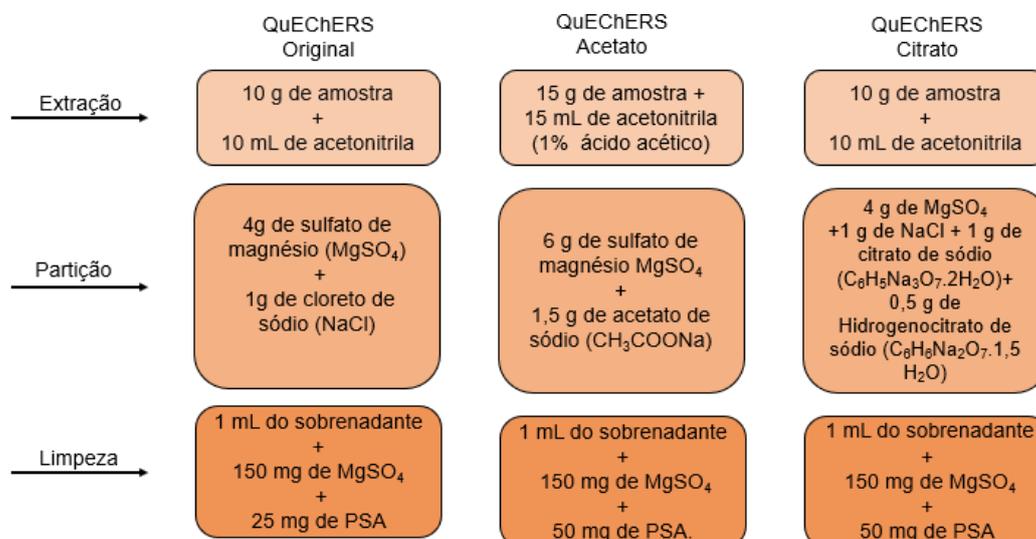
A acetonitrila é amplamente utilizada devido a sua capacidade em extrair compostos com diferentes polaridades. Utiliza-se de sais como o cloreto de sódio para que o efeito *salting out* aconteça, esse consiste na precipitação das substâncias polares pela diminuição da solubilidade que é ocasionada pela solubilização do sal. Desta forma, quando NaCl é utilizado espera-se que os analitos polares sejam extraídos com maior facilidade (ARIAS 2019; JING *et al.*, 2023). A utilização de sulfato de magnésio ocorre pela sua capacidade de remover água presente na amostra, além de gerar uma reação exotérmica, que eleva a temperatura da mistura entre 40 e 45

°C na etapa de extração e partição, favorecendo a extração de compostos apolares. A limpeza com o sorvente PSA irá reter as interferências da matriz, e após a agitação e centrifugação a amostra estará adequada para injeção no sistema cromatográfico (PRESTES; ADAIME; ZANELLA 2011).

O método QuEChERS passou por diversas modificações que o tornaram eficaz na análise multirresíduo de agrotóxicos em alimentos (MUSARURWA, *et al.*, 2019). Ao passar dos anos, notou-se que alguns compostos apresentavam problemas de estabilidade ou recuperação frente ao método original, devido ao pH da matriz necessitando assim de ajustes no método para que as recuperações fossem satisfatórias (PRESTES *et al.*, 2009; PRESTES *et al.*, 2011).

A primeira modificação realizada no método foi a adição do tamponamento do extrato. A proposta foi desenvolvida por Lehotay e colaboradores 2005, adaptando o método criando o QuEChERS acetato. Nesse, utiliza-se acetonitrila acidificada a 1% (v/v) com ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) e acetato de sódio ( $\text{NaO}_2\text{CCH}_3$ ) na etapa de partição. Esse tamponamento gera um extrato com pH 4,8. Em 2007, Anastassiades e seus colaboradores desenvolveram o método QuEChERS Citrato, onde foi adicionada uma mistura de citrato de sódio diidratado e hidrogenocitrato sesquihidratado na etapa de partição, gerando efeito tamponante ao extrato e pH entre 5,0-5,5 (PRESTES *et al.*, 2009; PRESTES *et al.*, 2011). Na Figura 4 estão apresentadas as três variações do método QuEChERS.

**Figura 4.** Variações do método QuEChERS.



**Fonte:** Adaptado de Zanella *et al* (2015).

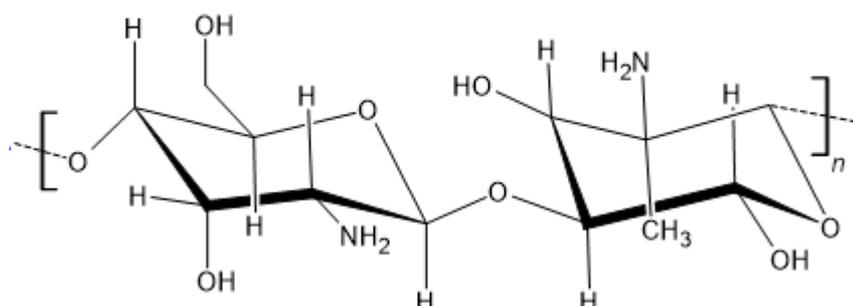
A adição de sais como citrato ou acetato de sódio permite tamponar o meio extrator, neutralizando a acidez ou basicidade da matriz e regulando pH do meio, o que aumenta a eficiência da extração de determinados analitos ao manter a forma não ionizada da respectiva molécula. Na etapa de limpeza, o PSA pode ser associado ao Octadecilsilano (C18) utilizado para extração de lipídios e coextrativos apolares, carbono grafitizado (GCB) utilizado para extração pigmentos, esteróis, coextrativos apolares, Quitosana, Florisil utilizado para extração corantes e lipídios entre outros (MUSARURWA, Herbert *et al.*, 2019; BORGES; FIGUEIRED; QUEIROZ 2015). Em outros trabalhos, como os apresentados no tópico anterior observa-se a utilização de diferentes sorventes de limpeza na remoção de interferes frente a amostras de pitaya, como o C18 utilizado por BOTERO-COY, *et al.*, (2015)

### **3.3.2 Quitosana como Sorvente de Limpeza**

A quitosana é um polissacarídeo linear e pode ser produzida a partir da desacetilação da quitina presente no exoesqueleto de crustáceos. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante no planeta, ficando atrás apenas da celulose. A quitosana tem como suas principais aplicações em indústrias de alimentos, bebidas, na agricultura, tratamento de água e resíduos e ainda pode ser utilizada em cosméticos e biofármacos (PERRIN, *et al.*, 2022; CABRERA, *et al.*, 2016).

A primeira utilização da quitosana como sorvente de limpeza foi descrita por DE OLIVEIRA ARIAS *et al.*, 2014. Neste trabalho os pesquisadores compararam a eficiência de três sorventes de limpeza a quitosana, terra de diatomácea e PSA para a determinação de agrotóxicos em amostras de solo. Nesse trabalho a quitosana foi apresentada como material alternativo para ser usado na etapa d0002-SPE, sendo uma boa opção para deixar o método mais barato e eficiente na remoção de interferentes. Na Figura 5, está ilustrada a molécula da quitosana.

**Figura 5.** Estrutura química da quitosana.



Fonte: Autor

A quitosana vem sendo eficiente na remoção de metais pesados, moléculas aromáticas e corantes presentes em água, além de ser utilizada na remoção de lipídios presentes em efluentes. A quitosana é considerada um sorvente verde devido ao seu baixo custo de produção e alta disponibilidade. Ela é um material atóxico e biodegradável, tornando-se uma ótima alternativa para métodos verdes e é considerada um biosorvente (DE OLIVEIRA ARIAS, *et al.*, 2018).

### 3.3.3 Diluição do Extrato em Acetonitrila

Entre as abordagens de Química Verde, merece destaque a técnica conhecida como *Dilute and Shoot* (DnS). Nos últimos anos, essa técnica tem ganhado significativa relevância e vem sendo empregada em uma variedade de análises, incluindo métodos multirresíduos. Contudo, para amostras sólidas, é necessário realizar uma etapa de extração antes da aplicação do DnS (GREER *et al.*, 2021).

No âmbito da Química Analítica Verde, o método de Diluição e Solubilização (DnS) emerge como uma alternativa altamente atrativa para a preparação de amostras, especialmente em situações em que a rotina laboratorial demanda o processamento de um grande número delas. Este método, fundamentado na diluição de uma amostra líquida em um solvente apropriado, oferece uma abordagem operacional simples, rápida e eficiente. Além disso, ele minimiza o consumo de reagentes e proporciona resultados confiáveis para uma variedade de aplicações analíticas. O principal objetivo do método DnS é reduzir a concentração dos

componentes presentes na matriz, os quais poderiam interferir na análise (PRATA *et al.*, 2021).

### **3.4 Métodos Cromatográficos para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos**

As principais técnicas cromatográficas utilizadas para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos são a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High-performance liquid chromatography*) e a cromatografia a gás (GC, do inglês *gas chromatography*). Para escolher um método analítico adequado para quantificar resíduos de agrotóxicos em amostras alimentícias, é necessário observar as características de cada matriz e dos analitos, levando em conta a concentração de compostos como lipídios, carboidratos, pigmentos e outros. Outro fator que influencia na escolha do método é a concentração em que os agrotóxicos devem ser quantificados, observando-se a legislação vigente para cada matriz, onde normalmente o LMR está em  $\text{mg kg}^{-1}$  ou até  $\mu\text{g kg}^{-1}$  necessitando de técnicas com baixo LOQ. A cromatografia líquida e a gás combinadas a detecção por espectrometria de massas (MS) ou espectrometria de massas sequencial (MS/MS) são as mais utilizadas, possuindo características adequadas de especificidade e sensibilidade (MEIRA, 2015).

#### **3.4.1 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas**

A cromatografia a gás é uma técnica físico-química de separação de compostos, utilizada em análises ambientais e alimentícias. Na cromatografia a gás tem-se a fase móvel gasosa e a fase estacionária um sólido (cromatografia gás-sólido) ou um líquido (cromatografia gás-líquido). Na cromatografia gás-líquido há a passagem de um gás por uma coluna que contém um líquido de alta viscosidade revestindo suas paredes internas (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Na GC, substâncias voláteis ou gases podem ser separadas, e a separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias entre a fase estacionária e a fase móvel, sendo um gás inerte o gás de arraste, como o Hélio por exemplo. O gás de

arraste possui a função de eluir os componentes da amostra pela fase estacionária. Os compostos que possuem menor interação pela fase estacionária eluem anterior aos que possuem maior afinidade por ela (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Atualmente a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS/MS) vem sendo amplamente utilizada na determinação multirresíduo de agrotóxicos em alimentos. Suas características foram responsáveis por difundir a técnica, como a facilidade do acoplamento, juntamente a disponibilidade de um banco de espectros de massas adquiridos em modo ionização por impacto de elétrons (*Electron Ionization*, EI). A GC-MS/MS é uma das principais técnicas utilizada na análise de resíduos de agrotóxicos, por poder confirmar com grande certeza os compostos em estudo, ainda podendo trabalhar com muitos compostos simultaneamente. A técnica permite que baixos limites de detecção sejam alcançados, devido à alta seletividade da (PRESTES *et al.*, 2009).

Um espectrômetro de massas é composto por três principais partes, sendo elas: fonte de íons, analisador de massas, e detector. Na fonte de íons, os íons são gerados, no analisador de massas, ocorre a separação dos compostos previamente ionizados de acordo com sua razão massa/carga ( $m/z$ ); e por último, no detector, ocorre o recebimento do sinal correspondente a cada composto, de acordo com sua abundância, para que através de um software esse sinal seja quantificado (WONG; SO; YAO 2016).

Os sistemas convencionais para a determinação de agrotóxicos podem utilizar GC-MS com um único quadrupolo trabalhando em monitoramento selecionado de íons (SIM) ou triplo quadrupolos (QqQ) analisando múltiplas reações selecionadas (SRM), (PICO; ALFARHAN; BARCELO 2020). Em instrumentos do tipo QqQ, e no primeiro quadrupolo (Q1) que o íon de interesse é pré-selecionado e logo após na câmara de colisão (Q2) o íon é ativado, essa célula deve estar previamente pressurizada com o gás de colisão, sendo utilizado argônio. Os fragmentos gerados nessa etapa não analisados no terceiro quadrupolo (Q3). Esse processo é reconhecido por sua baixa energia, sendo denominado de dissociação induzida por colisão (*collision-induced dissociation*, CID), onde o íon precursor já é selecionado antes que as colisões ocorram (CALDAS *et al.*, 2011).

### 3.5 Validação de Métodos Cromatográficos

A validação de um método analítico possui como objetivo provar que um método é adequado para sua finalidade, isso é que ele atende aos critérios e parâmetros de aceitação recomendados. Por meio da validação é possível definir se este método é confiável, rastreável, permite comparação entre resultados e é adequado para tomar decisões baseadas nele (INMETRO, 2020).

Para a validação de um método analítico, todas as variáveis devem ser levadas em consideração, desde a amostragem até o processamento de dados após as análises. Para a validação de um método multirresíduo de agrotóxicos, os parâmetros avaliados são os seguintes: Efeito matriz, exatidão, linearidade, limite de detecção (LOD, do inglês *limit of detection*), limite de quantificação (LOQ, do inglês *limite of quantification*), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e seletividade (INMETRO, 2020; SANTE, 2021). Na Tabela 7 estão apresentados os parâmetros avaliados na validação analítica.

**Tabela 7.** Parâmetros avaliados na validação.

Parâmetro	Definição	Referência
Efeito Matriz	Influência dos componentes da matriz na resposta (y).	SANTE, 2021
Exatidão	Aproximação do resultado em relação a referência.	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017
Faixa linear	Intervalo de concentrações no qual as variáveis y e x apresentam uma correlação linear.	INMETRO, 2020
Limite de detecção (LOD)	A concentração limite que permite distinguir entre o sinal do analito e o ruído.	INMETRO, 2020
Limite de quantificação (LOQ)	A menor concentração a partir da qual é possível quantificar o analito com precisão e exatidão aceitáveis.	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017
Linearidade	Relação de correlação entre a resposta analítica e a concentração do analito.	ANVISA, 2017
Precisão	Proximidade dos resultados obtidos por diferentes repetições nos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.	INMETRO, 2020; ANVISA, 2017

Seletividade	Capacidade do método de medir com precisão o analito em uma amostra, sem a interferência de outros componentes presentes na matriz.	SANTE, 2021
--------------	---	-------------

---

**Fonte:** ANVISA (2017); INMETRO (2020); SANTE (2021).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

---

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises de Resíduos de Contaminantes Orgânicos (LARCO) da Escola de Química e Alimentos da (FURG) e no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

### 4.1 Instrumentação

Abaixo estão listados os equipamentos utilizados no desenvolvimento do presente trabalho:

- Sistema de purificação de água Milli-Q Direct 3UV® (Millipore, França)
- Centrífuga refrigerada para tubos de 15 mL (NT 825 Novatécnica, Brasil)
- Centrífuga refrigerada para tubos de 50 mL (NT 825 Novatécnica, Brasil)
- Agitador Vortex – Modelo VX-38 (IONLAB, Brasil)
- Agitador Giroscópio modelo MJ 51.3 (Junqueira, Brasil)
- Agitador multi turbo vortex (Fisher Scientific, EUA)
- Balanças analíticas modelo UX-420H e APX-200 (Shimadzu, Japão)
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha e Eppendorf, Canadá)
- Mixer vertical – Black+Decker modelo Sb55 (Black & Decker, EUA)
- Sistema GC-MS/MS equipado com:
  - Cromatógrafo a gás, modelo Intuvo 9000 B (Agilent Technologies, EUA)
  - Detector MS triplo quadrupolo, modelo 7010 B (Agilent Technologies, EUA)
  - Amostrador automático (Agilent Technologies, EUA)
  - Espectrofotômetro modelo UV-1800 (Nova Instruments)

### 4.2 Reagentes e Materiais Utilizados

Os reagentes e materiais utilizados no desenvolvimento do presente trabalho estão listados a seguir:

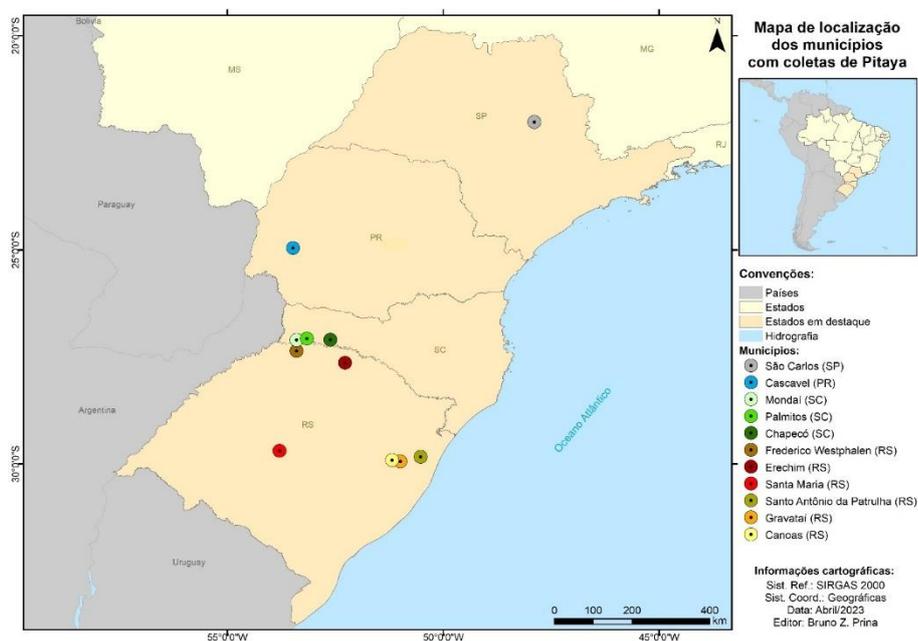
- Acetato de sódio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA)
- Acetonitrila, grau HPLC (Supelco, Alemanha)
- Ácido acético glacial 100% (J. T. Baker, EUA)
- Água ultrapurificada em sistema Milli-Q Direct 3UV® resistividade de 18,2 MΩ cm (Millipore, França)
- Alumina 100-125 mesh (Sigma Aldrich, EUA)
- Amina primária e secundária (PSA), partícula de 50 µm (Supelco, Alemanha)
- Bondesil C18 (octadecilsilano) com tamanho de partícula de 40 µm (Supelco, EUA)
- Carvão ativado (Agilent Technologies, EUA)
- Carvão grafitizado (GCB), Supelclean ENVI-Carb, não poroso, área superficial 100 m<sup>2</sup>/g; tamanho de partícula 120/400 mesh (Supelco, EUA)
- Celite® 521 Terra diatomácea (Sigma Aldrich, EUA)
- Citrato de sódio diidratado, pureza ≥ 99% (Sigma-Aldrich, EUA)
- Cloreto de sódio (Sigma-Aldrich, EUA)
- Extran® neutro (Merck, Brasil)
- Filtros de nylon de 13 mm e porosidade de 0,22 µm (Nova Analítica, Brasil)
- Florisil® (Sigma-Aldrich, Brasil)
- Frascos de vidro (vial), capacidade de 2 mL (Analítica, Brasil)
- Frascos de vidro, capacidade de 4 mL (Agilent, EUA)
- Gás Hélio grau de pureza 6,0
- Hidrogenocitrato de sódio sesquidratado, pureza ≥ 99% (Sigma-Aldrich, EUA)
- Metanol, grau HPLC (Merck, Alemanha)
- Microtubos tipo Eppendorf, capacidade de 2 mL (Labcon, EUA)
- Oasis HLB (Waters, Irlanda)
- Padrões sólidos dos compostos em estudo
- Poliamino (NH<sub>2</sub>) (Agilent Technologies, EUA)
- Quitosana de casca de camarão (Sigma-Aldrich, Islândia)
- Quitosana de casca de caranguejo (Sigma-Aldrich, Japão)
- Strata-X (Phenomenex, EUA)
- Sulfato de magnésio anidro p.a. (J. T. Baker, EUA);
- SupelTM QuE Z-Sep+ (Sigma Aldrich, EUA)

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

### **4.3 Amostras de Pitaya**

As amostras “branco” utilizadas no presente trabalho foram adquiridas comercialmente e previamente analisadas, para avaliar se existia a presença de algum dos agrotóxicos avaliados. As frutas tiveram sua espessa casca retirada e apenas sua polpa foi processada, com auxílio de mixer (processador de alimentos). Em seguida, as amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno e mantidas em freezer ( $\leq -10$  °C) até o momento da extração. Para a aplicabilidade do método, foram adquiridas no total 17 amostras comerciais de pitaya branca e rosa de diferentes cidades dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e São Paulo, conforme mostrado na Figura 6. Na Tabela 8 estão apresentadas o código das amostras e as localidades onde foram adquiridas e a cor da sua polpa. Para a realização dos ensaios, as amostras foram retiradas do freezer e deixadas descongelar a temperatura ambiente.

