



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



**MARIA CLARA SIMONINE DE OLIVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO DE EXTRAÇÃO  
SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO À BAIXA TEMPERATURA DE  
RESÍDUOS DE TIAMETOXAM EM SOLO DESTINADO AO PLANTIO  
DE FEIJÃO**

**Ituiutaba/MG**

**2023**

**MARIA CLARA SIMONINE DE OLIVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO DE EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO À BAIXA TEMPERATURA DE RESÍDUOS DE TIAMETOXAM EM SOLO DESTINADO AO PLANTIO DE FEIJÃO**

Monografia de conclusão de curso apresentada à Comissão Avaliadora como parte das exigências do Curso de Graduação em Química: Licenciatura, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

**Orientador:** Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria

**Ituiutaba/MG**

**2023**

**MARIA CLARA SIMONINE DE OLIVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO DE EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO À BAIXA TEMPERATURA DE RESÍDUOS DE TIAMETOXAM EM SOLO DESTINADO AO PLANTIO DE FEIJÃO**

Monografia de conclusão de curso apresentada à Comissão Avaliadora como parte das exigências do Curso de Graduação em Química: Licenciatura, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

**Ituiutaba, 28 de junho de 2023**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Regina Massako Takeuchi (ICENP/UFU)**

---

**Prof. Dr. José Gonçalves Teixeira Júnior (ICENP/UFU)**

---

**Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria (ICENP/UFU)**

## DEDICATÓRIA

*Dedico esta monografia aos meus pais Catiana Simonine e Valdenício Leandro, por serem presentes em minha vida, pela luta diária de ambos em busca de proporcionarem sempre o melhor para mim, pelo amor incondicional, apoio incalculável e por serem os maiores incentivadores das realizações dos meus sonhos. Dedico também, em especial ao meu orientador Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria, por ser uma constante fonte de motivação e incentivo, pela sabedoria e confiança depositada em mim em todo esse processo.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força e bênçãos concedidas durante todo o meu percurso acadêmico, proporcionando-me sabedoria para lidar com diversas situações e alcançar meus objetivos.

Expresso gratidão à minha família, em especial aos meus pais, Catiana Simonine Pereira e Valdenício Leandro de Oliveira, que sempre apoiaram minhas escolhas e me acolheram em todos os momentos. Ao meu irmãozinho, Henryco Faleiros, minha profunda gratidão por ser luz, sua inocência e amor incondicional me encham de alegria. Em breve você vai conseguir ler estas palavras e sentir todo o meu amor por você. Também gostaria de agradecer aos meus avós, que não estão mais entre nós, mas que contribuíram grandemente para que eu chegasse aonde estou hoje.

Sou imensamente grata à minha amiga Mirela Macedo, que foi a pessoa que inicialmente me apresentou o curso de Química. Quero também agradecer especialmente à minha amiga Julia Moreira, que foi meu primeiro contato quando ingressei na universidade e desde então estivemos sempre juntas, apoiando-nos mutuamente em todos os aspectos.

Gostaria de incluir em meus agradecimentos o apoio ímpar que recebi do meu companheiro Luiz Fernando Ferreira Gruppi, que sempre me encorajou e ofereceu conselhos valiosos ao longo do caminho, se fazendo presente mesmo longe.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria, por aceitar me orientar e contribuir significativamente para minha formação, conduzindo minha pesquisa do início ao fim com leveza e transmitindo confiança, além de oferecer as melhores oportunidades que pude vivenciar nesta etapa da minha vida. Sempre estive disponível para ajudar a resolver desafios e superar dificuldades que surgiram.

Ao meu grupo de pesquisa, CroMat, quero expressar minha gratidão especial ao Me. Allyson Leandro e à Me. Laís de Moura, que me transmitiram conhecimentos essenciais ao longo da minha pesquisa, incentivando e apoiando. A minha amiga Maria Fernanda Mussi, que esteve constantemente compartilhando conhecimentos, tornando todo o processo mais leve, agradeço a construção dessa amizade. E a todos que contribuíram de alguma forma para os conhecimentos adquiridos ao longo dessa jornada.

Às agências de fomento que viabilizaram a realização desta pesquisa: ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica concedida via PIBITI-UFU; à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pela infraestrutura laboratorial (código: 01.11.0135.00) e equipamentos (código: 01.13.0371.00).