**Figura 6.** Mapa da cidade de onde as amostras de pitaya foram adquiridas.



**Fonte:** Autor.

**Tabela 8.** Código, localidade e tipo de polpa das amostras.

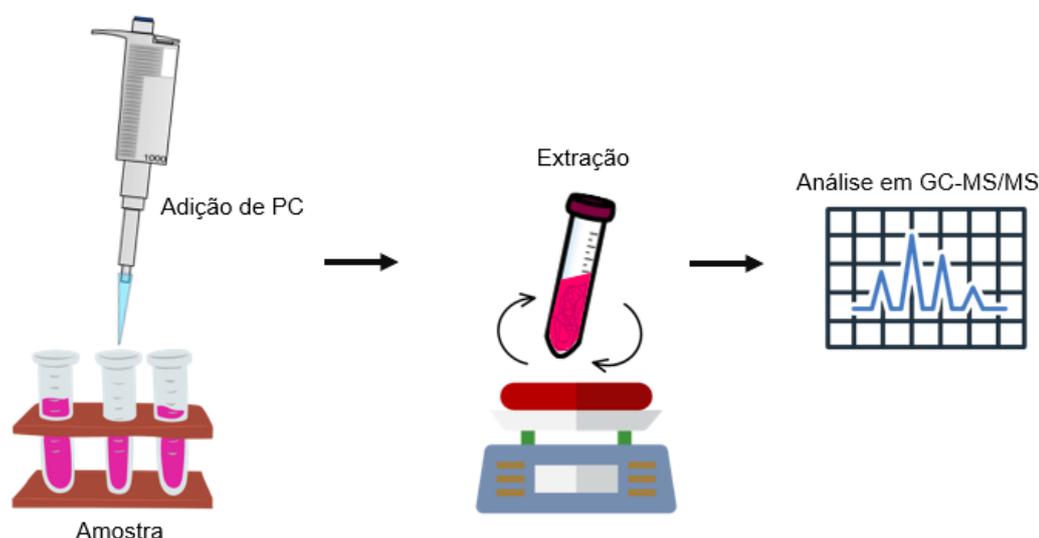
Código da Amostra	Localidade	Tipo de Polpa
P1173	Chapecó – SC	Rosa
P1174	Erechim – RS	Rosa
P1175	Palmitos – SC	Rosa
P1176	Mondaí – SC	Rosa
P1177	Cascavel – PR	Rosa
P1178	Mondaí – SC	Rosa
P1179	São Carlos – SP	Rosa
P1180	Canoas – RS	Rosa
P1181	Frederico Westphalen - RS	Rosa
P1182	Santo Antônio da Patrulha - RS	Branca
P1183	Gravataí – RS	Branca
P1184	Santo Antônio da Patrulha - RS	Branca
P1185	Santa Maria - RS	Rosa
P1186	Santa Maria - RS	Branca
P1187	Santa Maria - RS	Rosa
P1188	Santa Maria - RS	Rosa
P1189	Santa Maria - RS	Branca

**Fonte:** Autor.

#### 4.4 Padrão de controle

Segundo SANTE 2021, o Padrão de Controle (PC) é definido como substâncias químicas estáveis que se comportam de forma semelhante aos analitos, com alto teor de pureza, não devem estar presentes naturalmente na amostra em estudo e não devem interagir com os compostos presentes na amostra. Para verificar a eficácia na etapa de extração dos analitos, foi adicionada a atrazina-d5 como padrão de controle. As recuperações aceitas segundo SANTE 2021 são de 70-120% e  $RSD \leq 20\%$ . Na Figura 7 está ilustrado o processo de adição do Padrão de Controle.

**Figura 7.** Adição de Padrão de Controle em matriz de pitaya



**Fonte:** Autor

A solução de atrazina-d5 foi preparada em acetonitrila na concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  e armazenada em um frasco âmbar, refrigerada a ( $\leq -10 \text{ }^\circ\text{C}$ ). O Padrão de Controle foi adicionado à matriz antes da etapa de extração nas mesmas concentrações que os demais compostos avaliados em níveis de fortificações diferentes. Os quatro níveis de fortificação do Padrão de Controle e dos agrotóxicos em estudo foram  $5; 10; 25$  e  $50 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ . A curva analítica foi preparada nas concentrações de  $1; 2,5; 5; 10, 25, 50, 75 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ .

#### 4.5 Compostos Seleccionados e Preparo das Soluções Analíticas

Para a realização deste estudo, foram selecionados 91 agrotóxicos de diferentes classes. Essa escolha se deu a partir dos compostos liberados para pitaya pela União Europeia e *Codex Alimentarius*, pois no Brasil não há legislação que contemple a cultura. Além disso, outro critério utilizado para a escolha dos compostos foi a possibilidade de serem analisados por GC-MS/MS, bem como a frequência de agrotóxicos que são encontrados nas análises realizadas pelo LARP em outras culturas, com o intuito de enriquecer o método.

Os padrões analíticos dos agrotóxicos selecionados foram adquiridos das empresas Dr. Ehrenstofer (Alemanha), Sigma-Aldrich (EUA) e ChemService (EUA) e estão listados na Tabela 9, juntamente com algumas propriedades físico-químicas, massa molecular, classe agronômica e grupo químico. Os padrões utilizados possuem pureza maior que 90%.

**Tabela 9.** Informações dos analitos em estudo, pKa, fórmula molecular, classe química, ação agrônômica,

	<b>Analito</b>	<b>pKa</b>	<b>Fórmula molecular</b>	<b>Classe Química</b>	<b>Ação Agrônômica</b>	<b>Massa Molecular (g mol<sup>-1</sup>)</b>
1	Alacloro	16,6	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>	Cloroacetanilida	Herbicida	269,77
2	Aldrin	-	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub>	Organoclorado	Inseticida	364,91
3	Atrazina	1,6	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	Triazina	Herbicida	215,68
4	Azoxistrobina	-	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	Estrobilurina	Fungicida	403
5	Benalaxil	1,52	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	Acilalaninato	Fungicida	325,4
6	BHC-alfa	-	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	Organoclorado	Inseticida e rodenticida	290,83
7	BHC-gama	-	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	Organoclorado	Inseticida, acaricida e rodenticida	290,82
8	BHC-beta	-	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	Organoclorado	Inseticida	290,82
9	Bifentrina	-	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Piretróide	Inseticida e acaricida	422,88
10	Boscalida	-	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	Anilida	Fungicida	343,21
11	Bromopropilato	-	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> Br <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Benzilato	Acaricida	428,1
12	Bupirimato	4,4	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	Pirimidinol	Fungicida	316,42
13	Buprofezina	-	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS	Tiadiazinona	Inseticida e acaricida	305,44
14	Cadusafos	-	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	Organofosforado	Inseticida e nematicida	270,39
15	Carbofenotiona	-	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> ClO <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Organofosforado	Inseticida e acaricida	342,9
16	Clorfenapir	-	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> BrClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	Pirazol	Inseticida e acaricida	407,62
17	Clorprofam	14,5	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>2</sub>	Carbamato	Herbicida	213,66
18	Clorpirifós	-	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	Organofosforado	Inseticida e acaricida	350,58
19	Clorpirifós-metil	-	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	Organofosforado	Inseticida, acaricida e Formicida	322,53

20	Clomazona	-	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>2</sub>	Isoxazolidinona	Herbicida	239,70
21	Ciflutrina	-	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>2</sub> FNO <sub>3</sub>	Piretróide	Inseticida	434,29
22	Ciprodinil	4,4	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub>	Anilino pirimidina	Fungicida	225,29
23	DDT-o,p'	-	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	Organoclorado	Inseticida	354,48
24	DDT-p,p'	-	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	Organoclorado	Inseticida	354,48
25	Dicloran	-	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Clorofenil	Fungicida	207,01
26	Diclorvos	-	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> C <sub>12</sub> O <sub>4</sub> P	Organofosfato	Inseticida, acaricida e Metabólito	220,98
27	Dieldrin	-	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	Hidrocarboneto clorado	Inseticida e metabólito	380,91
28	Difenoconazol	1,01	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	Triazol	Fungicida	406,26
29	Dissulfoton	-	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Organofosforado	Inseticida e acaricida	274,4
30	Endosulfan alfa	-	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	Organoclorado	Inseticida e acaricida	406,93
31	Endossulfan beta	-	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	Organoclorado	Inseticida e acaricida	406,93
32	Endosulfan sulfato	-	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S	Organoclorado	Inseticida e acaricida	422,93
33	Endrin	-	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	Organoclorado	Inseticida	380,91
34	Epoxiconazol	-	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	Triazol	Fungicida	329,76
35	Esfenvalerato	-	C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>3</sub>	Piretróide	Inseticida	419,91
36	Etiona	-	C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> P <sub>2</sub> S <sub>4</sub>	Organofosfato	Inseticida, Acaricida, Metabólito	384,48
37	Etofenprox	-	C <sub>25</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	Piretróide	Inseticida	376,5
38	Etoprofós	-	C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	Organofosforado	Inseticida e nematocida	242,3
39	Etrimfos	-	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> OPS	Organofosforado	Inseticida	292,29
40	Fenamidona	-	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS	Imidazol	Fungicida	311,4
41	Fenarimol	-	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	Pirimidinilcarbinol	Fungicida	331,2

42	Fenazaquina	2,44	$C_{20}H_{22}N_2O$	Quinalzolina	Inseticida, acaricida	306,4
43	Fention	-	$C_{10}H_{15}O_3PS_2$	Organofosforado	Inseticida	278,33
44	Fenvalerato	-	$C_{25}H_{22}ClNO_3$	Piretróide	Inseticida	419,91
45	Fempropimorfe	6,98	$C_{20}H_{33}NO$	Morfolina	Fungicida	303,48
46	Fipronil	-	$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$	Pirazol	Inseticida, formicida e cupinicida	437,15
47	Fluazifope-p-butílico	-	$C_{19}H_{20}F_3NO_4$	Ácido arilfenoxipropiônico	Herbicida	383,36
48	Fluquinconazol	0,9	$C_{16}H_8Cl_2FN_5O$	Triazol	Fungicida	376,17
49	Flusilazol	2,5	$C_{16}H_{15}F_2N_3Si$	Organosilicado	Fungicida	315,39
50	Flutriafol	-	$C_9H_{18}NO_3PS_2$	Organofosforado	Inseticida e nematocida	301,29
51	Heptacloro	-	$C_{10}H_5Cl_7$	Organoclorado	Inseticida	373,32
52	Hexaclorobenzeno	-	$C_6H_6$	Organoclorado	Fungicida	284,8
53	Hexaconazol	-	$C_{14}H_{17}Cl_2N_3O$	Triazol	Fungicida	314,21
54	Cresoxim-metil	-	$C_{18}H_{19}NO_4$	Estrobilurina	Fungicida	313,35
55	Malationa	-	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	Organofosforado	Inseticida e acaricida	330,36
56	Metconazol	11,4	$C_{17}H_{22}ClN_3O$	Triazol	Fungicida	319,83
57	Metidation	-	$C_6H_{11}N_2O_4PS_3$	Organofosforado	Inseticida e acaricida	302,3
58	Metiocarbe	-	$C_{11}H_{15}NO_2S$	Carbamato	Inseticida, moluscicida e repelente de pássaros	225,31
59	Metoxicloro	-	$C_{16}H_{15}Cl_3O_2$	Organoclorado	Inseticida	345,65
60	Metolacloro	-	$C_{15}H_{22}ClNO_2$	Cloroacetamida	Herbicida	283,8
61	Mirex	-	$C_{10}Cl_{12}$	Organoclorado	Inseticida	545,54
62	Microbutanil	2,3	$C_{15}H_{17}ClN_4$	Triazol	Fungicida	288,78
63	Nuarimol	-	$C_{17}H_{12}ClFN_2O$	Pirimidina	Fungicida	314,7

64	Oxadixil	-	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	Fenilamida	Fungicida	278,3
65	Parationa-metilica	-	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>5</sub> PS	Organofosforado	Inseticida	263,21
66	Penconazol	1,5	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	Triazol	Fungicida	284,18
67	Forato	-	C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Organofosforado	Inseticida e acaricida	160,36
68	Picoxistrobina	-	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>	metoxiacrilato	Fungicida	367,32
69	Pirimicarbe	4,4	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Dimetilcarbamato	Inseticida	238,39
70	Pirimifós-metil	4,3	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	Organofosforado	Inseticida e acaricida	305,33
71	Prometrina	4,1	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	Triazina	Herbicida	241,36
72	Propiconazol	1,09	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Triazol	Fungicida	342,22
73	Protiofós	-	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	Organofosforado	Inseticida	345,25
74	Pirazofos	-	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> PS	Fosforotioato de heterociclo	Inseticida e fungicida	373,36
75	Piridabem	-	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> OS	Piridazinona	Inseticida, acaricida	364,93
76	Pirimetanil	3,5	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	Anilino pirimidina	Fungicida	199,28
77	Quinalfos	-	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	Organofosforado	Inseticida e acaricida	298,3
78	Espiromesifeno		C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	Butenolide	Inseticida	370,48
79	Tebuconazol	5	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	Triazol	Fungicida	307,82
80	Tebufenpirade	-	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>3</sub> O	Pirazol	Inseticida e acaricida	333,8
81	Teflutrina	9,0	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> ClF <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	Piretróide	Inseticida	418,73
82	Terbufos	-	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	Organofosfato	Inseticida, nematocida	288,4
83	Tetraconazol	0,6	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O	Triazol	Fungicida	372,15
84	Tetrametrina	-	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	Piretróide	Inseticida	331,40
85	Transflutrina	-	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Piretróide	Inseticida	371,15
86	Triadimefon	-	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Azol	Fungicida	293,8

87	Triazofós	-	$C_{12}H_{16}N_3O_3OS$	Organofosfato	Inseticida, acaricida, nematicida	313,3
88	Trifloxistrobina	-	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	Estrobilurina	Fungicida	408,37
89	Trifluralina	-	$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$	Dinitroanilina	Herbicida	335,28
90	Vinclozolina	-	$C_{12}H_9Cl_2NO_3$	Oxazol	Fungicida	286,11

---

#### 4.6 Condições Cromatográficas do Sistema GC-MS/MS para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya

As condições de operação do GC-MS/MS, modelo Agilent Intuvo 9000, são sugeridas pelo fabricante do equipamento, sendo apresentadas a seguir:

- Vazão/Pressão: Vazão constante de 1,2 mL/min
- Gás Carreador: Hélio 99,999%
- Temperatura do Injetor: 280 °C
- Volume e Modo de Injeção: 1 µL - *Splitless*
- Pressão: 12,4 psi
- Temperatura do Forno: Mantido por 1 min a 60 °C, 40 °C/min até 170 °C e 10 °C/min até 310 °C
- Coluna Capilar: HP-5 MS UI (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
- Temperatura do "*Guard-Chip*": 150 °C
- Temperatura do "*Bus Temperature*": 280 °C
- Temperatura da *Transfer Line*: 300 °C
- Temperatura da Fonte: 300 °C
- Modo de Ionização: Impacto por Elétrons (*High Efficiency Source*- HES)
- Modo de Aquisição: Monitoramento de Reações Múltiplas Dinâmico (dMRM)
- Gás de Colisão e Vazão: Nitrogênio: 1,5 mL/min de pureza 99,9999%
- Temperatura dos Quadrupolos MS1 e MS2: 150 °C

#### 4.7 Desenvolvimento de Método de Preparo de Amostra para Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Pitaya por GC-MS/MS

##### 4.7.1 Testes Iniciais de Preparo de Amostra

O preparo de amostra pode ser um processo moroso e talvez a parte mais crítica da análise, uma vez que caso esse processo não seja eficaz todo o resultado será comprometido. Desta forma, inicialmente foram utilizadas as três variações do método QuEChERS para avaliar a extração multirresíduo de agrotóxicos em pitaya de

polpa rosa. Os testes foram realizados em triplicata avaliando-se a recuperação dos compostos na concentração de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Em paralelo, os extratos foram submetidos a análise em modo varredura de 40 a 500 m/z a fim de avaliar a presença de coextrativos presentes no extrato.