## EPÍGRAFE

*“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”*

**Charles Chaplin**

## RESUMO

O destino dos agrotóxicos, independente da forma de aplicação, é comumente os compartimentos ambientais, em especial, o solo. Nesse ambiente, a molécula pode seguir diferentes caminhos, afetando diversos ecossistemas e seres vivos. O tiametoxam é um dos inseticidas mais aplicados nas monoculturas de grãos brasileira, no entanto, métodos para monitorar os seus resíduos no solo ainda são incipientes. Neste estudo buscou-se desenvolver uma metodologia analítica para determinar resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho utilizado no plantio de feijão. O método escolhido para a preparação de amostra de solo foi a extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT), e a quantificação dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD). O método ESL-PBT foi otimizado sob os principais fatores que afetam a extração do tiametoxam das amostras de solo, como: tipo de solvente extrator, quantidade de amostra, volumes de água e de solvente extrator, adição de sal e o tempo de congelamento. Nesta etapa, foram definidas como condições ótimas da ESL-PBT de tiametoxam de solo a acetonitrila como solvente extrator, empregando 4 mL para 2 mL de solução aquosa de KCl a 10 % (m/v) para 1000 mg de solo, com cerca de 85 % de recuperação do tiametoxam. Após a otimização, procedeu-se à validação do método, quanto aos parâmetros seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de quantificação, exatidão, precisão e robustez, seguindo as diretrizes do guia de validação da Comunidade Europeia. O método de determinação de tiametoxam de solos apresentou como principais figuras de mérito, taxas de recuperação na faixa de 70 a 98 %; boa precisão, com desvios padrão relativos < 6 %, limite de quantificação de 0,04 mg kg<sup>-1</sup> de tiametoxam no solo, inferior ao limite máximo de resíduos em grãos de feijão de 0,3 mg kg<sup>-1</sup>. Assim, a metodologia analítica proposta demonstrou ser capaz de extrair e quantificar de forma rápida, simples e eficiente o tiametoxam em amostras de latossolo vermelho, típico da região do Cerrado Brasileiro. O método se encontra apto a ser aplicado em amostras de solo de cultivo de feijoeiro, com potencial contaminação pelo inseticida tiametoxam.

**Palavras-chave:** Cromatografia líquida, latossolo vermelho, agrotóxicos, tiametoxam, validação de métodos

## ABSTRACT

The destination of pesticides, regardless of the type of application, is commonly the environmental compartments, such as the soil. In this compartment, the pesticide molecule can follow different paths, affecting several ecosystems and living beings. Thiamethoxam is one of the most applied insecticides in Brazilian grain monocultures. However, methods to monitor its residues in the soil are still incipient. This study sought to develop an analytical methodology to determine thiamethoxam residues in red latosol used in bean planting. The method chosen for soil sample preparation was solid-liquid extraction with a low-temperature partition (ESL-LTP) and quantification of extracts by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection (HPLC-DAD). The ESL-LTP method was optimized under the main factors that affect the extraction of thiamethoxam from soil samples, such as type of extractor solvent, amount of sample, volumes of water and extractor solvent, the addition of salt, and freezing time. In this step, optimal conditions for the ESL-LTP of thiamethoxam in soil were defined as acetonitrile as extractor solvent, using 4 mL for 2 mL of 10 % (w/v) KCl aqueous solution for 1.0 g of the soil sample, with about 86 % recovery of thiamethoxam. After the optimization, the method validation was performed, regarding the selectivity, linearity, working range, quantification limit, accuracy, precision, and robustness parameters, following the guidelines for the analytical method validation of the European Community. The method for the determination of thiamethoxam in soil samples presented recovery rates in the range of 70 to 98 %; good precision, with relative standard deviations < 6 %; limit of quantification of 0.04 mg kg<sup>-1</sup> of thiamethoxam in soil, lower than the maximum residue limit in bean grains of 0.3 mg kg<sup>-1</sup>. Thus, the proposed analytical methodology proved to be quick, simple, and efficient for the extraction and quantification of thiamethoxam in red latosol samples, typical of the Brazilian Cerrado region. The method can be applied in soil samples of bean cultivation, with potential contamination by the insecticide.

**Keywords:** Liquid chromatography, red latosol, pesticides, thiamethoxam, method validation.



## LISTA DE SIGLA E ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
C18	octadecilsilano
DAD	<i>Diode array detector</i> – Detector de arranjo de diodos
ESL	Extração sólido-líquido
FE	Fase estacionária
FM	Fase móvel
DL	Dosagem Letal
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i> – Cromatografia líquida de alta eficiência
LOQ	<i>Limit of quantification</i> – Limite de quantificação
MeOH	Metanol
PBT	Partição em baixa temperatura
RSD	<i>relative standard deviation</i> – Desvio padrão relativo
TMX	Tiametoxam

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Classificação dos agrotóxicos referentes a sua toxicidade à saúde humana. _____	14
<b>Tabela 2.</b> Condições para otimização da ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo. _____	27
<b>Tabela 3.</b> Matriz do planejamento de experimentos para a avaliação da robustez dos métodos analíticos propostos, empregando o teste de Youden. _____	32
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros analíticos das curvas pelo método do padrão externo (preparada em solvente) e pelo método da adição padrão (preparada no extrato). _____	41
<b>Tabela 5.</b> Resultados da precisão, no nível de repetibilidade, do método ESL-PBT para determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de solo (n = 6). _____	45
<b>Tabela 6.</b> Resultados da precisão, no nível de reprodutibilidade intralaboratorial, do método ESL-PBT para determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de solos (n = 12). _____	46
<b>Tabela 7.</b> Taxas de recuperação do tiametoxam nas amostras de solos pelo método ESL-PBT. _____	47

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> Estrutura química do tiametoxam. _____	17
<b>Figura 2.</b> Fluxograma do processamento das amostras de latossolo vermelho destinado ao plantio de feijão. _____	26
<b>Figura 3.</b> Fluxograma da extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura do tiametoxam de amostras de solo e análise dos extratos por CLAE-DAD. _____	28
<b>Figura 4.</b> Espectro de absorção do comprimento de onda do inseticida tiametoxam. _____	33
<b>Figura 5.</b> Cromatograma de um extrato de amostra de solo fortificada com tiametoxam a 0,25 mg L <sup>-1</sup> , obtida pelo método ESL-PBT em condições otimizadas. Condições de análise: FM H <sub>2</sub> O:MeOH (70:30, v/v), vazão de FM de 1,0 mL min <sup>-1</sup> , injeção de 10 µL, temperatura de coluna de 30 °C, detecção a 254 nm. _____	34
<b>Figura 6.</b> Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes volumes de água e acetona. Condições: 1000 mg de amostra; acetona como solvente extrator; sem adição de sal e 4h de congelamento. _____	35
<b>Figura 7.</b> Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes massas do latossolo vermelho. Condições: volume água:acetona 2:4 mL; acetona como solvente extrator; sem adição de sal e 4h de congelamento. _____	36
<b>Figura 8.</b> Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes solventes extratores. Condições: volume água: acetona 2:4 mL; massa de amostra 1000 mg; adição de sal e 2h de congelamento. _____	37
<b>Figura 9.</b> Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes massas de sal (KCl) à água para promoção do efeito salting out. Condições: volume água:acetona 2:4 mL; massa de amostra 1000 mg; acetonitrila como solvente extrator; adição de sal e 2h de congelamento. _____	38
<b>Figura 10.</b> Cromatogramas sobrepostos do extrato do branco da amostra de latossolo vermelho e do extrato da amostra fortificada com tiametoxam obtidos pelo método ESL-PBT otimizado. FM H <sub>2</sub> O:MeOH (70:30, v/v), vazão 1,0 mL /min; detecção a 254 nm e temperatura de 30 °C. ____	40
<b>Figura 11.</b> Curvas analíticas para o tiametoxam obtidas pelo método do padrão externo e pelo método da calibração no extrato da matriz. _____	41
<b>Figura 12.</b> Cromatograma de uma solução a 0,010 mg L <sup>-1</sup> de tiametoxam, empregando CLAE-DAD nas condições otimizadas de análise. _____	44
<b>Figura 13.</b> Efeito dos fatores avaliados no estudo de robustez do método de determinação de tiametoxam em latossolo vermelho, empregando o método proposto. _____	48

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1 Agrotóxicos	13
1.1.1 <i>Algumas propriedades dos agrotóxicos e sua relação com o ambiente</i>	15
1.1.2 <i>Tiametoxam</i>	16
1.2 Latossolo Vermelho	18
1.3 Métodos de extração de agrotóxicos de solos	19
1.4 Validação intralaboratorial de metodologias analítica	21
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
<b>3 METODOLOGIA</b>	<b>25</b>
3.1 Preparo das soluções padrão de tiametoxam	25
3.2 Processamento das amostras de solos	25
3.3 Desenvolvimento do método de análise dos extratos com tiametoxam por CLAE-DAD	26
3.4 Otimização do método ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo	27
3.5 Estudo da validação do método de determinação de tiametoxam de amostras de solo	28
3.5.1 <i>Seletividade</i>	29
3.5.2 <i>Curvas analíticas para o tiametoxam</i>	29
3.5.2.1 <i>Faixa de trabalho e linearidade</i>	29
3.5.2.2 <i>Sensibilidade</i>	30
3.5.2.3 <i>Efeito matriz</i>	30
3.5.2.4 <i>Limite de quantificação</i>	30
3.5.3 <i>Ensaio de precisão e exatidão do método</i>	30
3.5.4 <i>Avaliação da robustez pelo teste de Youden</i>	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
4.1 Otimização do método de análise dos extratos de solo contendo tiametoxam	33
4.2 Otimização do método ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo	34
4.2.1 <i>Volume do solvente extrator</i>	34
4.2.2 <i>Escolha da massa de amostra</i>	35
4.2.3 <i>Escolha do solvente extrator</i>	36
4.2.4 <i>Efeito da adição de sal</i>	37
4.3 Validação do método de determinação de tiametoxam em solos	39
4.3.1 <i>Seletividade</i>	39
4.3.2 <i>Curvas analíticas para quantificação do tiametoxam</i>	40

4.3.2.1 Faixa de trabalho, linearidade e sensibilidade	40
4.3.2.2 Efeito matriz	42
4.3.2.3 Limite de quantificação	43
4.3.3 <i>Precisão da metodologia</i>	44
4.3.3.1 Repetibilidade	44
4.3.3.2 Reprodutibilidade intralaboratorial	45
4.3.4 <i>Exatidão (Ensaio de adição e recuperação)</i>	46
4.3.5 <i>Robustez via teste de Youden</i>	48
<b>5 CONCLUSÕES</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde o início da civilização, o ser humano tem sido o principal responsável pelas transformações ocorridas na natureza, em decorrência da evolução de sua espécie e da busca por espaço e recursos alimentares. Há cerca de 10.000 anos, com o desenvolvimento agrícola, a densidade populacional começou a aumentar, resultando em mudanças significativas nas interações entre as espécies. O ser humano passou a armazenar grãos, vegetais e carne, transformando esses estoques em fontes de alimento tanto para as comunidades humanas quanto para os animais domésticos. Os campos cultivados, no entanto, passaram a ser alvos de diversas espécies de insetos e roedores, que encontraram nessas áreas uma fonte abundante de alimento. Além disso, insetos, fungos e bactérias também passaram a atacar as plantações. Essas espécies proliferaram rapidamente devido à disponibilidade de alimento, causando interferências no bem-estar humano e sendo, conseqüentemente, consideradas pragas (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012). A forma mais rápida e eficiente de combate a estas pragas, até os dias atuais, continua sendo a aplicação de agrotóxicos nas culturas.