Para extração segundo QuEChERS original, seguiu-se o seguinte procedimento: 10 g de polpa de pitaya foi transferida para um tubo de polipropileno (50 mL) e adicionada de 10 mL de acetonitrila. O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e então 1 g de NaCl e 4 g de  $\text{MgSO}_4$  foram adicionados. O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e centrifugado (6000 rpm, 5 min) à temperatura ambiente. Uma alíquota (1 mL) do sobrenadante foi transferida para um tubo de polipropileno (15 mL) contendo 150 mg de  $\text{MgSO}_4$  e 25 mg PSA. O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e centrifugado (5.000 rpm, 2 min) à temperatura ambiente. O extrato foi filtrado com filtro de seringa de nylon de  $0,22 \mu\text{m}$ .

Para extração segundo QuEChERS acetato, seguiu-se o seguinte procedimento: 15 g de polpa de pitaya foi transferida para um tubo de polipropileno (50 mL) e adicionada de 15 mL de acetonitrila contendo ácido acético 1% (v/v). O tubo foi agitado em vórtex (1 min). Nos tubos foram adicionados 1,5 g de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  e 6 g  $\text{MgSO}_4$  e a amostra foi agitada em vórtex (1 min) e centrifugada (6000 rpm, 5 min) à temperatura ambiente. Uma alíquota (1 mL) do sobrenadante foi transferida para um tubo de polipropileno (15 mL) contendo  $\text{MgSO}_4$  (150 mg) e PSA (50 mg). O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e centrifugado (5000 rpm, 2 min) à temperatura ambiente. O extrato foi filtrado com filtro de seringa de nylon de  $0,22 \mu\text{m}$ .

Para extração segundo QuEChERS citrato, seguiu-se o seguinte procedimento: 10 g de polpa de pitaya foi transferida para um tubo de polipropileno (50 mL) e foi adicionado 10 mL de acetonitrila. O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e, em seguida, 1 g de NaCl, 1 g de  $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,5 g de  $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  e 4 g de  $\text{MgSO}_4$  foram adicionados para a etapa de partição. A amostra foi agitada em vórtex (1 min) e centrifugada (6000 rpm, 5 min) à temperatura ambiente. Uma alíquota (1 mL) do sobrenadante foi transferida para um tubo de polipropileno (15 mL) contendo 150 mg de  $\text{MgSO}_4$  e 50 mg de PSA. O tubo foi agitado em vórtex (1 min) e centrifugado (5000 rpm, 2 min) à temperatura ambiente. O extrato foi filtrado com filtro de seringa de nylon de  $0,22 \mu\text{m}$ .

#### 4.7.2 Avaliação da Presença de Coextrativos no Extrato da Matriz

Inicialmente 15 sorventes foram testados a fim de avaliar visualmente a remoção dos pigmentos presentes nos extratos de pitaya. Para realização desta etapa seguiu-se o procedimento descrito pelo método QuEChERS original, alterando apenas o sorvente na etapa de limpeza. Na Tabela 10 estão apresentados os 15 sorventes avaliados.

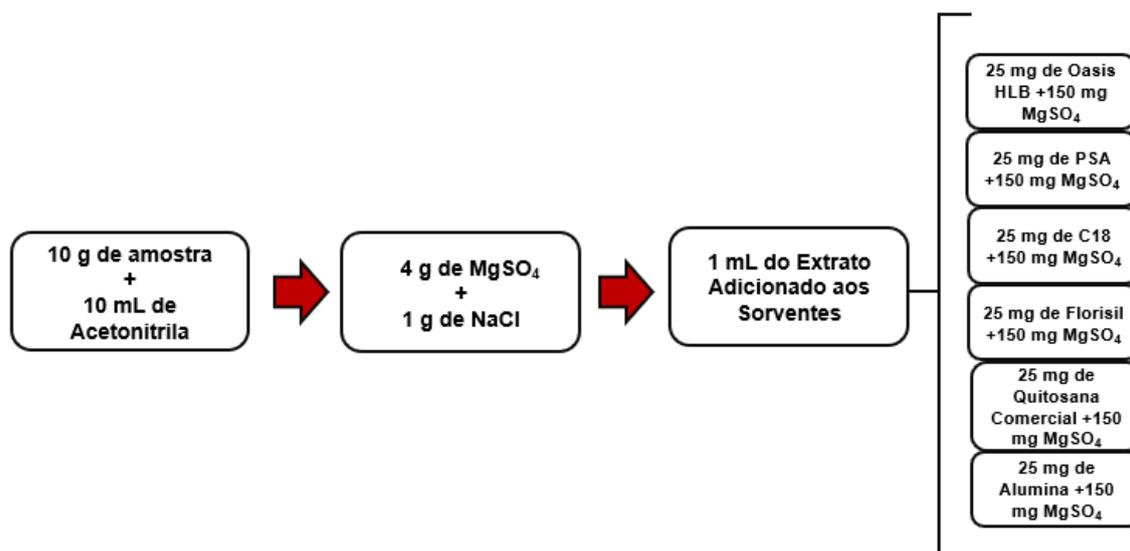
**Tabela 10.** Identificação dos sorventes

Número do Vial	Nome do Sorvente	Número do Vial	Nome do Sorvente
1	Sem <i>Clean Up</i>	9	Terra de Diatomácea
2	Carvão Ativado	10	Florisil
3	Strata X	11	Quitosana Comercial
4	Oasis HLB	12	Quitosana FURG
5	GCB	13	Sílica
6	PSA	14	Alumina
7	C18	15	Poliamino
8	Z-sep+	16	Zeólita

**Fonte:** Autor

Após análise visual, 6 sorventes dentre os 15 foram escolhidos para serem avaliados quantitativamente, em termos de recuperações dos compostos em estudo. O preparo de amostra seguiu o método QuEChERS original e as fortificações foram realizadas na concentração de 25  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Na figura 8 está ilustrado o procedimento de extração de polpa de pitaya com os diferentes sorventes.

**Figura 8.** Procedimento de extração com diferentes sorventes de limpeza utilizados na etapa de *clean up* para avaliação dos compostos em estudo no nível de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$

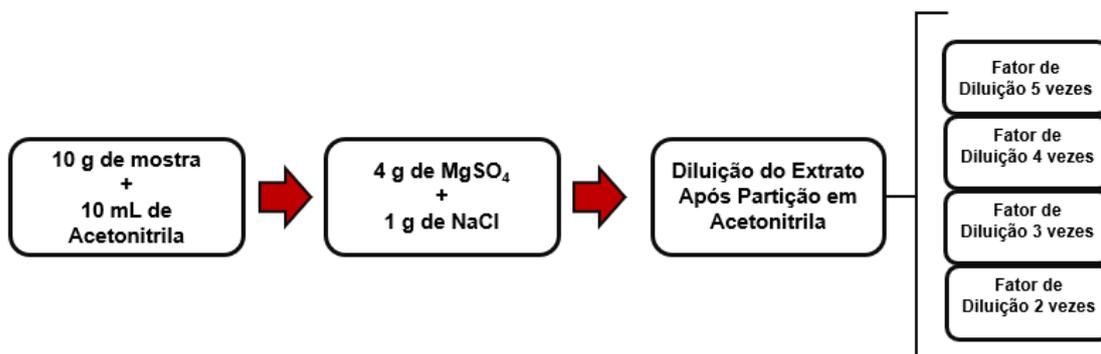


Fonte: Autor.

#### 4.7.3 Avaliação da Recuperação dos Compostos Após Etapa de Diluição (sem d-SPE)

Outra variação do método QuEChERS testado foi sem a etapa de d-SPE, o extrato obtido após extração e partição foi diluído em acetonitrila em diferentes proporções. A fase orgânica foi separada e diluída em ACN completando volume final de 1 mL. Para isso, as fortificações (antes da extração) foram feitas de acordo com o fator de diluição, levando em conta que a concentração que deve chegar no equipamento é de  $25 \mu\text{g L}^{-1}$ . ( $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ ,  $75 \mu\text{g kg}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{g kg}^{-1}$  e  $125 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Desta forma o extrato foi diluído 2, 3, 4 e 5 vezes e a recuperação dos compostos foi avaliada. Na Figura 9 está ilustrado o processo de extração sem a etapa de *clean up*.

**Figura 9.** Procedimento de extração com diferentes fatores de diluição após etapa de partição.



**Fonte:** Autor.

Posteriormente, novos testes foram realizados com as diluições de 3 e 4 vezes, a fim de observar se o comportamento das recuperações iria se manter, bem como calcular efeito matriz através das curvas analíticas (curva na matriz e no solvente), onde o ângulo das retas foi comparado. As curvas foram produzidas observando as diluições finais em ACN.

#### 4.7.4 Avaliação Visual da Mudança de pH no Extrato de Pitaya e Avaliação da Limpeza dos Extratos por UV-Vis e Modo *Full Scan* em GC-MS/MS

Após a etapa de partição, o extrato da polpa de pitaya rosa foi submetido a ajuste de pH, a fim de observar a mudança da cor dos extratos. O ajuste de pH foi realizado com solução de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 10% e  $\text{NaOH}$  a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em 1, 3, 5, 7, 9 e 12 para verificar possíveis mudanças no aspecto visual do extrato oriundo da etapa de extração. Foram adicionadas algumas gotas das soluções de ajuste de pH (suficiente para atingir o valor de pH desejado), as amostras foram agitadas manualmente e a leitura foi realizada com fita de pH. Em paralelo, o extrato de partição foi submetido ao *clean up* com 25 mg de PSA e outra extração com 25 mg de quitosana e 150 mg de  $\text{MgSO}_4$  em duas extrações diferentes, e seu pH foi ajustado em 1, 3, 5, 7, 9 e 12 com as soluções de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 10% e  $\text{NaOH}$  a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , para comparar a diferença entre os extratos finais.

A fim de confirmar a limpeza dos extratos ocasionada pela etapa de *clean up*, as amostras após *clean up* com PSA e quitosana e amostra sem limpeza foram

avaliadas em um espectrofotômetro de UV-Vis. Foram realizadas varreduras nos comprimentos de onda do ultravioleta e do visível de 200 a 800 nm, para observar onde haveria menor absorção de radiação eletromagnética, devido a menor concentração de coextrativos presentes nos extratos. O equipamento foi zerado com acetonitrila e a varredura foi realizada com uma alíquota de cada amostra, utilizando cubetas de quartzo para a análise.

Os extratos sem limpeza e com limpeza empregando PSA e quitosana após extração com método QuEChERS original também foram avaliados após injeção no sistema GC-MS/MS em modo varredura (40 a 500 m/z) para verificação da presença dos interferentes da matriz pitaya. Ambos os extratos foram filtrados utilizando filtros de seringa de nylon 0,22 um antes da injeção no GC-MS/MS.

#### **4.8 Validação do método de preparo de amostra empregando QuEChERS para determinação de resíduos de agrotóxicos em pitaya**

A validação de um método tem como finalidade demonstrar a confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos. Esse processo engloba conjuntos de experimentos planejados para caracterizar a metodologia desenvolvida (ZANELLA *et al.*, 2015). Para orientar e regulamentar a validação dos métodos analíticos, existem diversas normas nacionais e internacionais. Os parâmetros de validação avaliados foram: linearidade, seletividade, exatidão, precisão, efeito matriz, limite de detecção e quantificação. No contexto brasileiro, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) e o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) são alguns dos órgãos oficiais encarregados de conceder credenciamento a laboratórios de ensaios. A ANVISA, através da Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 estabelece critérios para a validação de métodos analíticos (BRASIL, 2017). Na Tabela 11 estão listados os parâmetros de validação e seus critérios de aceitação.

**Tabela 11.** Parâmetros de validação do método e seus critérios de aceitação

Parâmetro	Aplicação	Critério
Seletividade	Extração da matriz (branco) e Branco reagente Branco fortificado	Ausência de picos interferentes nos tempos de retenção dos analitos
Linearidade	Curva analítica ( $y = ax + b$ ) Em 7 níveis de concentração 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ .	$r^2 \geq 0,990$
Efeito Matriz	Comparação das respostas das curvas de calibração no solvente e na matriz (extrato branco de Pitaya)	$\pm 20\%$
Precisão	Repetibilidade 7 replicatas e precisão intermediária em dois dias diferentes 6 replicatas	RSD $\leq 20\%$
Exatidão	Ensaio de fortificação em 4 níveis de fortificação: 5, 10, 25 e 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ dia 1 n = 7 e dia 2 n = 6	70 a 120%
Limite de Detecção (LOD)	LOQ/3,33	-
Limite de Quantificação (LOQ)	LOQ o menor nível de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) que obteve sinal/ruído $>10$ e no qual a precisão e exatidão dos compostos em estudo encontram-se dentro dos níveis aceitáveis de recuperação e RSD	-

**Fonte:** INMETRO (2020); ANVISA (2017); SANTE (2021).

## 5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 5.1 Condições do Sistema Cromatográfico GC-MS/MS

Os parâmetros utilizados, como tempo de retenção, transições iônicas e energia de colisão, para a determinação dos agrotóxicos que foram validados no estudo empregando sistema GC-MS/MS estão descritos na tabela 12. As condições selecionadas foram as sugeridas pelo equipamento.

**Tabela 12.** Tempo de Retenção (TR), Transições Iônicas e Energia de Colisão (EC, eV) dos Compostos analisados e Padrão de Controle.

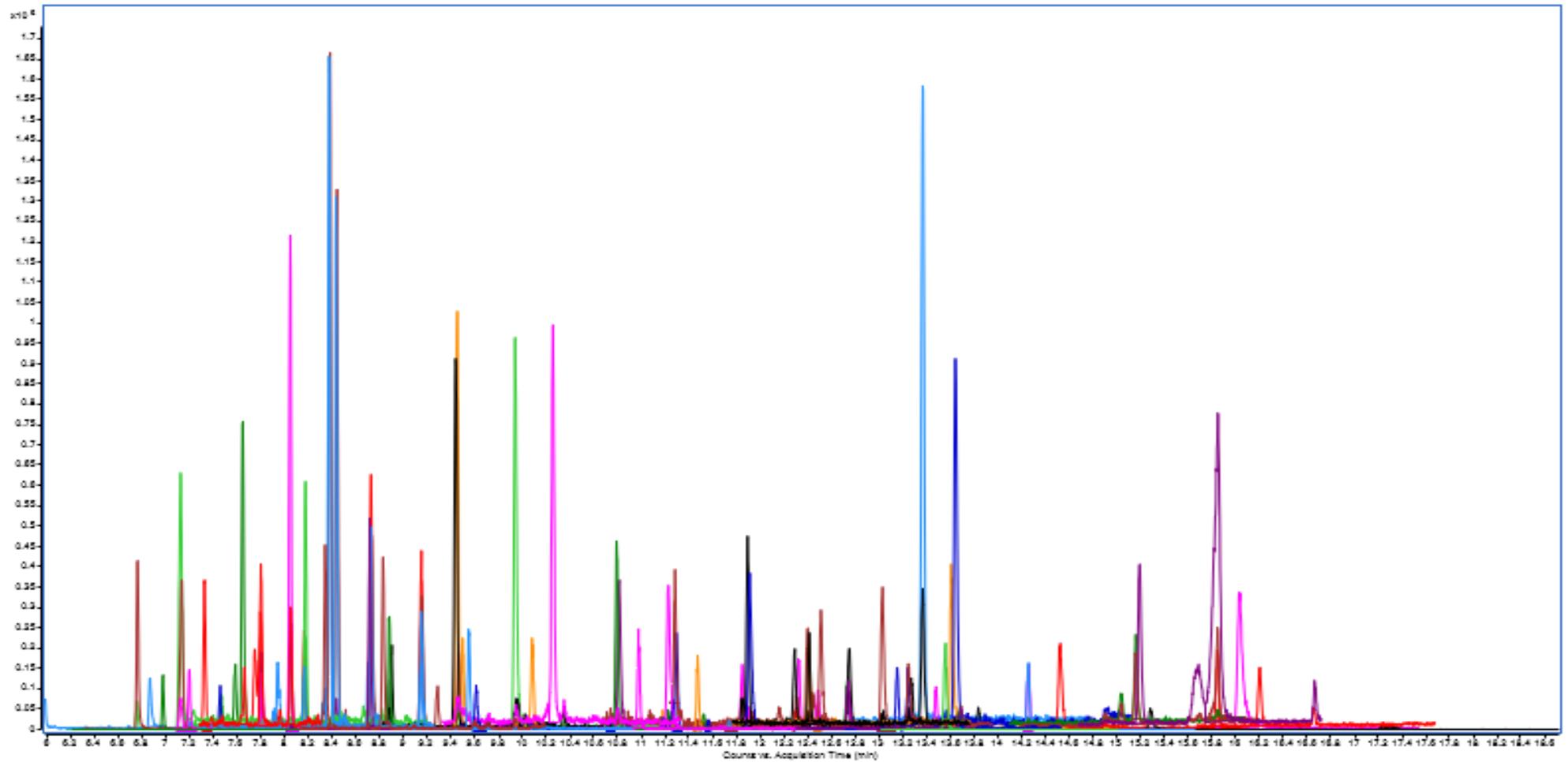
N°	Composto	TR	1°Transição Quantificação Íon Precursor	EC (eV)	2°Transição Confirmação Íon Produto	EC (eV)
1	Alacloro	8,85	188,1 → 160,1	10	160,1→132,1	15
2	Aldrin	9,48	254,9 → 220,0	20	262,9→192,9	35
3	Atrazina	7,62	214,9 → 58,1	10	214,9→200,2	5
4	Atrazina d5	7,58	205,0 →105,0	15	205,0→ 127,0	10
5	Azoxistrobina	17,8	344,1 →182,9	25	344,1 → 156	35
6	Benalaxil	12,3 3	148,0 →105,1	20	266→148,1	5
7	BHC-alfa	7,35	180,9 → 145,0	15	216,9→181	5
8	BHC-gama	7,82	181,0 → 145,0	15	218,9→183,1	5
9	BHC- Beta	7,82	181,0 → 145,0	15	218,9→183,1	5
10	Bifentrina	13,3 7	181,2 → 166,2	10	181,2→165,2	25
11	Boscalid	16,0 5	140,0 → 112,0	10	140→76,0	25
12	Bromopropilato	13,3 8	183,0 → 155,0	15	185→157,0	15
13	Bupirimato	11,3 1	272,9 → 193,1	5	272,9→108,0	15
14	Buprofezina	11,2 7	104,0 → 77,0	10	104→51,0	35
15	Cadusafos	7,14	158,8 → 131,0	5	158,8→97,0	15
16	Carbofenotiona	12,3 1	153,0 → 96,9	10	342→157,0	10
17	Clorfenapir	11,5 4	137,0 → 102,0	15	247,1→227,1	20
18	Clorprofam	6,91	127,0 → 65,1	25	153→125,1	10
19	Clorpirifós	9,52	196,9 → 169,0	15	198,9→171,0	15
20	clorpirifos-metil	8,19	124,9 → 47,0	15	78,9→47,0	10
21	Clomazona	7,67	125,0 → 89,0	15	125→99,0	15
22	Clflutrina	15,7 7	162,9 -> 90,9	15	162,9 → 1270	5