### 1.1 Agrotóxicos

Os agrotóxicos também conhecidos como pesticidas, são compostos químicos sintéticos desenvolvidos com o propósito de direcionar reações bioquímicas específicas em insetos, microrganismo, animais e plantas considerados como pragas, visando seu controle ou eliminação. Essa denominação abrange uma variedade de substâncias que são utilizadas na agricultura, incluindo inseticidas (para o controle de insetos), fungicidas (para o controle de fungos), herbicidas (para combater plantas invasoras), fumigantes (para o combate de bactérias do solo), algicidas (para combater algas), avicidas (para o controle de aves), nematicidas (para controle de nematoides), moluscidas (para controle de moluscos), acaricidas (para controle de ácaros), bem como reguladores de crescimento, desfolhantes (para remoção de folhas indesejadas) e dissecentes (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Os agrotóxicos são comumente aplicados diretamente nos solos ou nas plantas. No caso da aplicação sobre as plantas, estima-se que cerca de 50 % da dose total aplicada possa eventualmente atingir o solo, o qual atua como o principal receptor e acumulador desses compostos (VICARI, 2013). Os agrotóxicos no ambiente do solo estão sujeitos a três processos principais: sorção, degradação e lixiviação. A sorção pode retardar ou impedir a movimentação

dos agrotóxicos no solo, além de afetar sua disponibilidade para ser absorvido pelas raízes das plantas ou degradado por microrganismos. A degradação dos agrotóxicos no solo pode ocorrer por processos químicos, microbiológicos e fotólise (ação da luz). No entanto, a maioria dos agrotóxicos no solo é degradada principalmente por ação de microrganismos. Quanto à lixiviação dos resíduos de agrotóxicos, essa ocorre devido à ação da água de chuva ou de irrigação, levando os resíduos de agrotóxicos de um ambiente para outro (SCORZA JÚNIOR *et al.*, 2010).

A utilização de agrotóxicos na agricultura pode causar perturbações e impactos, uma vez que podem exercer pressão seletiva sobre os organismos e alterar a dinâmica bioquímica natural, resultando em mudanças na função do ecossistema (SPADOTTO *et al.*, 2004). A avaliação e a classificação do potencial de periculosidade ambiental de um agrotóxico são fundamentadas em estudos físico-químicos, toxicológicos e ecotoxicológicos. Com base nesses estudos, os agrotóxicos podem ser classificados em diferentes classes de periculosidade ambiental, variando de I a IV: produtos altamente perigosos ao meio ambiente (Classe I), produtos muito perigosos ao meio ambiente (Classe II), produtos perigosos ao meio ambiente (Classe III) e produtos pouco perigosos ao meio ambiente (Classe IV) (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

A classificação dos agrotóxicos com base nos efeitos à saúde resultantes da exposição humana a essas substâncias pode levar a diferentes categorias toxicológicas, resumidas na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos agrotóxicos referentes a sua toxicidade à saúde humana.

Classe toxicológica	Toxicidade	DL <sub>50</sub>	Faixa colorida
I	Extremamente tóxico	≤ 5 mg/kg	Vermelha
II	Altamente tóxico	Entre 5 e 50 mg/kg	Amarela
III	Mediamente tóxico	Entre 50 e 500 mg/kg	Azul
IV	Pouco Tóxico	Entre 500 e 5000 mg/kg	Verde
-	Muito pouco tóxico	Acima de 5000 mg/kg	-

Fonte: adaptado de (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Agrotóxicos altamente tóxicos podem destruir uma grande parte da fauna e flora microbiana do solo, o que pode levar ao surgimento de organismos patogênicos adaptados às condições de contaminação (SPADOTTO *et al.*, 2004). Adicionalmente, a utilização excessiva de agrotóxicos e a constante exposição do ecossistema têm conduzido ao desenvolvimento de resistência genética por parte de pragas. Isso resulta na necessidade de aumentar as dosagens

desses agrotóxicos, elevando, conseqüentemente, a potencialidade de contaminação dos alimentos nas plantações. Além disso, esse cenário promove a redução e simplificação da diversidade genética e biológica, tornando o ecossistema mais suscetível a novos tipos de pragas e doenças. O uso inadequado e intensivo dos agrotóxicos pode contaminar o solo, assim como os lençóis freáticos subterrâneos, podendo afetar regiões distantes da área de aplicação do produto químico (OLIVEIRA, 2021).

### ***1.1.1 Algumas propriedades dos agrotóxicos e sua relação com o ambiente***

Entender e determinar a meia-vida dos agrotóxicos no solo, na água e até mesmo na atmosfera é de extrema importância. Essa análise, juntamente com outras propriedades como solubilidade e volatilização dos agrotóxicos, permite avaliar o seu potencial de contaminação ambiental.

O conhecimento da solubilidade do agrotóxico em água auxilia na compreensão sobre sua capacidade de lixiviação, ou seja, a capacidade do agrotóxico de se mover através do solo com auxílio de fluxos de água provenientes da chuva ou de sistemas de irrigação. Essa informação é essencial para determinar a presença no solo ou o deslocamento dos agrotóxicos, seja por escoamento superficial ou por percolação, pelas camadas de solo.

A solubilidade do agrotóxico em água está diretamente relacionada ao coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ). O  $K_{ow}$  é um parâmetro que indica a afinidade de um composto químico com gorduras (lipofilicidade) ou com água (hidrofilicidade). Os agrotóxicos podem ser classificados em uma ampla faixa de hidrofilicidade variando desde aqueles com alta afinidade pela água até os extremamente lipofílicos, que são totalmente insolúveis em água. No caso em que o agrotóxico é hidrofílico, ele será facilmente solubilizado pelas moléculas de água presentes na superfície, águas subterrâneas e até mesmo na atmosfera. Conseqüentemente, esses compostos terão maior probabilidade de se movimentar pelos compartimentos ambientais, aumentando áreas de contaminação, especialmente quanto mais baixos forem seus valores de  $K_{ow}$ . Por outro lado, altos valores de  $K_{ow}$  para moléculas dos agrotóxicos são indicativos de afinidade por substâncias apolares, lipofílicas. Essa situação também confere riscos para o meio ambiente, pois podem se fixar na matéria orgânica do solo e permanecer naquele compartimento contaminando-o (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; GOULART *et al.*, 2022).

O coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo ( $K_{oc}$ ) é outro parâmetro importante relacionado à solubilidade e comportamento dos agrotóxicos no ambiente. O  $K_{oc}$  é uma propriedade físico-química de um composto que está diretamente relacionada à capacidade de

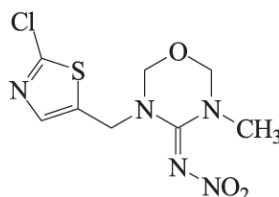


adsorção de moléculas orgânicas à matéria orgânica do solo. Ele representa a partição das moléculas do agrotóxico entre a matéria orgânica do solo e a solução aquosa do solo, esta última proveniente da água de irrigação, de chuvas etc. Agrotóxicos com valores elevados de  $K_{oc}$  têm uma maior tendência a serem adsorvidos pela matéria orgânica devido à sua maior afinidade com esse meio. Em contrapartida, agrotóxicos com baixos valores de  $K_{oc}$  apresentam uma maior afinidade com a solução aquosa do solo e conseqüentemente, uma menor afinidade com a matéria orgânica. O  $K_{oc}$  é uma propriedade que pode variar dependendo do tipo de solo e das características químicas do ingrediente ativo, o que significa que um agrotóxico pode exibir variações nos valores de  $K_{oc}$ . Essa propriedade é considerada fundamental para prever a movimentação ambiental dos agrotóxicos. Agrotóxicos com alta afinidade de adsorção ao solo têm uma menor probabilidade de serem transportados por meios aquosos, já que são retidos por esse meio. Dessa forma, eles são menos propensos a contaminar as águas superficiais e subterrâneas (WAUCHOPE *et al.*, 2002; GOULART *et al.*, 2022).

### ***1.1.2 Tiametoxam***

O tiametoxam (TMX) é um inseticida de amplo espectro, por ser eficiente no combate a diversos tipos de insetos, da classe dos neonicotinoides, assim denominada por ser constituída de moléculas sintéticas análogas à nicotina. O nome químico do composto, conforme a nomenclatura da IUPAC, é 3-(2-cloro\_tiazol-5-ilmetil)-5-metil-[1,3,5]oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina. A molécula de TMX foi sintetizada pela primeira vez em 1991, mas sua comercialização começou somente em 1998, sob os nomes comerciais de Actara<sup>®</sup>, para aplicação no solo e pulverização foliar, ou Cruiser<sup>®</sup> para o tratamento de sementes. O tiametoxam possui uma estrutura química única, como mostrado na Figura 1, e apresenta uma potente atividade inseticida. O TMX é considerado o primeiro representante dos neonicotinoides de segunda geração, pertencendo à subclasse dos compostos tianicotinil (CARVALHO *et al.*, 2011). O tiametoxam é amplamente utilizado para o controle de insetos em várias culturas, sendo aplicado por pulverização nas folhas das plantas ou incorporado ao solo através de grânulos ou diluído em água para tratamento de sementes (SCORZA JÚNIOR *et al.*, 2010).

Figura 1 Estrutura química do tiametoxam.



Fonte: (CARVALHO *et al.*, 2011).

A classe dos inseticidas neonicotinoides é reconhecida pela sua alta seletividade aos inimigos naturais das lavouras, devido às suas diferentes afinidades com os receptores nicotínicos presentes em diferentes insetos (CARVALHO *et al.*, 2011).

O TMX tem sido amplamente utilizado em mais de 115 culturas, abrangendo pelo menos de 64 países. Sua ação seletiva tem fortes efeitos sobre o sistema nervoso central dos insetos, enquanto apresenta baixa toxicidade para mamíferos (SOUZA, 2017). O TMX é lentamente metabolizado pelas plantas, o que resulta em sua persistência e atividade contra pragas sugadoras e mastigadoras por um período prolongado após a aplicação. Essa propriedade do tiametoxam permite um controle eficaz dessas pragas por várias semanas após a aplicação do produto (CARVALHO *et al.*, 2011).