23	Ciprodinil	9,96	225,2 → 224,3	10	224,2 → 208,2	20
24	DDT-o,p'	11,8 7	235,0 → 165,2	20	237 → 165,2	20
25	DDT-p,p'	12,5	235,0 → 165,2	20	237 → 165,2	20
26	Dicloran	7,58	206.1 -> 176.0	10	160,1 → 124,1	10
27	Diclorvos	4,63	109.0 -> 79.0	5	184,9 → 93	10
28	Dieldrin	11,1 9	262,9 → 193,0	35	277 → 241,0	5
29	Difenoconazol I+II	17,2 5	266,9 → 138,9	45	322,8 → 201,9	40
30	Dissulfóton	8,08	88,0 → 60,0	5	142 → 109,0	5
31	endosulfan alfa	10,7 5	194,9 → 159,0	5	194,9 → 160,0	5
32	endosulfan beta	11,7 5	194,9 → 158,9	10	206,9 → 172,0	15
33	Endosulfan sulfato	14,2 6	271,9 → 237,0	20	273,8 → 236,9	15
34	Endrin	11,5 8	262,8 → 193,0	35	244,8 → 173,0	30
35	Epoxiconazol	13,0 5	192,0 → 138,1	10	165 → 138,0	10
36	Esfenvalerato	10,0 9	225.0 -> 147.1	10	225 → 119,1	10
37	Etiona	12,3 1	152,9 → 96,9	10	124,9 → 96,9	0
38	Etofenprox	16,2 2	163,0 → 135,1	10	163 → 107,1	20
39	Etoprofos	6,78	157,9 → 114,0	5	157,9 → 97,0	15
40	Etrinfos	8,19	181,1 → 153,1	10	292,1 → 181,1	5
41	Fenamidona	13,6 2	238,0 → 237,2	10	268 → 180,2	20
42	Fenarimol	14,5 4	219,0 → 107,1	10	139 → 75,0	30
43	Fenazaquina	13,6 6	145,0 → 117,1	10	160 → 145,2	5
44	Fentiona	10,5 7	124.9 -> 47.0	10	124,9 → 79	5
45	Fenvalerato	17,0 9	167.0 -> 125.1	5	181 → 152,1	20
46	Fenepropimorfe	9,47	128,1 → 70,1	10	128,1 → 110,1	5
47	Fipronil	10,2 4	366,8 → 212,8	25	350,8 → 254,8	15
48	Fluazifop-p-butil	11,4 9	281,9 → 91,0	15	281,9 → 238,0	15
49	Fluquinconazol	15,3 0	108,0 → 57,0	15	340 → 298,0	15
50	Flusilazol	11,2 9	233,0 → 165,1	15	314,7 → 232,9	10
51	Flutriafol	10,8 4	123,1 → 95,0	15	123,1 → 75,1	25
52	Heptacoloro	8,91	271,7 → 236,9	15	273,7 → 238,9	15
53	Hexaclorobenzeno	7,47	283,8 → 248,8	15	283,8 → 213,9	30
54	Hexaconazol	10,2 4	175.0 -> 111.0	20	175 → 147	10
55	cresoxim-metil	12,4 3	116,0 → 89,0	15	116 → 63,0	30
56	Malationa	9,33	126.9 -> 99.0	5	157,8 → 125	5

57	Metconazol	12,7 6	125,0 → 89,0	20	125→99,0	20
58	Metidation	10,5 6	144.9 -> 85.0	5	144,9→58,1	15
59	Metiocarbe	8,19	168,0 → 153,1	10	169→154,1	10
60	Metoxicloro	13,4 9	227,0 → 169,1	25	227→212,1	15
61	Metolacloro	9,45	162,2 → 133,2	15	238→162,2	10
62	Mirex	14,2 6	271,8 → 236,8	20	236,9→118,9	30
63	Miclobutanil	11,2 6	179,0 → 125,1	10	150→123,0	15
64	Nuarimol	12,7 7	139,0 → 111,0	15	203→107,0	10
65	Oxadixil	11,9 3	163,0 → 132,1	5	132→117,1	15
66	Paration-metil	8,19	125,0 → 47,0	10	125→79,0	5
67	Penconazol	10,1 0	248,0 → 192,1	15	248→157,1	25
68	Forato	7,22	121,0 → 65,0	10	128,9→65	15
69	Picoxistrobina	10,8 1	145,0 → 102,1	25	145→115,1	15
70	Pirimicarbe	8,37	238,0 → 166,2	10	166→55,1	20
71	pirimifos-metil	9,17	232,9 → 151,0	5	290→125	20
72	Prometrina	8,90	226,0 → 184,2	10	241→184,2	10
73	Propiconazol I+II	12,5 3	172,9 → 145,0	15	172,9→109,0	30
74	Protiofós	11,0 0	113,0 → 94,9	10	266,9→239,0	5
75	Pirazófos	14,5 9	221,0 → 193,1	10	232→204,1	10
76	Piridabeno	15,2 1	147,2 → 117,1	20	147,2→132,2	10
77	Pirimetanil	7,98	198,0 → 183,1	15	198→158,1	20
78	Quinalfos	10,2 7	146,0 → 118,0	10	146→91,0	30
79	Espiromesifen	13,1 6	272,0 → 254,2	5	272→209,2	10
80	Tebuconazol	12,7 6	125,0 → 89,0	15	125→99,0	20
81	Tebufenpirade	13,5 7	275,9 → 171,1	10	332,9→171,0	15
82	Teflutrina	8,06	177,1 → 127,1	15	177,1→87,0	30
83	Terbufos	7,82	152,9 → 97,0	5	230,9→129,0	20
84	Tetraconazol	9,65	170,9 → 136,0	10	336→217,9	20
85	Tetrametrina	13,4 2	164.0 -> 107.1	10	164→135,1	10
86	Transflutrina	8,73	163,1 → 91,1	10	163,1→143,1	20
87	Triadimefon	9,57	208,0 → 181,1	5	128→65,0	20
88	Triazofos	12,1 6	161,2 → 134,2	5	161,2→106,1	10
89	Trifloxistrobina	12,4 3	116,0 → 89,0	15	116→63,0	30
90	Trifluralina	6,98	306,1 → 264,0	5	264→206,0	5
91	Vinclozolina	8,74	187,0 → 124,0	20	197,9→145,0	15

Na Figura 10 está apresentado o cromatograma de íons totais (TIC, do inglês *total ion chromatogram*). Esse cromatograma foi obtido de uma solução padrão preparada em extrato branco de pitaya, na concentração de  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ , contendo todos os agrotóxicos validados neste estudo.

**Figura 10.** Cromatograma de íons totais obtido por GC-MS/MS a partir de uma solução padrão  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  preparada na matriz de pitaya.



Fonte: Autor

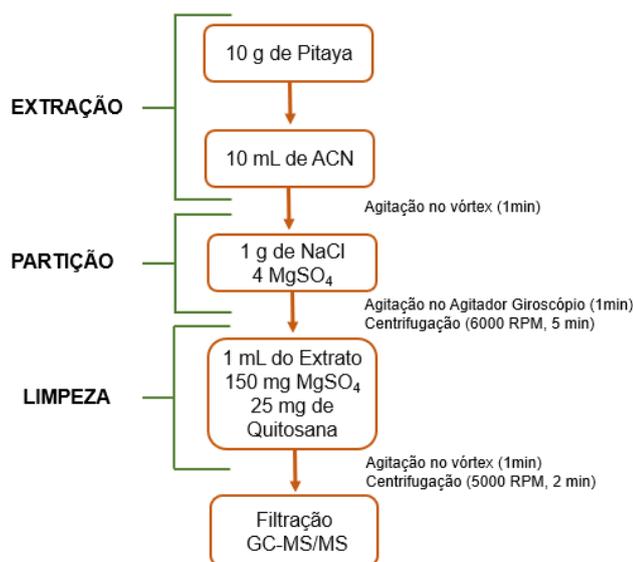
O sistema cromatográfico (GC) possibilitou a separação dos compostos, enquanto a espectrometria de massas em série (MS/MS) identificou e quantificou compostos. O tempo total de análise foi de 20,75 min para cada corrida cromatográfica.

## 5.2 Preparo de Amostra

### 5.2.1 Testes Iniciais de Preparo de Amostra

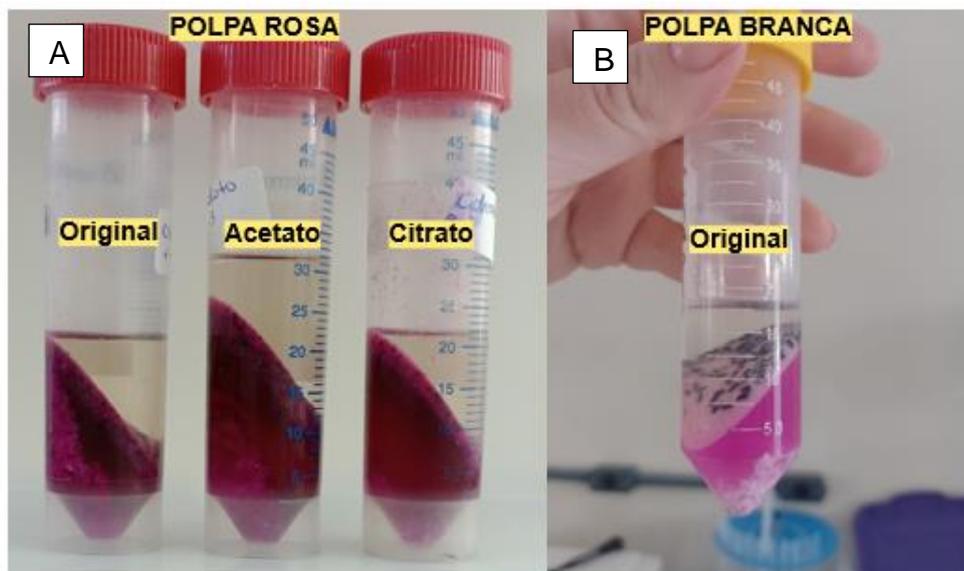
Na Figura 11 está apresentado o método de preparo de amostra validado. Na Figura 12 está ilustrada a extração com as três variações do método após a etapa de extração e partição para a polpa de pitaya rosa; (a) para o processo de extração da pitaya de polpa branca foi registrado apenas o método original. (b) devido à falta de amostras de pitaya de polpa branca, a metodologia foi validada para pitaya de polpa rosa e ter sido aplicada em polpa branca. Pode ser observado que já na etapa de extração e partição o extrato possui pouca coloração, onde os principais pigmentos da pitaya que conferem a coloração rosa estão na fração aquosa do extrato.

**Figura 11.** Método de preparo de amostra validado no presente estudo.



Fonte: Autor.

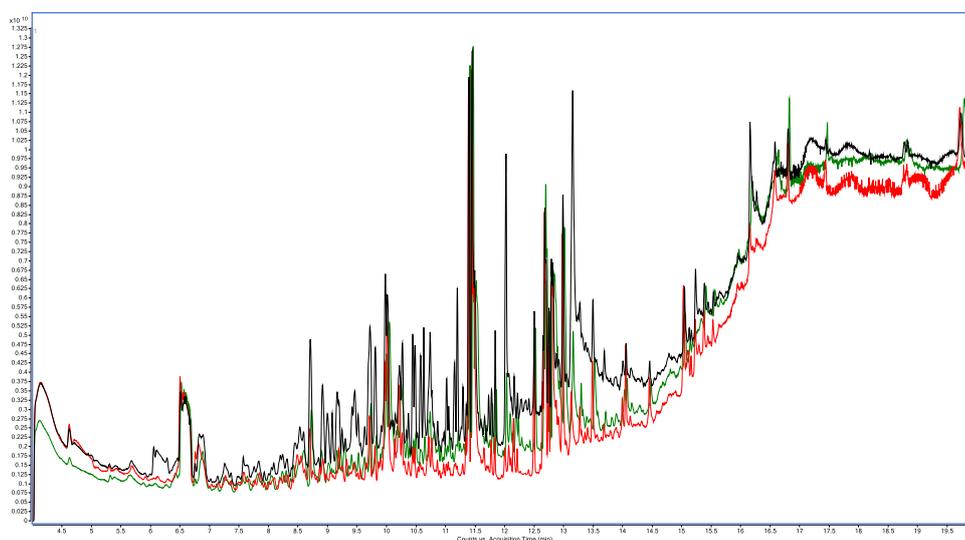
**Figura 12.** Extração utilizando as três versões do método QuEChERS para matriz polpa de pitaya rosa(a) e original para polpa de pitaya branca (a).



Fonte: Autor

Para avaliar a eficiência da limpeza dos extratos de cada variação do método QuEChERS foram realizadas análises em modo Varredura. Nesse modo é possível verificar todas as razões massa/carga presentes nas amostras podendo-se identificar a presença de interferentes. Na Figura 13 estão ilustrados os cromatogramas que foram obtidos com diferentes métodos, a sobreposição permite observar onde há maior presença de coextrativos.

**Figura 13.** Cromatogramas sobrepostos de brancos em modo *Full Scan*, acetato (cromatograma preto), citrato (cromatograma vermelho), original (cromatograma verde).

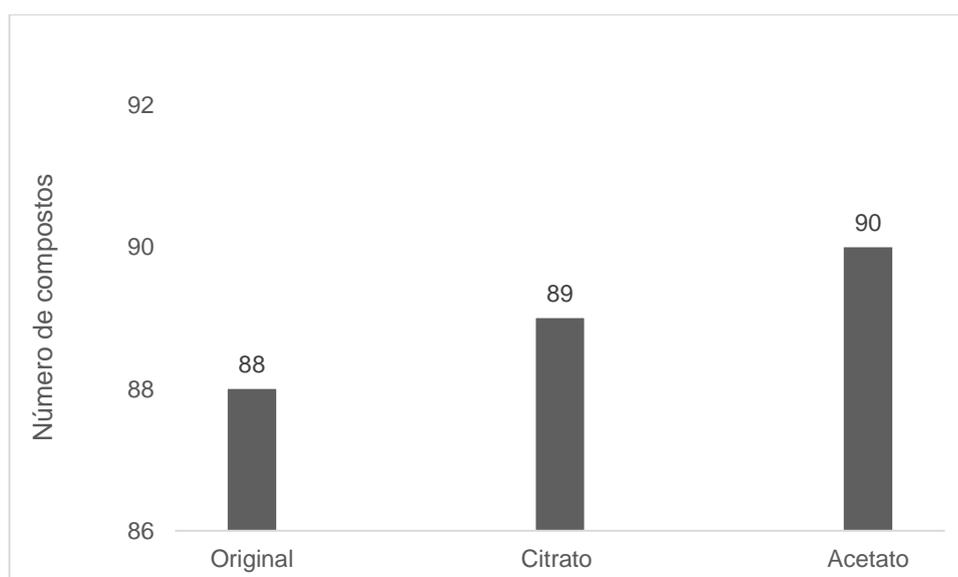


Fonte: Autor.

No Gráfico 1, estão apresentados o número de compostos recuperados para as fortificações de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  em 3 replicatas observando  $\text{RSD} \leq 20\%$  em cada variação do método QuEChERS. Para o método original observa-se que 3 compostos não foram recuperados, sendo eles o esfevalerate (recuperação de 136%,  $\text{RSD} = 11\%$ ), o fevalerate (recuperação de 142%  $\text{RSD} = 14$ ) e o flutriafol (recuperação de 124%,  $\text{RSD} = 7$ ). No método citrato observou-se que o flutriafol teve recuperação inadequada (recuperação de 129%  $\text{RSD} = 275\%$ ). Para o método acetato apenas 1 composto apresentou  $\text{RSD}$  inadequado, o flutriafol (recuperação de 109%  $\text{RSD} = 27\%$ ).

O pH da polpa da pitaya rosa segundo CORDEIRO *et al.*, 2015 é de 5,32. Considera-se que no método QuEChERS original, que utiliza de acetonitrila pura como solvente de extração sem etapa de tamponamento apresentará pH da extração final muito próxima ao valor do pH no extrato inicial. O QuEChERS citrato possui o pH de tamponamento entre 5,0 e 5,5 na etapa de partição (ANASTASSIADES *et al.*, 2007). O QuEChERS acetato por sua vez utiliza acetonitrila acidificada com ácido acético para a extração, sendo que o efeito de tamponamento irá ocorrer na etapa de partição com a adição do acetato de sódio. O pH desse processo estará próximo a 4,8 (LEHOTAY *et al.*, 2005).

**Gráfico 1.** Recuperação entre 70 – 120% dos compostos nas três variações do método QuEChERS com fortificações no nível de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  com  $\text{RSD} \leq 20\%$ .



Fonte: Autor

Contudo, a diferença do número de compostos obtidos com recuperação e RSD aceitáveis é muito pequena e o método QuEChERS original também pode ser considerado eficiente. O método QuEChERS acetato além de ser mais custoso que o original demanda mais tempo do analista, assim como o citrato. Devido ao pH do extrato após partição ser modernamente ácido não se faz necessário o tamponamento do meio. Dessa forma foi escolhido o método original para dar sequência no trabalho, onde o número de compostos recuperados foi aproximado entre as três versões do método.

### 5.2.2 Avaliação da Presença de Coextrativos no Extrato da Matriz

Diferentes sorventes de limpeza foram selecionados para que sua capacidade de limpeza fosse avaliada. Para a escolha desses sorventes foi observada a disponibilidade de materiais no LARP e outros trabalhos já realizados utilizando de diferentes sorventes. Como no trabalho descrito por AMARAL *et al.*, (2023) que utilizou de Alumina, C18, Florisil, Oasis HLB, Quitosana (casca de camarão e caranguejo), Strata-X e Poliamino para avaliar a recuperação de agrotóxicos em amostras de batatas. Em seu trabalho o autor apresenta que todos os sorventes citados acima recuperaram mais de 60 agrotóxicos com recuperações entre 70-120% e  $RSD \leq 20\%$ .