O TMX possui alta solubilidade em água, cerca de 4,1 g/L a uma temperatura de 25 °C, um  $K_{ow}$  de -0,13 a pH 6,8 e um  $K_{oc}$  de 70 mL g<sup>-1</sup> sendo considerado um composto altamente polar. Seu ponto de fusão é de 139,1 °C e possui uma massa molar de 291,72 g/mol (SOUZA, 2017). Essas características indicam que o tiametoxam possui pouca tendência a se ligar às camadas orgânicas do solo, o que significa que uma quantidade significativa do produto aplicado na superfície terrestre permanece na solução aquosa do solo e pode ser lixiviada para camadas mais profundas, com ação do fluxo de águas que percolam o solo (CARVALHO *et al.*, 2013).

Existem poucos estudos sobre a dissipação do tiametoxam em solos, e eles estão principalmente concentrados em solos norte-americanos ou europeus. Antunes-Kenyon e Kenedy (2001) observaram que, sob condições de fotodegradação, a estabilidade do tiametoxam em solos é moderada, com uma meia-vida em torno de 50 dias. No entanto, em condições aeróbicas e na ausência de luz, os valores da meia-vida alcançaram 385 dias. De acordo com esses autores, as propriedades e características do tiametoxam indicam que ele pode ser um contaminante potencial da água subterrânea. Em condições de laboratório a meia-vida

do tiametoxam em solos varia de 34 a 75 dias, mas esses valores podem ser triplicados em condições desfavoráveis à degradação (URZEDO *et al.*, 2006).

## 1.2 Latossolo Vermelho

A camada solo é reconhecida como a superfície mais externa do planeta Terra, desempenhando um papel fundamental no suporte à diversidade de vida. O solo é composto por duas partes distintas: uma fração orgânica, proveniente da decomposição de animais e plantas, que abriga macrofauna, mesofauna e microfauna; e uma fração inorgânica, composta por fragmentos de rochas (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

O solo é um ambiente complexo que está sujeito a reações físicas, químicas e biológicas abrangentes, envolvendo tanto seus componentes minerais quanto orgânicos, bem como os elementos que são constantemente adicionados a ele. A formação e características do solo resultam de uma combinação de diferentes materiais de origem, relevo clima, vegetação, organismos do solo e influência humana (pedoambientes). No contexto de paisagem brasileira, é importante ressaltar a presença significativa dos latossolos, que abrangem cerca de 32 % de todo o território nacional. Esses solos são especialmente proeminentes na região amazônica, ocupando aproximadamente 41 % de seu território, além de representarem cerca de 46 % e 21 % do Cerrado e Semiárido, respectivamente (GOULART, 2017).

No Brasil há uma grande diversidade de solos em sua extensão continental, decorrente da ampla diversidade de pedoambientes e de fatores de formação do solo. Dentre os tipos existentes de solos no território brasileiro, se destacam os latossolos. Essa subclasse de solo se forma a partir de arenitos, calcários, gnaisses, materiais retrabalhados e pré-intemperizados, o que resulta em uma ampla variedade de texturas e fertilidade. Assim, existem vários tipos de latossolos, mas neste trabalho será destacado os latossolos vermelhos. Os latossolos vermelhos podem ser encontrados em diferentes variações, como distróficos, álicos e eutróficos, com texturas que variam de fraco arenoso a muito argiloso. Caracterizados por sua profundidade e boa drenagem, os latossolos vermelhos apresentam condições físicas favoráveis, como relevo plano, o que facilita o uso de maquinário agrícola e os torna adequados para diferentes tipos de cultivo. Esses solos são amplamente encontrados nas regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste do país (SANTOS *et al.*, 2018; GOULART, 2017).

Devido às suas características e propriedades, os solos possuem uma grande capacidade de decomposição ou inativação de substâncias que podem ser prejudiciais ao meio ambiente, o que muitas vezes os torna uma opção para o descarte ou reciclagem de materiais poluentes. No

entanto, o uso intensivo ou inadequado de agrotóxicos tem resultado na contaminação dos recursos naturais, o que pode ter efeitos negativos na saúde humana e animal. Essa contaminação representa uma preocupação significativa, uma vez que pode comprometer a qualidade da água, do próprio solo e, conseqüentemente, dos alimentos nele produzidos (BORTOLUZZI *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2018; STEFFEN *et al.*, 2011).

### 1.3 Métodos de extração de agrotóxicos de solos

A presença de resíduos de agrotóxicos no solo, água e ar é um problema que caracteriza a contaminação ambiental. Diante dessa situação, é necessário realizar estudos que monitorem a presença de agrotóxicos, especialmente no solo, onde geralmente são inicialmente depositados. Para isso, é crucial desenvolver, otimizar ou adaptar metodologias analíticas que sejam capazes de determinar os resíduos de agrotóxicos nos solos (PORTILHO *et al.*, 2014). A determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais é uma tarefa desafiadora devido às propriedades físico-químicas únicas de cada agrotóxico, a complexidade das amostras ambientais e a baixa concentração normalmente dos agrotóxicos nos compartimentos.

Portanto, para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais, em especial em solos, há a necessidade de duas etapas distintas da metodologia analítica: a preparação de amostra e a quantificação do agrotóxico. A preparação da amostra é a etapa mais importante da metodologia, a que resulta em maior erro e que consome maior tempo na determinação. A preparação da amostra normalmente demanda o isolamento do analito da matriz da amostra, a concentração do analito, a eliminação de potenciais interferentes coextraídos com o analito e, em alguns casos, a modificação química da molécula do analito para melhor quantificação pela técnica instrumental (ZHANG *et al.*, 2012).