Na tabela 13 estão apresentados os sorventes utilizados para essa etapa do trabalho. Observando a Figura 14 percebe-se que não houve grande diferença na tonalidade da coloração das amostras. Contudo, pode-se observar durante o experimento que 6 sorventes removeram por completa a coloração do extrato. A partir disso, estes foram escolhidos para serem avaliados quantitativamente por análise em modo de varredura (*full scan*) e quantitativamente em termos de recuperação dos compostos de estudo no nível  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  por GC-MS/MS.

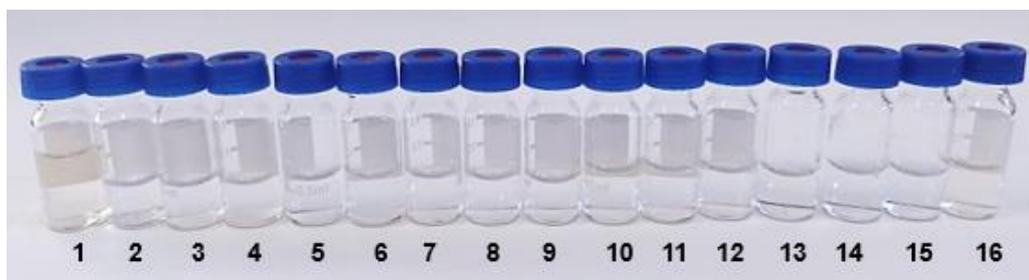
**Tabela 13.** Identificação dos sorventes

Número do Vial	Nome do Sorvente	Número do Vial	Nome do Sorvente
1	Sem <i>Clean Up</i>	9	Terra de Diatomácea
2	Carvão Ativado	10	Florisil
3	Strata X	11	Quitosana Comercial
4	Oasis HLB	12	Quitosana FURG
5	GCB	13	Sílica

6	PSA	14	Alumina
7	C18	15	Poliamino
8	Z-sep+	16	Zeólita

Fonte: Autor

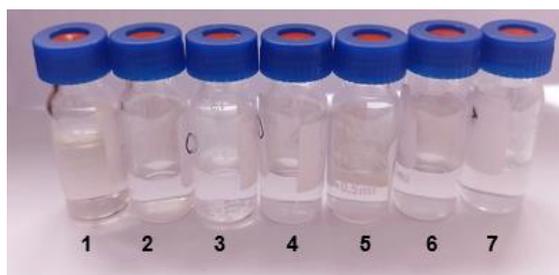
**Figura 14.** Pigmento dos extratos de pitaya para os diferentes sorventes de limpeza.



Fonte: Autor

Os sorventes que apresentaram remoção total da coloração do extrato foram, Oasis HLB, PSA, C18, Florisil, Quitosana comercial e Alumina. Na Figura 14, o vial enumerado 1 é o extrato da amostra sem a etapa de limpeza, os demais seguem a seguinte enumeração: 2 (Oasis HLB); 3 (PSA); 4 (C18); 5 (Florisil); 6 (Quitosana comercial); 7 (Alumina). Outro fator que influenciou na escolha destes sorventes foi a utilização deles como sorventes de limpeza relatada por outros autores. BOTERO-COY *et al.*, 2015 utilizou C18 como sorvente de limpeza para remoção de agrotóxicos em amostras de pitaya. CABRERA *et al.*, (2016) relata a utilização de florisil, quitosana e alumina na etapa de limpeza de extratos de arroz, onde foram avaliados 21 agrotóxicos. Dentre esses 3 sorventes que os autores utilizaram a quitosana foi a que apresentou maior número de compostos recuperados (recuperação entre 70 -120%), sendo 18 agrotóxicos, a alumina proporcionou a recuperação de 17, e o florisil 16. A Figura 15 apresenta 7 vials sendo que o número 1 é o extrato sem *clean-up*, 2-Oasis HLB, 3-PSA, 4-C18, 5 Florisil, 6-Quitosana e 7-Alumina.

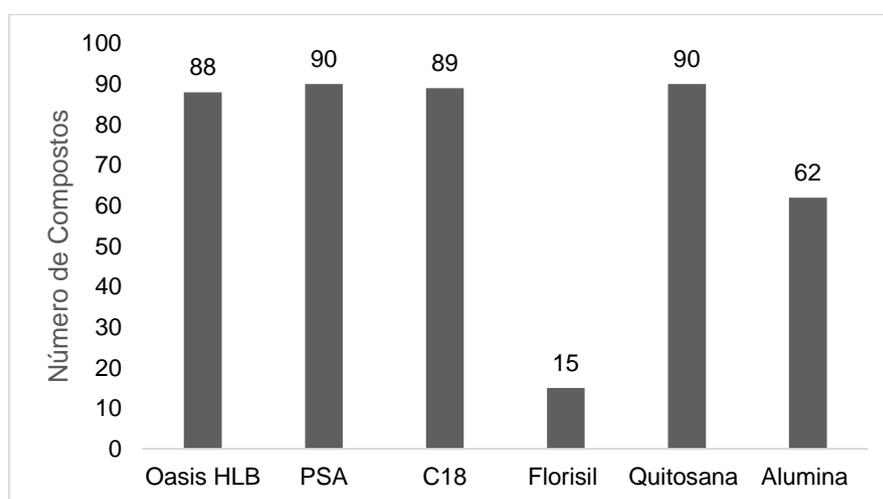
**Figura 15** Melhores condições de limpeza visual após etapa de *clean up* com diferentes sorventes.



Fonte: Autor.

Os 6 sorventes que apresentaram extrato de pitaya rosa incolor foram testados quantitativamente e a recuperação dos compostos foi avaliada no nível de fortificação  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$  ( $n=3$ ). No Gráfico 2 está ilustrado o número de compostos recuperados em cada variação do método, tendo como critério de aceitação valores de recuperação 70% a 120% e  $\text{RSD} \leq 20\%$ . Os sorventes que apresentaram melhores recuperações, em ordem decrescente, foram a Quitosana, PSA, C18, Oasis HLB, alumina e florisil. A alumina e especialmente o Florisil não forneceram resultados promissores.

**Gráfico 2.** Número de compostos recuperados com diferentes sorventes de limpeza.



**Fonte:** Autor.

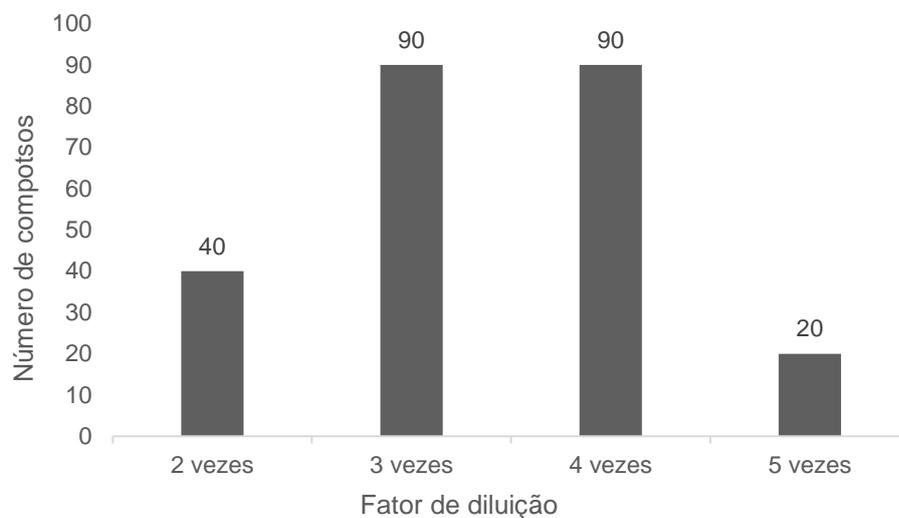
Além da quitosana ser considerada um bio-sorvente, existem poucos trabalhos que a utilizam como sorvente de limpeza para análise de resíduos de agrotóxicos em amostras alimentícias. Além disso, é importante ressaltar que não foi encontrado nenhum trabalho que utiliza quitosona como sorvente de limpeza para extratos de polpa de pitaya em bases de dados consultadas. Considerando as recuperações e a avaliação qualitativa a quitosana foi utilizada como sorvente de limpeza para a validação do método analítico.

### 5.2.3 Avaliação da Recuperação dos Compostos Após Etapa de Diluição (sem d-SPE)

Como forma de minimizar os custos do método QuEChERS bem como reduzir o tempo de preparo de amostra, avaliou-se a possibilidade de incluir a técnica *Dilute and Shoot* – DnS após a etapa de extração do método QuEChERS. A utilização dessa técnica possibilita a eliminação da etapa de limpeza. Essa técnica ganhou muita força nos últimos anos tem sido utilizada em diversos tipos de análises, como métodos multiresíduos. No entanto, para amostras sólidas, uma etapa de extração deve ser realizada antes do DnS (GREER *et al.*, 2021). O procedimento é baseado na diluição de uma amostra líquida em solvente apropriado. O principal objetivo do DnS é reduzir a concentração de componentes presentes na matriz, o que pode interferir na análise (PRATA. R. *et al.*, 2021).

A partir dos preceitos citados acima e do autor DOS REIS, *et al.*, 2022, a técnica de Dns após extração e partição baseada em QuEChERS original com diluição do extrato pode-se obter resultados satisfatórios de recuperação. O autor obteve 99 agrotóxicos com recuperação entre 70 e 120% e RSD  $\leq$  20% diluindo o extrato de abobrinha 5x em água antes da injeção em sistema UHPLC-MS/MS.

Esta técnica de Dns foi aplicada no presente trabalho como forma de avaliar se resultados promissores seriam observados para os 91 compostos em estudo. Na diluição de 5 vezes apenas 20 compostos apresentaram recuperações entre 70 e 120%, para diluição 4 vezes 90 compostos apresentaram recuperações dentro da faixa aceitável, para diluição de 3 vezes 90 compostos apresentaram recuperações dentro da faixa aceitável e para a diluição de 2 vezes apenas 40 compostos recuperaram entre 70 e 120%. No Gráfico 3 estão apresentadas as recuperações dos compostos, de 70 a 120% no nível de 25  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

**Gráfico 3.** Recuperação dos compostos no nível de 25 µg L<sup>-1</sup> sem etapa de d-SPE.

**Fonte:** Autor.

A partir desses resultados, novos experimentos foram realizados para avaliar a linearidade e efeito matriz desses compostos. O efeito matriz foi calculado como descrito na equação 3. Na Tabela 14 estão apresentados os resultados da linearidade e efeito matriz (EM) dos compostos em estudo.

**Tabela 14.** Linearidade e efeito Matriz 2 e 3 vezes.

	Compostos	Linearidade (r <sup>2</sup> ) 2 vezes	EM	Linearidade (r <sup>2</sup> ) 3 vezes	EM
1	Alacloro	0,996	-29	0,999	-5
2	Aldrin	0,993	-25	0,998	-2
3	Atrazina	0,996	-31	0,998	-7
4	Atrazina-d5	0,996	-27	0,999	-2
5	Azoxistrobina	0,995	-45	0,996	-22
6	Benalaxil	0,996	-28	0,999	-4
7	BHC-alfa	0,997	-27	0,998	-4
8	BHC-beta + gama	0,997	-26	0,998	-3
9	Bifentrina	0,995	-27	0,999	-2
10	Boscalid	0,997	-37	1,000	-14
11	Bromopropilato	0,994	-27	1,000	-5
12	Bupirimato	0,995	-27	0,999	0
13	Buprofezina	0,997	-27	0,998	0
14	Cadusafos	0,996	-23	1,000	4
15	Carbofenotion	0,997	-30	0,998	-3
16	Clorfenapir	0,995	-28	0,998	-2
17	Clorprofam	0,996	-29	0,996	-2
18	Clorpirifós	0,997	-32	0,999	-8
19	Clorpirifos-metil	0,996	-31	0,999	-5

20	Clomazona	0,996	-24	0,998	2
21	Ciflutrina	0,997	-56	0,997	-35
22	Ciprodinil	0,996	-13	0,999	18
23	DDT-o,p'	0,995	-40	0,999	-22
24	DDT-p,p'	0,996	-32	1,000	-11
25	Dicloran	0,994	-30	0,997	-11
26	Diclorvos	0,997	-33	0,994	-14
27	Dieldrin	0,991	-25	0,997	-3
28	Difenoconazol	0,996	-37	0,999	-13
29	Dissulfoton	0,996	-33	0,998	-7
30	Endosulfan alfa	0,992	-25	0,998	-5
31	Endossulfan beta	0,996	-32	0,999	-8
32	Endosulfan sulfato	0,995	-23	1,000	0
33	Endrin	0,994	-20	0,996	10
34	Epoxiconazol	0,994	-43	1,000	-25
35	Esfenvalerato	0,996	-59	1,000	-41
36	Etion	0,997	-30	0,998	-3
37	Etofenprox	0,997	-40	1,000	-17
38	Etoprofos	0,995	-31	1,000	-7
39	Etrimfos	0,997	-36	0,998	-12
40	Fenamidona	0,997	-25	0,999	5
41	Fenarimol	0,997	-33	1,000	-11
42	Fenazaquina	0,997	-28	0,997	0
43	Fenpropimorf	0,996	-33	0,998	-7
44	Fentiona	0,996	-39	0,998	-16
45	Fenvalerato	0,997	-57	0,999	-38
46	Fipronil	0,996	-22	0,999	11
47	Fluazifop-p-butil	0,996	-30	0,999	-4
48	Fluquinconazol	0,996	-37	0,999	-16
49	Flusilazol	0,993	-31	0,998	-8
50	Flutriafol	0,995	-27	0,999	0
51	Heptacloro	0,997	-18	0,997	10
52	Hexaclorobenzeno	0,997	-21	0,998	2
53	Hexaconazol	0,997	-23	0,989	8
54	Cresoxim-metil	0,997	-27	0,998	2
55	Malationa	0,971	-67	0,322	-61
56	Metconazol	0,997	-29	0,998	1
57	Metidation	0,997	-38	0,998	-14
58	Metiocarbe	0,995	-34	0,998	-9
59	Metoxicloro, p,p'-	0,997	-37	0,998	-13
60	Metolacloro	0,996	-30	0,999	-5
61	Mirex	0,995	-23	1,000	0
62	Miclobutanil	0,996	-29	0,999	-3
63	Nuarimol	0,995	-13	0,999	14
64	Oxadixil	0,996	-30	0,998	-7
65	Paration-metil	0,996	-31	0,999	-5

66	Penconazol	0,995	-10	0,999	20
67	Phorato	0,996	-28	0,999	-3
68	Phosmet	0,997	-59	0,994	-45
69	Picoxistrobina	0,996	-27	0,999	-1
70	Pirimicarbe	0,997	-33	0,999	-9
71	Pirimifos-metil	0,996	-31	0,997	-7
72	Profenofos	0,997	-47	0,998	-22
73	Prometrina	0,995	-26	0,999	-2
74	Propiconazol	0,996	-30	0,999	-7
75	Protiofos	0,996	-30	0,998	-3
76	Pirazofos	0,997	-41	0,999	-17
77	Piridaben	0,996	-37	1,000	-14
78	Pirimetanil	0,997	-27	0,993	5
79	Quinalfos	0,998	-18	0,998	7
80	Espiromesifen	0,997	-43	0,999	-21
81	Tebuconazol	0,997	-27	0,998	1
82	Tebufenpirade	0,997	-27	0,995	4
83	Teflutrina	0,996	-32	0,998	-7
84	Tetraconazol	0,211	-81	1,000	-4
85	Tetrametrina	0,827	-31	0,997	-4
86	Triadimefon	0,995	-31	0,999	-6
87	Triazofos	0,997	-35	0,997	-9
88	Trifloxistrobina	0,997	-27	0,998	1
89	Trifluralina	0,986	-30	0,999	-4
90	Vinclozolina	0,996	-28	0,998	-2

Fonte: Autor

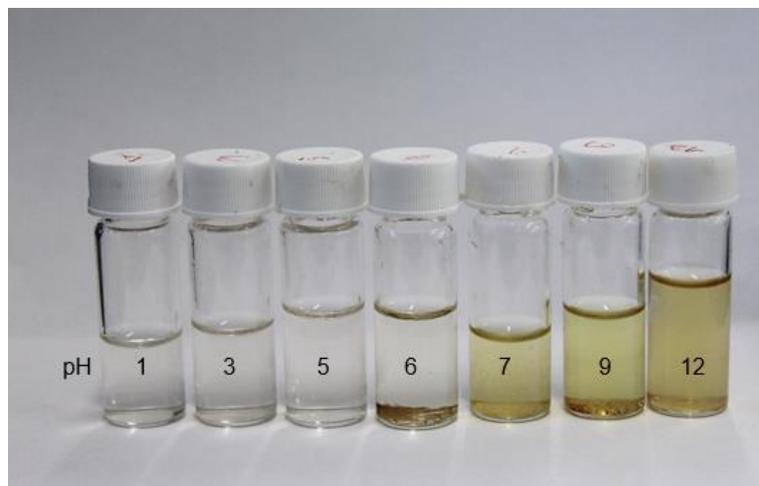
A linearidade foi realizada utilizando extrato branco de pitaya de polpa rosa enriquecido e os coeficientes de determinação ( $r^2$ ) estão acima de 0,990. As exceções foram tetraconazol, tetrametrina, malationa e trifluralina (2 vezes) e hexaconazol e malationa (3 vezes). A partir do efeito de matriz foi possível estimar a presença de supressão de sinal (sinal negativo) em ambos os procedimentos. Porém, na diluição 1:2 esse efeito foi maior. Para diluição 1:3, a supressão de sinal foi superior a 20% para apenas 13 compostos.

#### 5.2.4 Avaliação Visual da Mudança de pH no Extrato de Pitaya e Avaliação da Limpeza dos Extratos por UV-Vis e Modo *Full Scan* em GC-MS/MS

Para o ajuste de pH utilizou-se ácido fosfórico  $H_3PO_4$  e hidróxido de sódio NaOH. A partir do pH 6 pode-se observar que houve a precipitação de coextrativos ainda presentes no extrato. O comportamento da formação de precipitado se repetiu de pH 7 a 12 como em pH 6. Em pH 5 não se observa precipitado, apenas uma leve

coloração amarelada. Na Figura 16 estão ilustrados os extratos sem etapa de *clean up* com diferentes ajustes de pH.

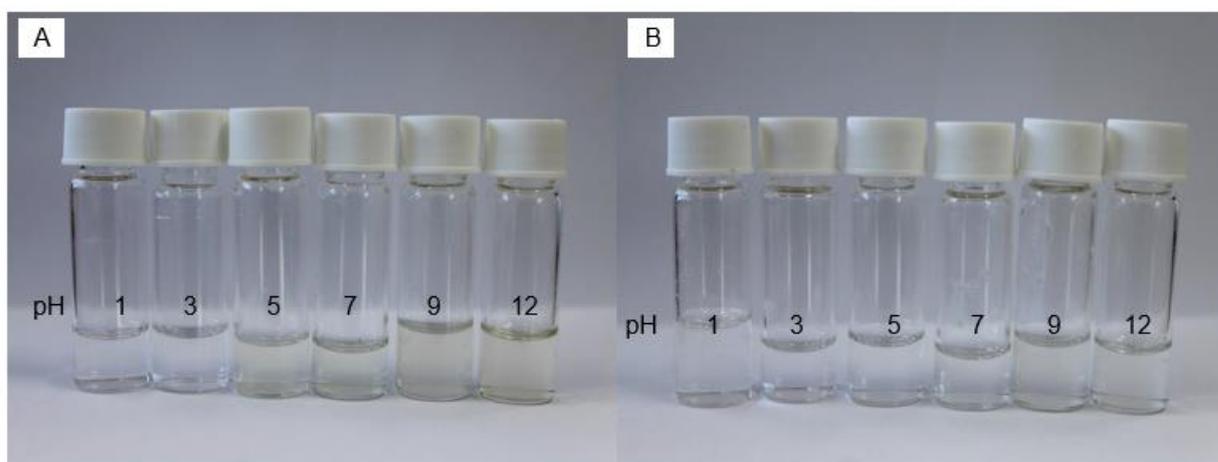
**Figura 16.** Extrato sem etapa de *clean up* com diferentes ajustes de pH.



**Fonte:** Autor.

Após, o mesmo extrato coletado da etapa de partição foi submetido ao *clean up* com PSA e Quitosana e seu pH foi ajustado da mesma forma que anteriormente. Após a etapa de *clean up* com PSA observou-se visualmente uma leve coloração amarelada em pH 5, já com a quitosana não se observa mais coloração alguma. Na Figura 17 estão ilustrados os extratos após *clean up* com PSA e Quitosana e ajuste de pH.

**Figura 17.** Ajuste de pH após etapa de *clean up*, A: PSA, B: Quitosana.

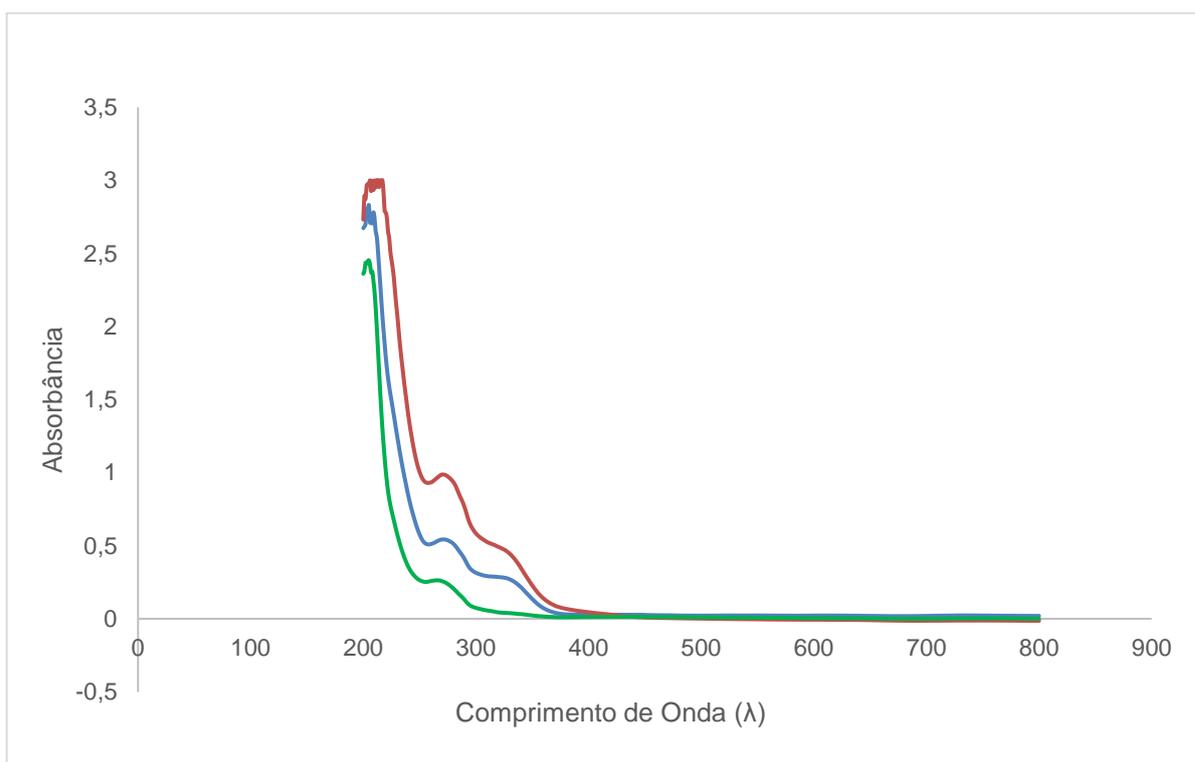


**Fonte:** Autor.

Pode-se observar que após o *clean up* o ajuste de pH não ocasionava mais a formação de precipitados em pH acima de 5, e em pH abaixo de 5 não houve formação de precipitado em nenhum extrato, tanto sem *clean up* como com *clean up*. Desta forma é possível observar visualmente a influência do *clean up* na remoção de coextrativos presentes no extrato de pitaya. O extrato após a etapa de extração se encontra em pH entre 5,0 e 5,5.

Na Figura 18 estão ilustrados os espectros de UV-Vis para o extrato sem *clean up*, e após *clean up* com quitosana e com PSA. Onde observa-se maior absorção de luz no extrato que passou pelo *clean up* com quitosana ao se comparar com PSA, mas isso apenas ocorre na região do ultravioleta, no visível não se observa absorção de luz, tanto para o extrato sem e com *clean up*.

**Figura 18.** Comparação dos extratos sem *Clean up* (espectro vermelha) e após *Clean up* com quitosana (espectro azul) e PSA (espectro verde).



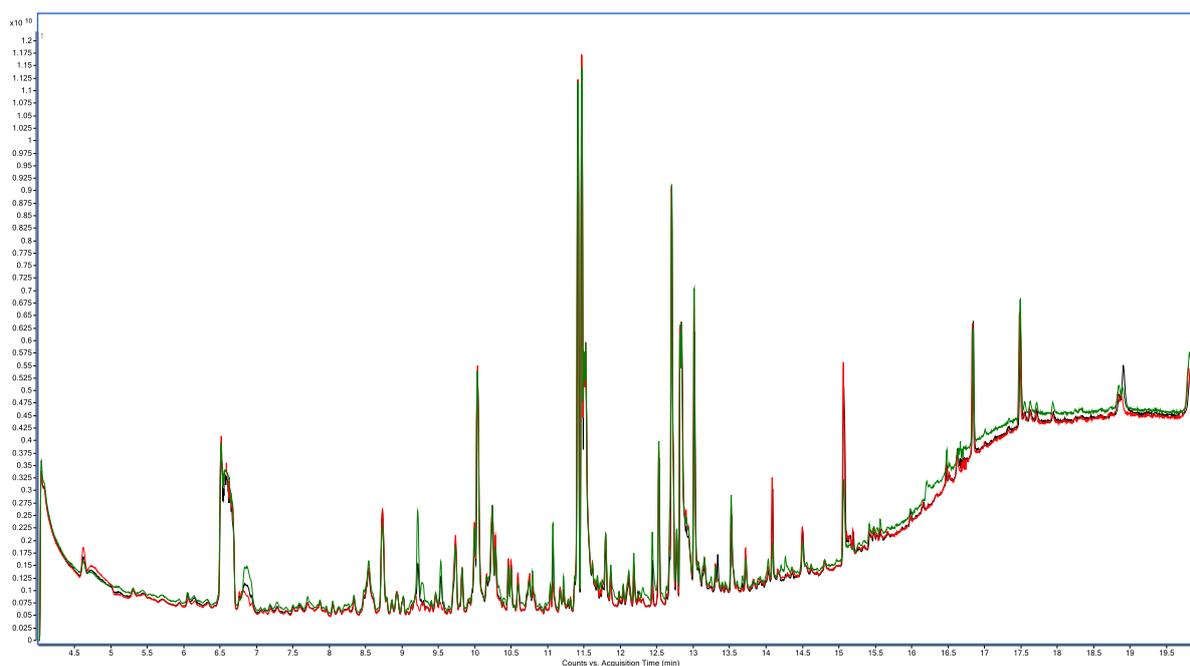
**Fonte:** Autor.

Compostos como as betalaínas tem sua maior absorção em comprimentos de onda entre 390 e 610 nm (DRUNKLER, D. A; FETT, R; LUIZ, M. T. B. 2006). Desta forma, vemos que ambas as etapas de *clean up* foram satisfatórias para remoção dos

pigmentos presentes na pitaya. A solubilidade das betalaínas é maior em solventes aquosos e são pouco solúveis em solventes como ACN, MeOH, EtOH e DMSO. Desta forma as betalaínas não são extraídas pela ACN, sendo removidas na etapa de partição.

Na Figura 19 estão ilustrados os cromatogramas sobrepostos, onde compara-se a limpeza do extrato após *clean up* com PSA e quitosana, e sem *clean up*. Observa-se que todos os extratos apresentam a presença de coextrativos em intensidade muito próxima. Apenas no tempo de retenção de 15 minutos, observa-se a presença de um coextrativo em maior intensidade no extrato de quitosana, quando comparado aos demais.

**Figura 19.** Avaliação da Limpeza do Extrato em Modo *Full Scan* por GC-MS/MS, cromatograma verde (sem limpeza) cromatograma preto (PSA) cromatograma vermelho (quitosana)



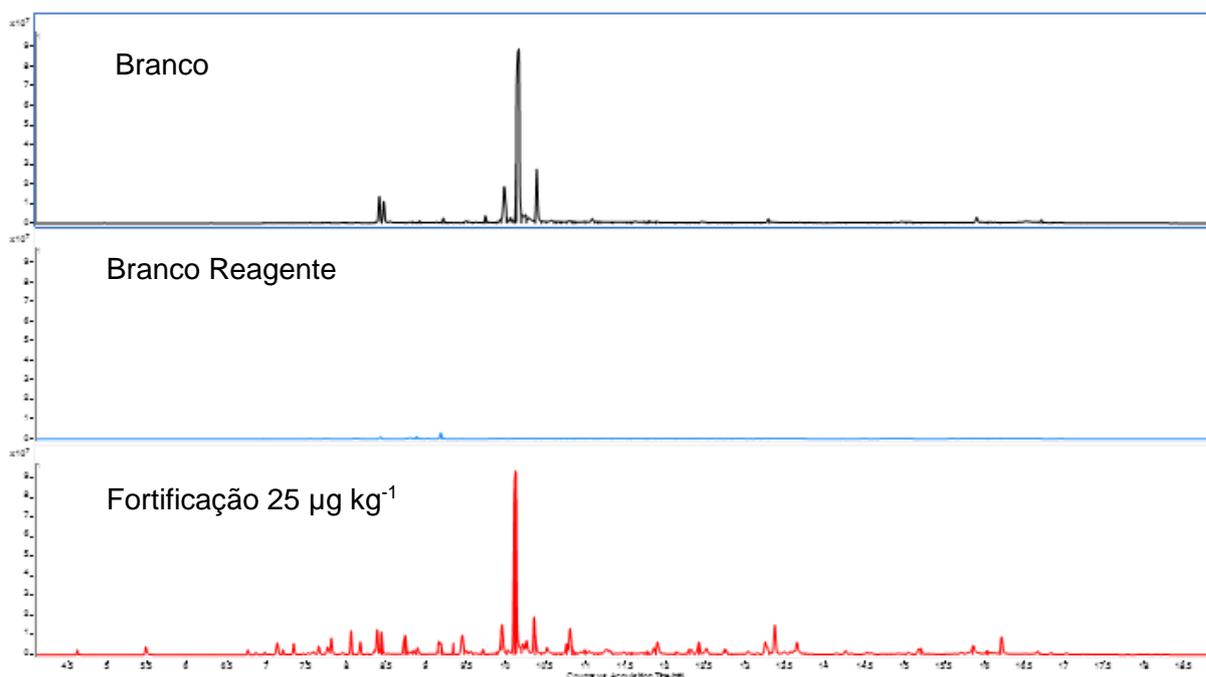
Fonte: Autor

## 5.3 Validação do método

### 5.3.1 Seletividade

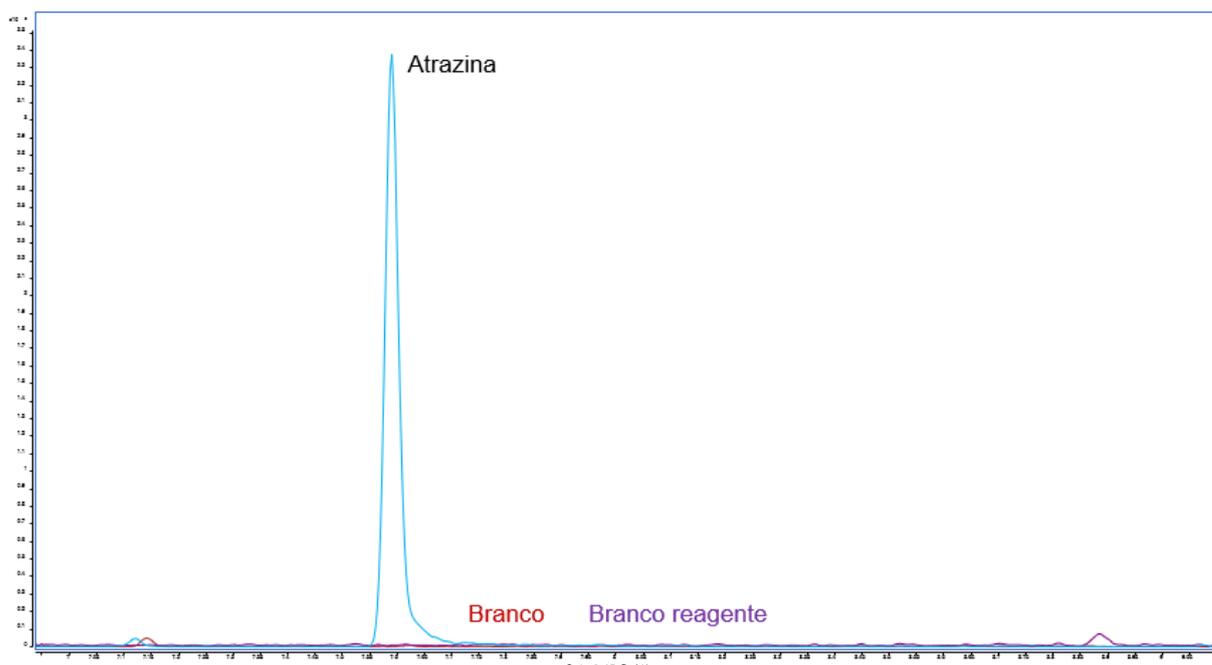
A seletividade do método foi confirmada ao comparar os extratos do branco da matriz de pitaya, branco reagente (composto por água ultrapura e os reagentes utilizados no preparo de amostra, a fim de observar possíveis contaminações nos reagentes) e o branco fortificado na concentração de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Na Figura 20 observa-se que não há interferentes no branco reagente, contudo observa-se interferentes no branco da matriz de pitaya. E para assegurar que esses não afetam a quantificação dos compostos de interesse, na Figura 21 está ilustrado o cromatograma do composto atrazina, junto ao branco reagente e branco da matriz, os principais interferentes presentes no branco de matriz estão no tempo de retenção de 10,1 a 10,2 min, que são tempos de retenção diferente dos analitos.

**Figura 20.** Cromatograma de íons totais obtidos do branco, branco reagente e fortificação de  $25 \mu\text{g kg}^{-1}$ .



Fonte: Autor.'

**Figura 21.** Cromatograma MRM de atrazina obtidos do branco, branco reagente e fortificação do extrato de pitaya de 25  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

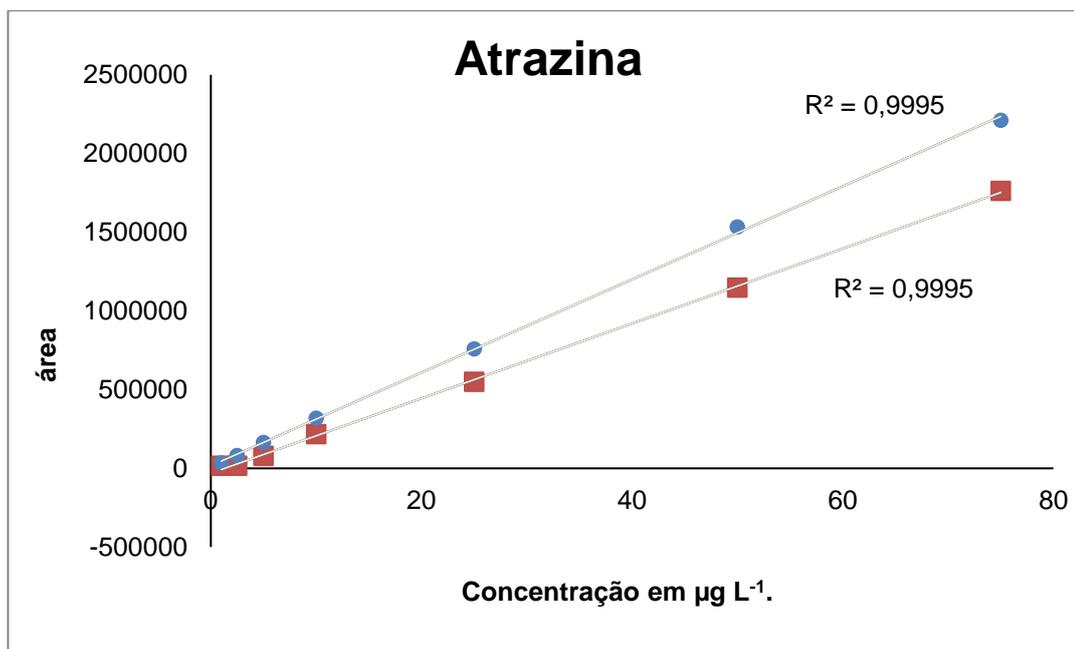


Fonte: Autor.