Existem diversos métodos empregados para a preparação da amostra envolvendo resíduos de agrotóxicos em amostras de solos, nos últimos anos aqueles que merecem destaque tem sido: o método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*), a microextração em fase sólida (SPME, *solid-phase microextraction*), extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT), entre outros (COSTA *et al.*, 2015; ORAZBAYEVA *et al.*, 2020; GONZÁLEZ-CURBELO *et al.*, 2022). O método QuEChERS requer diversos sais e solventes para a extração dos agrotóxicos e limpeza dos extratos, bem como quantidades significativas de amostras de solo (GONZÁLEZ-CURBELO *et al.*, 2022). A microextração em fase sólida, por sua vez, é mais útil na extração de resíduos de agrotóxicos mais voláteis, além de usar um dispositivo e fibras extratoras de elevado custo para essas

aplicações (ORAZBAYEVA *et al.*, 2020). A extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura, dentre os métodos de extração mais modernos, tem demandado maior atenção dos pesquisadores por se tratar de um processo com baixa interferência do analista, de poucas etapas, simples de ser executado e que tem resultado em alta eficiência na extração de resíduos de agrotóxicos de solo, sem a necessidade de uso de reagentes, sais ou solventes adicionais para limpeza do extrato. Dessa forma, a ESL-PBT tem se tornado um método atrativo para o desenvolvimento de metodologias analíticas para determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras diversas, como as alimentícias, ambientais e biológicas (SOARES *et al.*, 2015; SANTANA *et al.*, 2018; FERRARI JÚNIOR; CALDAS, 2018; NUNES *et al.*, 2019).

A ESL-PBT é um método baseado na partição do analito, inicialmente presente em uma amostra sólida para um solvente orgânico totalmente miscível em água e menos denso e com menor temperatura de fusão que a água. A distribuição do analito para o solvente ocorre durante uma etapa de congelamento da fase aquosa que engloba a amostra sólida, enquanto o solvente extrator permanece líquido. A principal vantagem do método ESL-PBT pode ser atribuída à sua execução simplificada, com poucas etapas e baixa interferência do analista. Porém, deve ser destacado o uso de solventes miscíveis à água, que torna o processo menos tóxico que a extração sólido-líquido tradicional, que se utiliza de solventes organoclorados, altamente tóxicos (SANTANA *et al.*, 2018). Apesar do método ESL-PBT ter sido aplicado de forma bem-sucedida na extração de resíduos de agrotóxicos de amostras de solos, nenhum registro sobre a aplicação na extração do tiametoxam foi observado na literatura. Portanto, o método ESL-PBT foi escolhido para compor a metodologia analítica para determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de solo deste trabalho. No entanto, há a necessidade de adaptar a ESL-PBT para esta aplicação a partir da otimização das condições experimentais de execução do método de extração.

A quantificação do tiametoxam nos extratos de solos pode ser realizada por uma técnica analítica instrumental adequada, capaz de discriminar o sinal analítico do inseticida de coextrativos da matriz do solo. Normalmente, as técnicas analíticas empregadas para a quantificação de compostos orgânicos, como os agrotóxicos, são a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa (CG). Neste trabalho, a CLAE será utilizada por ser adequada para análise de compostos orgânicos pouco voláteis, instáveis termicamente e apresentar maior detectabilidade para o tiametoxam se comparado à CG (HEM *et al.*, 2010).

#### 1.4 Validação intralaboratorial de metodologias analítica

A implementação ou adaptação de um método analítico requer um processo de avaliação para determinar sua eficiência na rotina laboratorial. Esse processo é comumente chamado de validação. O objetivo da validação de um método analítico é garantir que ele seja preciso, reprodutível e flexível dentro de um intervalo de concentrações específico no qual a substância deverá ser encontrada (SANTE, 2022).

O processo de validação de um método deve ser contínuo e seguir um plano previamente estabelecido, registrando os procedimentos a serem realizados durante a validação do método. A Comunidade Europeia desenvolveu um guia de validação de métodos analíticos específico para o controle de resíduos de agrotóxicos em alimentos e rações – Documento SANTE/11312/2021 (SANTE, 2022). Este guia estabelece uma série de procedimentos para a avaliação dos parâmetros analíticos de um método desenvolvido para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, bem como estabelece critérios de aceitação para cada parâmetro avaliado. Os parâmetros analíticos do método que devem ser validados pelo guia da Comunidade Europeia são a seletividade, sensibilidade, linearidade, faixa de trabalho, exatidão, precisão, limite de quantificação (LOQ), efeito matriz e robustez.

A seletividade de um método analítico refere-se à sua capacidade de diferenciar o analito de interesse, mesmo na presença de outros componentes ou interferentes que possam estar presentes na matriz (OTAVIANO, 2022). Enquanto a sensibilidade de um método analítico é uma medida da variação da resposta em relação à variação da concentração do analito e pode ser expressa pelo coeficiente angular da curva analítica (VICARI, 2013). A linearidade se trata da capacidade do método analítico de gerar sinais analíticos que sejam diretamente lineares à concentração do analito, ou seja, o aumento da concentração do composto resultando em um aumento diretamente linear da resposta analítica fornecida pelo método. A linearidade do método é expressa pelo coeficiente de correlação linear ( $r$ ) da curva analítica e é aplicável apenas à faixa de concentração em que foi estabelecida (OTAVIANO, 2022). A faixa de trabalho em um método analítico é definida como o intervalo de concentrações que abrange o maior e menor nível de concentração do analito que podem ser determinados com precisão e exatidão. A faixa de trabalho deve ser capaz de cobrir a faixa de aplicação na qual espera-se encontrar o analito na amostra. Além disso, é preferível que a concentração mais esperada da amostra esteja posicionada no centro da faixa de trabalho, sempre que possível (RIBANI *et al.*, 2004).