### 5.3.2 Linearidade e Curva Analítica

A linearidade do método foi verificada por meio da equação da reta e valor do  $r^2$  da curva analítica de cada agrotóxico em estudo, sendo aceito como adequado  $r^2 > 0,990$ . Compostos que não apresentaram linearidade adequada não foram considerados validados. As curvas analíticas foram construídas a partir de no mínimo 5 níveis de calibração nas concentrações de 1; 2,5; 5; 10; 25; 50; 75  $\mu\text{g L}^{-1}$  realizada em triplicata como descrito em Anvisa 2017. Foram realizadas em extrato de matriz e em solvente nas mesmas concentrações, e o  $r^2$  aceito foi sempre superior a  $>0,990$ . No gráfico 4 estão apresentadas as curvas de atrazina no solvente e na matriz.

**Gráfico 4.** Curvas de atrazina para comprovação da linearidade.



Fonte: Autor.

### 5.3.3 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de quantificação é definido como a mais baixa concentração em que um analito pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis (INMETRO, 2021) ele foi definido a partir dos ensaios de fortificação, onde foi considerado LOQ o menor nível de fortificação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) que obteve sinal/ruído  $>10$  e no qual a precisão e exatidão dos compostos em estudo encontram-se dentro dos níveis aceitáveis de recuperação no desvio padrão relativo - RSD. O limite de detecção é definido como a mais baixa concentração de um analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, é o ponto em que o sinal analítico se difere do ruído de fundo, podendo ser identificado como um sinal real, embora não seja possível determinar com precisão sua quantidade (INMETRO, 2021). O valor do limite de detecção do método foi definido a partir do valor do LOQ dividindo por 3,33.

Como pode ser visualizado na Tabela 13, os valores de LOQ do método estão no nível de  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$  e o LOD em  $1,5 \mu\text{g kg}^{-1}$  esses valores podem ser considerados satisfatórios para o método desenvolvido e validado, uma vez que os compostos que possuem limites estabelecidos pela União Europeia e *Codex Alimentarius* ( $0,005 -$

0,05 µg kg<sup>-1</sup>) presentes no método foram atendidos. Ou seja, o limite de quantificação está abaixo da concentração dos LMRs.

#### 5.3.4 Exatidão e Precisão (Repetibilidade e Precisão Intermediária)

Para avaliar a exatidão (recuperação) e a precisão (desvio padrão relativo) do método, os valores aceitos como adequados foram os recomendados pela norma internacional (SANTE, 2021) valores entre 70 e 120% para recuperação e RSD ≤ 20%. A Exatidão do método foi avaliada observando a recuperação dos compostos em quatro níveis de fortificação 5, 10, 25, 50 µg kg<sup>-1</sup> (n=7) com as replicadas foi avaliada a repetibilidade no primeiro dia de validação. Os resultados de recuperação dos compostos foram calculados a partir da curva analítica preparada no extrato da matriz (extrato branco) e expresso em porcentagem (%) e calculado conforme as equações 1 e 2. A precisão intermediária foi avaliada por meio de novas fortificações realizadas em um segundo dia de validação, onde n=6 e outro analista foi responsável por essas fortificações.

A recuperação dos compostos foi calculada com descrito na equação 1. Os resultados da recuperação dos compostos estão apresentados na Tabela 13.

$$(1) \text{ Concentração real} = \left( \frac{\text{média da área das fortificações} - B \text{ interceptação da reta}}{A \text{ inclinação da reta}} \right)$$

$$(2) \text{ Recuperação em \%} = \left( \frac{\text{concentração real}}{\text{concentração estimada}} \right) * 100$$

#### 5.3.5 Efeito matriz

Para calcular o efeito matriz (EM) levou-se em consideração a inclinação das curvas analíticas, no extrato da matriz (polpa de pitaya) e em solvente (acetoneitrila) como descrito na equação 3 como descrito por (CHAWLA *et al.*, 2017). Para que o efeito matriz seja considerado significativo seu valor deve ser superior a 20 %, desta forma pode ser considerado que a matriz forneceu efeito significativo no sinal

cromatográfico dos compostos, ou seja o incremento de sinal (SANTE, 2021). Os resultados para o efeito matriz estão apresentados na Tabela 15.

$$(3) \text{ Efeito Matriz \%} = \frac{x_1 - x_2}{x_2} * 100$$

Onde:

*x1 é a inclinação da curva de calibração no extrato de matriz;*

*x2 a inclinação no solvente.*

Dentre os 78 compostos avaliados 13 deles tiveram efeito matriz abaixo de 20%. Contudo o número de compostos que teve efeito matriz relevante foi significativo, dessa forma as curvas analíticas foram realizadas no extrato da matriz (extrato branco), a fim de obter resultados mais exatos, diminuindo a ocorrência de erros.

**Tabela 15.** Resultados de validação para o método de determinação de agrotóxicos em pitaya empregando QuEChERS e GC-MS/MS desenvolvidos nesse trabalho.

N°	Analitos	r <sup>2</sup>	LOQ (µg kg <sup>-1</sup> )	LOD	Exatidão, Recuperação % (Precisão, RSD %)								Precisão Intermediária Recuperação % (Precisão, RSDpi %)				EM (%)				
					5				10				5					10			
					µg kg <sup>-1</sup>				µg kg <sup>-1</sup>				µg kg <sup>-1</sup>					µg kg <sup>-1</sup>			
1	Alachlor	0,9991	5	1,50	73	8	84	11	93	6	90	8	96	6	93	2	97	4	95	5	27
2	Aldrin	0,9999	5	1,50	75	10	81	5	87	5	86	8	92	5	80	10	90	4	91	5	0
3	Atrazina	0,9995	5	1,50	75	9	81	11	87	7	87	9	90	5	91	3	91	3	91	4	24
4	Benalaxyl	0,9989	5	1,50	82	10	92	10	97	6	96	7	96	7	93	4	101	4	99	5	26
5	BHC-alpha	0,9991	5	1,50	71	7	73	9	79	7	76	9	85	4	85	3	89	3	86	5	-3
6	BHC-beta + gama	0,9982	5	1,50	71	7	76	7	83	8	81	10	90	4	88	3	92	3	88	5	-5
7	Bifenthrin	0,9993	5	1,50	86	12	94	9	96	6	92	9	97	6	92	9	107	6	105	7	41
8	Boscalid	0,9966	5	1,50	70	8	76	10	74	6	70	7	74	6	76	2	82	8	78	5	53
9	Bromopropilato	0,9988	5	1,50	87	11	90	11	88	7	83	9	95	5	94	5	103	6	98	7	48
10	Bupirimato	0,9990	5	1,50	87	11	95	12	99	6	97	8	96	2	91	4	98	5	98	6	29
11	Buprofezina	0,9991	5	1,50	80	10	89	10	96	6	96	8	94	3	91	4	100	4	101	5	23
12	Cadusafos	0,9995	5	1,50	77	7	85	9	93	6	91	7	94	6	93	1	100	4	98	5	52
13	Carbofenotiona	0,9988	5	1,50	87	12	95	17	92	8	87	9	87	7	83	8	94	6	91	6	46
14	Clorfenapir	0,9990	5	1,50	81	11	86	12	93	7	92	8	91	5	83	7	98	7	96	6	26
15	Clorprofam	0,9993	5	1,50	78	9	84	9	89	7	89	8	93	2	93	2	98	4	96	4	48
16	Cloropirifós	0,9993	5	1,50	72	8	76	10	83	7	83	9	84	6	80	5	91	4	89	5	16
17	Cloropirifós-metil	0,9994	5	1,50	81	8	85	10	92	6	91	8	90	4	89	2	93	4	92	4	29
18	Clomazone	0,9992	5	1,50	77	9	84	8	92	5	93	8	98	3	97	2	105	5	98	4	37
19	Ciprodinil	0,9986	5	1,50	75	9	85	10	91	6	92	7	93	5	92	5	103	4	100	5	69

20	DDT-o,p'	0,9972	5	1,50	72	11	83	12	86	6	82	9	82	6	79	9	101	4	99	7	23
21	DDT-p,p'	1,0000	5	1,50	77	17	71	16	71	3	<b>70</b>	11	84	5	72	7	72	8	71	5	51
22	Dieldrin	0,9985	5	1,50	77	10	86	9	90	7	91	7	98	7	90	3	99	4	98	5	10
23	Difenoconazole																				
	I+II	0,9972	5	1,50	75	9	90	7	90	5	88	4	81	7	88	3	102	6	96	5	59
24	Disulfoton	0,9997	5	1,50	81	9	85	9	91	7	92	8	96	3	91	2	96	4	96	4	20
25	Endosulfan alpha	0,9967	5	1,50	81	14	88	15	92	6	90	8	100	8	88	8	99	4	94	6	12
26	Endosulfan beta	0,9973	5	1,50	70	9	77	11	80	7	76	8	94	7	89	6	87	5	83	6	7
27	Endosulfan sulfato	0,9996	5	1,50	71	12	74	8	71	6	70	4	77	6	70	8	78	5	76	6	5
28	Endrin	0,9992	5	1,50	84	10	88	14	91	6	90	8	92	7	84	10	98	7	96	6	24
29	Epoxiconazol	0,9980	5	1,50	79	9	89	12	91	6	91	7	86	3	88	3	98	6	98	5	55
30	Etiona	0,9988	5	1,50	88	13	95	17	92	8	87	9	87	7	83	8	94	6	91	6	46
31	Etofenprox	0,9982	5	1,50	80	11	91	9	93	5	91	6	87	8	76	7	100	7	94	6	47
32	Etoprofós	0,9995	5	1,50	77	10	81	8	86	6	85	7	93	3	95	2	96	4	94	4	31
33	Etrimfos	0,9998	5	1,50	70	8	75	9	85	7	87	9	81	6	89	2	94	4	93	5	22
34	Fenamidona	0,9981	5	1,50	82	10	90	9	89	6	88	6	84	5	85	4	94	6	92	6	42
35	Fenarimol	0,9973	5	1,50	74	10	84	11	85	6	83	5	82	5	84	3	93	7	92	5	45
36	Fenazaquina	0,9981	5	1,50	80	11	89	9	91	6	89	8	84	5	82	5	95	6	94	5	52
37	Fempropimorfe	0,9997	5	1,50	79	8	86	8	91	6	91	7	94	3	89	3	99	4	98	5	23
38	Fipronil	0,9952	5	1,50	76	13	75	15	74	9	74	13	84	10	81	10	93	9	91	7	99
39	Fluazifope-p-																				
	butilico	0,9993	5	1,50	84	11	92	13	97	7	95	8	91	4	85	6	96	6	97	4	56
40	Fluquinconazol	0,9999	5	1,50	71	9	76	8	75	5	70	3	75	10	81	4	87	7	79	6	28
41	Flusilazol	0,9990	5	1,50	84	11	91	10	96	6	95	7	101	4	94	3	98	5	99	6	31
42	Flutriafol	0,9981	5	1,50	89	14	103	12	102	5	102	8	87	6	85	3	109	14	101	5	57
43	Heptacloro	0,9994	5	1,50	72	11	74	10	79	8	76	10	84	2	76	7	87	4	83	5	9

44	Hexaclorobenzeno	0,9999	5	1,50	73	10	78	7	82	7	80	6	83	5	75	7	89	2	88	4	-3
45	Kresoxim-metil	0,9980	5	1,50	84	7	94	14	94	7	92	8	98	6	97	5	94	10	98	6	64
46	Metconazol	0,9999	5	1,50	82	16	115	17	92	6	87	8	86	9	86	10	104	8	96	5	59
47	Metiocarbe	0,9994	5	1,50	81	11	82	10	91	7	91	8	94	8	89	3	94	4	93	5	19
48	Metoxicloro	0,9990	5	1,50	88	14	75	15	74	12	74	16	95	7	87	3	86	6	81	7	58
49	Metolacoloro	0,9989	5	1,50	72	8	84	8	87	6	97	11	92	4	86	3	95	4	94	5	24
50	Mirex	0,9995	5	1,50	71	12	74	8	71	6	70	4	73	5	70	10	78	5	76	6	5
51	Miclobutanil	0,9985	5	1,50	83	10	95	10	98	6	97	7	95	3	91	2	101	5	100	6	37
52	Nuarimol	0,9984	5	1,50	78	10	87	13	88	7	88	7	87	4	86	3	96	6	97	5	38
53	Oxadixil	0,9993	5	1,50	75	9	78	8	77	6	73	8	81	3	75	3	78	5	73	6	35
54	Parationa-metíllica	0,9994	5	1,50	81	8	85	10	92	6	91	8	90	4	89	2	93	4	92	4	29
55	Penconazol	0,9985	5	1,50	77	9	90	10	94	6	94	7	93	4	94	3	99	3	98	4	50
56	Phorate	0,9997	5	1,50	84	8	90	8	94	6	95	8	90	5	91	3	98	3	98	4	31
57	Picoxistrobina	0,9987	5	1,50	91	7	101	11	103	7	102	9	90	6	90	2	112	14	103	5	49
58	Pirimicarbe	0,9990	5	1,50	76	8	87	9	94	5	95	8	96	3	93	2	100	3	97	5	31
59	Pirimifós-metil	0,9997	5	1,50	82	12	86	11	92	8	91	7	91	8	89	4	94	5	94	3	30
60	Prometrina	0,9990	5	1,50	81	9	90	12	98	6	97	8	94	5	90	3	99	3	98	5	34
61	Propiconazol I+II	0,9977	5	1,50	83	8	93	14	94	6	94	6	93	6	94	3	99	8	104	5	46
62	Protiofos	0,9987	5	1,50	79	11	90	12	95	6	93	10	90	6	83	7	98	7	96	5	37
63	Pirazofos	0,9999	5	1,50	72	5	71	11	73	6	70	9	72	7	70	1	74	9	70	6	57
64	Piridabem	0,9973	5	1,50	72	13	79	9	76	5	73	5	73	6	72	5	81	8	76	6	59
65	Pirimetanil	0,9990	5	1,50	73	12	80	7	88	7	90	8	95	5	91	4	97	4	95	4	51
66	Quinalfos	0,9998	5	1,50	74	12	80	10	82	7	80	9	89	7	89	3	95	4	92	5	75
67	Spiromesifen	0,9996	5	1,50	72	14	72	13	70	6	70	10	71	6	70	4	72	4	69	4	6
68	Tebuconazol	0,9984	5	1,50	78	7	89	10	93	7	92	7	89	4	85	4	96	6	98	6	50
69	Tebufenpirade	0,9978	5	1,50	80	15	86	9	86	6	85	7	80	8	80	6	90	6	87	5	60

70	Teflutrina	0,9997	5	1,50	82	9	86	9	93	5	95	8	94	2	88	5	99	5	95	4	15
71	Terbufos	0,9996	5	1,50	84	8	86	11	91	7	91	8	97	6	93	3	97	4	95	5	21
72	Tetraconazole	0,9992	5	1,50	75	10	86	8	90	6	91	7	87	7	88	5	96	3	97	5	27
73	Transflutrina	0,9992	5	1,50	77	10	89	10	96	5	96	8	93	6	88	6	102	5	98	4	39
74	Triadimefon	0,9988	5	1,50	76	9	84	11	89	7	92	7	91	3	89	4	97	4	96	4	26
75	Triazofos	0,9997	5	1,50	70	2	70	15	74	7	71	10	78	5	70	2	70	6	70	4	43
76	Trifloxistrobina	0,9980	5	1,50	84	7	94	14	94	7	92	8	98	6	97	5	94	10	98	6	64
77	Trifluralina	0,9994	5	1,50	71	12	73	8	70	10	71	4	90	2	87	3	91	4	89	5	19
78	Vinclozolina	0,9990	5	1,50	77	7	83	9	90	6	88	7	89	2	87	4	94	5	91	5	26

## 5.4 Aplicação do Método em Amostras Reais

O método desenvolvido e validado no presente trabalho foi aplicado em 17 amostras de pitaya rosa e branca. Apesar do método ter sido validado em amostra de pitaya rosa também foi aplicado em amostras de pitaya branca. Foram detectados 2 compostos em duas amostras como apresentado na Tabela 16.

**Tabela 16.** Resíduos de Agrotóxicos encontrados em amostras de pitaya empregando o método validado neste estudo. As amostras que contém nd não foram detectadas nenhum dos agrotóxicos.

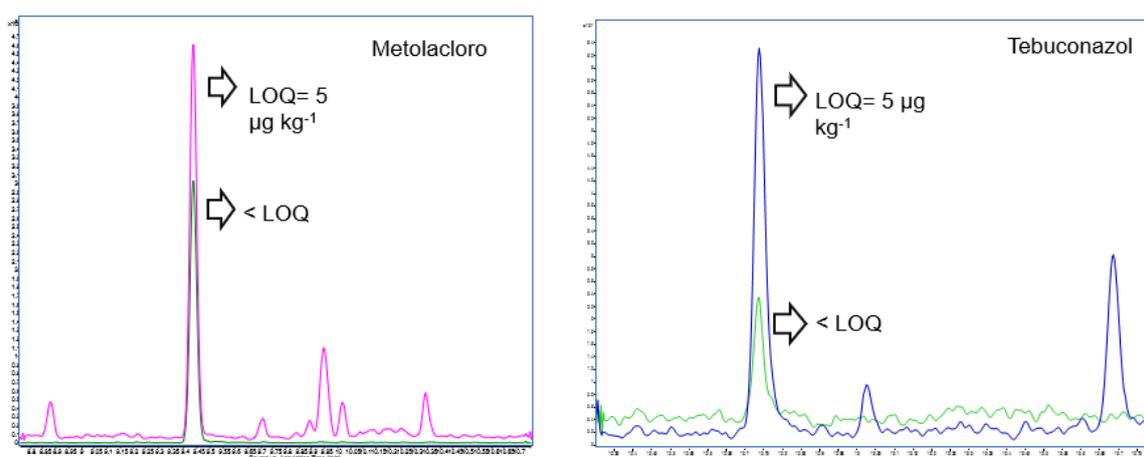
Amostra	Tebuconazol	Metolaclor
P1173	nd.	nd.
P1174	nd.	nd.
P1175	nd.	nd.
P1176	< LOQ	< LOQ
P1177	nd.	< LOQ
P1178	nd.	nd.
P1179	nd.	nd.
P1180	nd.	nd.
P1181	nd.	nd.
P1182	nd.	nd.
P1183	nd.	nd.
P1184	nd.	nd.
P1185	nd.	nd.
P1186	nd.	nd.
P1187	nd.	nd.
P1188	nd.	nd.
P1189.	nd.	nd.

Fonte: Autor.

A amostra P1176 apresentou tebuconazol em concentração abaixo do LOQ, este é um fungicida de toxicidade grau IV, considerado pouco tóxico e possui aplicação liberada para culturas como arroz, aveia, batata, beterraba, cacau, café, entre outros. Segundo o relatório do PARA de 2017- 2018 o tebuconazol foi um dos 3 compostos mais detectados nas amostras analisadas, ele foi detectado em 570 amostras, sendo 12% das amostras monitoradas. As culturas que ele mais foi detectado foram a cenoura, arroz, goiaba, laranja, chuchu, alho e beterraba (ANVISA, 2022).

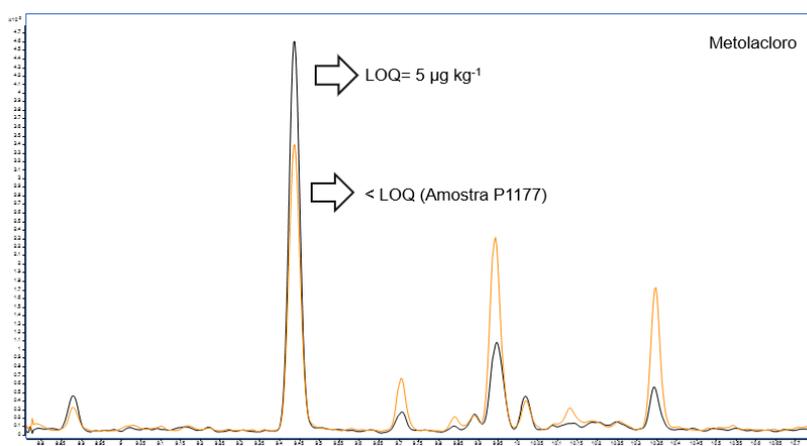
As amostras P1176 e P1177 apresentaram metolaclor em concentrações abaixo do LOQ. Este é um herbicida de toxicidade grau III, considerado de média toxicidade. Sua aplicação é liberada para culturas como milho, soja, trigo, sorgo e outros. Diferente do tebuconazol o metolaclor foi pouco detectado nas amostras monitoradas no relatório do PARA de 2017 - 2018, sendo encontrado em apenas uma amostra de uva (ANVISA, 2023). Aos cromatogramas dos resíduos de tebuconazol e metolaclor estão ilustrados nas Figuras 22 e 23.

**Figura 22.** Amostra P1176 com presença de Metolaclor e Tebuconazol.



Fonte: Autor.

**Figura 23.** Amostra P1177 com presença de Metolaclor.



Fonte: Autor.

No Brasil, atualmente não existe uma legislação específica que estabeleça limites para resíduos de pesticidas em pitaya (PARA, 2023; PNCRC, 2020). No entanto, é importante ressaltar que os compostos detectados estão abaixo do limite de quantificação (LOQ), ou seja, eles podem ser identificados, mas não podem ser quantificados. É de grande importância ressaltar que os produtores de pitaya no Brasil desenvolvem sua plantação de forma orgânica e o presente trabalho comprova a eficiência do plantio orgânico de pitaya, principalmente na Região Sul do país.

## 6. CONCLUSÕES

---

A inclusão da etapa de limpeza do extrato empregando a quitosana comercial foi muito eficiente e compatível com o método QuEChERS original selecionado para o presente trabalho, apresenta boas recuperações. É importante ressaltar seu baixo valor comercial devido ao fato de ser produzido a partir de resíduos de casca de crustáceos. A quitosana é, portanto, considerada um biosorvente.

Além disso ao comparar os extratos de quitosana e PSA em modo varredura *Full scan* em GC-MS/MS não se observa grande diferença na presença de coextrativos, sendo que a quitosana apresentou capacidade de limpeza semelhante ao PSA (sorventes convencional do método). Ao comparar os extratos em varredura no UV-Vis observa-se pequena diferença na absorção de energia nos extratos que passaram por limpeza com quitosana e PSA.

Ao final 78 agrotóxicos foram validados de diferentes classes. Durante a etapa de validação alguns compostos não apresentaram recuperações adequadas, sendo estes azoxistrobina, ciflutrina, esfenvalerate, fenvalerate, tetrametrina, paration, fosmet, hexaconazol, dicloran, diclorvos, fention, malation, metidation tetrametrina e profenofos. Observa-se que grande parte dos compostos que não foram validados são piretróides.

Os parâmetros de validação demonstram que o método é adequado para análise de 78 agrotóxicos em amostras pitaya. O método apresentou boa linearidade ( $r^2 > 0,990$ ), exatidão (recuperações entre 70 e 120%) e precisão (RSD  $\leq 20\%$ ), com valores de (LOQ  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) abaixo dos LMRs estabelecidos pela União Europeia e Codex Alimentarius para o composto difenoconazol, para a cultura de pitaya. A detecção dos compostos utilizando GC-MS/MS foi satisfatória apresentando excelente detectibilidade, seletividade e precisão.

Quando o método foi aplicado a amostras reais de pitaya adquiridas nos estados de São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, o método permitiu a detecção de 2 agrotóxicos em duas diferentes amostras, porém abaixo do LOQ. Das 17 amostras analisadas apenas duas apresentam a presença de agrotóxicos em concentração menor a  $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Pode-se considerar, que a incidência de agrotóxicos nessa cultura foi baixíssima, sendo consequência da produção sem

agrotóxicos da cultura. O método proposto é adequado para determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras pitaya e polpa rosa e polpa branca.

As vantagens do método proposto é ser um procedimento simples, de custo reduzido devido a utilização da quitosana, podendo ser utilizado em rotina laboratorial, visto que ele se mostrou adequado aos parâmetros de validação.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ALCÂNTARA, Daniel B. *et al.* Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food Chemistry**, v. 298, p. 124958, 2019.

AMARAL, Leonardo Rabello *et al.* Determinação multirresíduo de agrotóxicos em casca, polpa e tubérculo de batata empregando método QuEChERS e UHPLC-MS/MS. 2023.

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

ANASTASSIADES, M. *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-31, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/publicada-reclassificacao-toxicologica-de-agrotoxicos>. Acesso em 03/05/2023.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para>. Acesso em: 13 mar 2022.

ANVISA 2023, Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos>. Acesso em 020/01/2023.

ARIAS, Jean Lucas de Oliveira. Determinação de conservantes em alimentos processados empregando Quechers, Sillme e Hplc-uv: Estudo de métodos e estimativa da ingestão diária. 2019.

BOTERO-COY, Ana María *et al.* Exploring matrix effects in liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination of pesticide residues in tropical fruits. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 13, p. 3667-3681, 2015.

BRASIL b, 2017. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada — RDC nº 166 de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 25 de julho de 2017. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC\\_166\\_2017\\_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401).

BORGES, Keyller Bastos; FIGUEIREDO, Eduardo Costa de; QUEIROZ, Maria Eugênia Costa. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. 2015.

CABRERA, Liziara da C. *et al.* 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, n. 10, p. 1945-1954, 2016.

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

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

Censo agro 2017 disponível em:

[https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo\\_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76371](https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76371), acesso em 03/04/2022.

Chawla S, Patel HK, Gor HN, Vaghela KM, Solanki PP, Shah PG. 2017. Evaluation of Matrix Effects in Multiresidue Analysis of Pesticide Residues in Vegetables and Spices by LC-MS/MS. *J AOAC Int.* 100(3):616–623.  
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0048>

COELLO-VILLANUEVA, Jocelyn María *et al.* Evaluation of QuEChERS Method for GC Analysis of Pesticides in Tropical Fruits from Yucatan, Mexico. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 61, n. 4, p. 290-296, 2017.

CONCHA-MEYER, Anibal *et al.* Pesticide residues quantification in frozen fruit and vegetables in Chilean domestic market using QuEChERS extraction with ultra-high-performance liquid chromatography electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry. *Food chemistry*, v. 295, p. 64-71, 2019.

CORDEIRO, MaRia Helena MenezeS *et al.* Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 37, p. 20-26, 2015.

DE OLIVEIRA ARIAS, Jean Lucas *et al.* Alternative sorbents for the dispersive solid-phase extraction step in quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method for extraction of pesticides from rice paddy soils with determination by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1360, p. 66-75, 2014.

DE OLIVEIRA ARIAS, Jean Lucas *et al.* Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. **Food Chemistry**, v. 240, p. 1243-1253, 2018.

DE OLIVEIRA SILVA, Layra *et al.* Agrotóxicos: a importância do manejo adequado para a manutenção da saúde. **Nature and conservation**, v. 12, n. 1, p. 10-20, 2019.

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

DE SOUSA ANTUNES, Luiz Fernando *et al.* Millicompost: Sustainable substrate for the production of dragon fruit seedlings (*Selenicereus undatus*). *Cleaner Engineering and Technology*, v. 4, p. 100107, 2021.

DEY, Diksha *et al.* Accumulation of betacyanin in *Hylocereus undatus* rind: Pigment stability analysis and its role in xanthine oxidase inhibition. *Phytomedicine Plus*, v. 2, n. 1, p. 100197, 2022.

DOS REIS, Giovane S. *et al.* A Rapid UHPLC-MS/MS Multiresidue Method to Determine Pesticides in Zucchini Based on Dilution of QuEChERS Raw Extracts. 2022.

DOS SANTOS, D. N. *et al.* Pitaya: uma alternativa frutífera. 2022.

DRUNKLER, DEISY ALESSANDRA; FETT, ROSEANE; LUIZ, MARILDE T. BORDIGNON. Avaliação da estabilidade de betalaínas em extrato de beterraba (*Beta vulgaris* L.) com  $\alpha$ -,  $\beta$ -e  $\gamma$ -ciclodextrinas 1. **Boletim CEPPA**, v. 24, n. 1, p. 259-276, 2006.

EPAGRI SANTA CATARINA, disponível em:  
<https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2021/06/18/santa-catarina-vira-polo-de-producao-sustentavel-de-pitaiia/> acesso em: 22/05/2023.

ESPAÑA AMÓRTEGUI, Julio C.; GUERRERO DALLOS, Jairo A. Comparison of QuEChERS official methodologies for the analysis of pesticide residues on Colombian fruit by GC-MS. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 4, p. 676-687, 2014.

FACCIN, Henrique *et al.* Determinação de compostos fenólicos como marcadores analíticos em extratos de plantas medicinais da Amazônia por UHPLC-ESI-MS/MS. 2016.

FINKLER, Maria Goreti; BATTISTI, Iara Denise Endruweit; ANASTÁCIO, Zélia. Exposição de crianças a agrotóxicos: uma revisão integrativa. 2019.

GEORGIN, Jordana *et al.* Residual peel of pitaya fruit (*Hylocereus undatus*) as a precursor to obtaining an efficient carbon-based adsorbent for the removal of metanil yellow dye from water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 10, n. 1, p. 107006, 2022.

GONÇALVES, Letícia Christina P. *et al.* Betalaínas: Das cores das beterrabas à fluorescência das flores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 292-309, 2015.

Greer B, Chevallier O, Quinn B, Botana LM, Elliott CT. 2021. Redefining dilute and shoot: The evolution of the technique and its application in the analysis of foods and biological matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 141:116284. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116284>

Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed, disponível em: [https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE\\_11312\\_2021.pdf](https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf), acesso em 02/02/2023.

IBAMA 2023, DISPONÍVEL EM: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos#sobreosrelatorios>. acesso em 02/02/2023.

INCA, disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/causas-e-prevencao-do-cancer/exposicao-no-trabalho-e-no-ambiente/agrotoxico#:~:text=Agrot%C3%B3xicos%20s%C3%A3o%20produtos%20qu%C3%ADmicos%20sint%C3%A9ticos,2002%3B%20INCA%2C%202021>. Acesso em 20/05/2023.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E

Instituto de Nutrição da América Central e do Panamá – INCAP. Disponível em: <http://www.incap.int/mesocaribefoods/dmdocuments/TablaCALimentos.pdf>. Acesso em 24/03/2023.

JING, Weidong *et al.* Optimization of the QuEChERS extraction method to determine Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in powder aerosol particles collected by cyclone. **Environmental Technology & Innovation**, v. 31, p. 103141, 2023.

KAUR, Navneet *et al.* Advanced green analytical chemistry for environmental pesticide detection. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, p. 100488, 2021

LE, Truc-Linh *et al.* Dragon fruit: A review of health benefits and nutrients and its sustainable development under climate changes in Vietnam. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 39, n. 2, p. 71-94, 2021.

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

LIANG, Ze *et al.* Occurrence, detection, and dissipation of pesticide residue in plant-derived foodstuff: A state-of-the-art review. *Food Chemistry*, p. 132494, 2022.

MAPA 2023, Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>. Acesso em 20/01/2023.

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

MENDES, CÁSSIA REGINA ALVES *et al.* Agrotóxicos: principais classificações utilizadas na agricultura brasileira-uma revisão de literatura. **Revista Maestria**, n. 17, p. 95-107, 2019.

Monografias de agrotóxicos, Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias>, acesso em 25/02/2023.

MUSARURWA, Herbert *et al.* Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 84, p. 103314, 2019.

NASCIMENTO, Ronaldo Ferreira do *et al.* Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. 2018.

Noegrohati, S., Hernadi, E., Asviastuti, S. (2018). Matrix effect evaluation and method validation of azoxystrobin and difenoconazole residues in red flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) matrices using quechers sample preparation methods followed by LC-MS/MS determination. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100: 821–826

NUNES, Ernane Nogueira *et al.* Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. 2014.

PRATA, Rafaela; PETRARCA, Mateus Henrique; FILHO, José Teixeira; GODOY, Helena Teixeira. Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone in baby foods available in the Brazilian market. *Journal of Food Composition and Analysis*, [S. l.], v. 99, p. 103874, 2021

PAKVILAI, N. *et al.* Residues of synthetic pyrethroid pesticides in vegetables, fruit, sediment and water from an intensive agricultural area (Fang district, Chiang Mai, Thailand). *WIT Trans. Ecol. Environ*, v. 167, p. 201-210, 2012.

PERESTRELO, Rosa *et al.* QuEChERS-Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica chimica acta**, v. 1070, p. 1-28, 2019.

PERRIN, Natacha *et al.* Fibras biocompatíveis de quitosanas fúngicas e de camarão para aplicação em sutura. **Pesquisa atual em biotecnologia**, v. 4, p. 530-536, 2022. See More

PICO, Yolanda; ALFARHAN, Ahmed H.; BARCELO, Damia. How recent innovations in gas chromatography-mass spectrometry have improved pesticide residue determination: An alternative technique to be in your radar. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 122, p. 115720, 2020.

PNCRC vegetal, Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pncrcvegetal>, acesso em 10/05/2023.

Prata R, Petrarca MH, Filho JT, Godoy HT. 2021. Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone in baby foods available in the Brazilian market. *Journal of Food Composition and Analysis*. 99:103874. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103874>

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

PRESTES, Osmar Damian; ADAIME, Martha Bohrer; ZANELLA, Renato. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. *Scientia Chromatographica*, v. 3, n. 1, p. 51-64, 2011.

PRESTES, Osmar Damian; ADAIME, Martha Bohrer; ZANELLA, Renato. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. *Scientia Chromatographica*, v. 3, n. 1, p. 51-64, 2011.

Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos PARA, Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos>, acesso em 02/02/2023.

RDC nº 166, de 24 de junho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 25 jul. 2017.

Renato Zanella, Osmar Damian Prestes, Marta Bohrer Adaime, Manoel Leonardo Martins. QuEChERS In: BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, EC de; QUEIROZ, M. E. C (Org). Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. GEN, editor. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2015.

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

SAPOZHNIKOVA, Y., LEHOTAY, S.J.. Multi-class, multi-residue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 758 (2013) 80–92. DOI: 10.1016/j.aca.2012.10.034.

SKRETTEBERG, L. G. *et al.* Pesticide residues in food of plant origin from Southeast Asia—A Nordic project. *Food Control*, v. 51, p. 225-235, 2015

TBCA, disponível em : [http://www.tbca.net.br/base-dados/int\\_composicao\\_alimentos.php?cod\\_produto=C0225C](http://www.tbca.net.br/base-dados/int_composicao_alimentos.php?cod_produto=C0225C), acesso 09/05/2023.

TECNOLOGIA. Norma nº DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos. rev. 09. Rio de Janeiro. Jun. 2020

TETTE, Patrícia Amaral Souza *et al.* Multiclass method for pesticides quantification in honey by means of modified QuEChERS and UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, v. 211, p. 130-139, 2016.

VARELA-MARTÍNEZ, Diana Angélica *et al.* Determination of pesticides in dried minor tropical fruits from Colombia using the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe method-gas chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of separation science**, v. 43, n. 5, p. 929-935, 2020.

VILLAVERDE, Juan José *et al.* Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 568-580, 2016.

WONG, Melody Yee-Man; SO, Pui-Kin; YAO, Zhong-Ping. Direct analysis of traditional Chinese medicines by mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, v. 1026, p. 2-14, 2016.

ZAIDON, Siti Zulfa *et al.* Improved QuEChERS and solid phase extraction for multi-residue analysis of pesticides in paddy soil and water using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 145, p. 614-621, 2019

ZANELLA RENATO, PRESTES Damian Osmar, ADAIME Bohrer Marta, MARTINS Leonardo Manoel. QuEChERS In: BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, EC de; QUEIROZ, M. E. C (Org). Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. GEN, editor. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2015.

ZANELLA, R. *et al.* High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis, editado por Tomasz Tuzimski e Joseph Sherma. CRC Press Taylor & Francis Group 2015 (582 Hal). Chapter 13 – Quantitative Analysis and Method Validation, p. 303-324, 2015.

ZIMMERMANN, Cirlene Luiza. Monocultura e transgenia: impactos ambientais e insegurança alimentar. **Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 12, 2009.