A exatidão de um método refere-se à concordância entre o valor aceito como verdadeiro do analito na amostra e o valor estimado pelo método analítico. O ensaio de recuperação é o método mais comumente utilizado para validar esse parâmetro em métodos analíticos, uma vez que expressa a concentração do analito, inicialmente adicionado à amostra, que foi recuperado pelo método (RIBANI *et al.*, 2004). Considerando o ensaio de adição e recuperação, a exatidão pode ser obtida pela Equação 1.

$$\%Recuperação = \left( \frac{C_{analito\ extraido}}{C_{analito\ adicionado}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que:  $C_{analito\ extraido}$  é a concentração do composto que foi extraído pelo método em análise;  $C_{analito\ adicionado}$  é a concentração inicialmente adicionada do composto na amostra.

A precisão de um método é um parâmetro que mede a dispersão dos resultados obtidos de extrações do analito em porções similares da amostra, realizadas de forma independente e repetidas. A precisão é expressa pelo desvio padrão absoluto (RSD, *relative standard deviation*), Equação 2, que requer um número de repetições igual a seis (SANTE, 2022). A precisão de um método pode ser obtida em dois níveis distintos em um estudo intralaboratorial: repetibilidade e reprodutibilidade intralaboratorial. A repetibilidade refere-se à concordância entre os resultados de extrações sucessivas realizadas pelo método, sob as mesmas condições em um curto intervalo de tempo (analista, equipamento, lote de reagentes e solventes etc.). A reprodutibilidade intralaboratorial mede a dispersão dos resultados, em termos de RSD, de medidas consecutivas empregando o método de extração com uma ou mais alterações em suas condições experimentais durante sua execução no laboratório, tais como diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou uma combinação desses (RIBANI *et al.*, 2004).

$$RSD(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Em que:  $\bar{x}$  é a média das medidas experimentais e  $s$  é o desvio padrão absoluto das medidas.

O limite de quantificação (LOQ) se refere à menor concentração do analito em uma amostra que pode ser quantificada, com precisão e exatidão aceitáveis, empregando o método analítico sob validação. A determinação do LOQ pode ser realizada por meio de três abordagens distintas: método visual, método baseado na relação sinal-ruído ou método baseado na curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004). Quando o método envolve técnicas cromatográficas, o LOQ é

determinado pela injeção consecutiva de soluções padrão dos analitos em concentrações decrescentes até a obtenção do menor sinal distinguível do ruído da linha de base, que seja repetível (RIBANI *et al.*, 2004).

Efeito Matriz se refere ao estudo de seletividade que objetiva averiguar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz da amostra gerando, basicamente, fenômenos de diminuição ou ampliação do sinal analítico na resposta instrumental. O efeito matriz é determinado pela comparação de curvas analíticas preparadas em solvente e na matriz da amostra. A diferença nas inclinações das curvas indica a presença de efeito matriz no método, sendo mais intenso o efeito matriz quanto mais distintas são as inclinações das duas curvas analíticas (MAPA, 2011).

A robustez mede a resistência dos resultados fornecidos pelo método analítico quando este é submetido a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena em algumas de suas condições experimentais. A robustez de um método é avaliada, por exemplo, pela variação em pequena proporção de parâmetros como a porcentagem do solvente orgânico da fase móvel (FM), pH da fase móvel, temperatura da coluna, bem como o tempo de extração, velocidade de agitação etc.



## 2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para determinação do tiametoxam em amostra de latossolo vermelho utilizados no plantio de feijão. Para isso, foi empregada a técnica de extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT) e a quantificação do tiametoxam nos extratos foi realizada por meio da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE/DAD).

Para alcançar o objetivo principal desta proposta, foram executadas as seguintes etapas:

- ✓ Desenvolvimento e otimização de um método analítico de separação para a análise do agrotóxico Tiametoxam, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência e detecção por arranjo de diodos.
- ✓ Otimização das principais variáveis que afetam a ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo, tais como: massa de amostra, solvente extrator, volume de solvente extrator e de água, adição de sal e tempo de congelamento;
- ✓ Validação do método de determinação de resíduos do tiametoxam em amostras de solos de acordo com o guia de validação de métodos analíticos proposto pela Comunidade Europeia (documento SANTE/11312/2021).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Preparo das soluções padrão de tiametoxam

O preparo das soluções padrão de tiametoxam foi conduzido utilizando acetonitrila grau cromatográfico de alta pureza (99,5 %, marca Êxodo). Inicialmente, uma solução padrão de tiametoxam a uma concentração de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  foi preparada com 0,01000 g do padrão sólido do tiametoxam, pesados em uma balança de precisão ( $\pm 0,00001$  g), e transferidos para um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida, o padrão foi solubilizado em acetonitrila e o volume final foi ajustado até completar o balão volumétrico. Esta solução com concentração de  $1000 \mu\text{g L}^{-1}$  de tiametoxam foi considerada uma solução estoque.

A partir da solução estoque de tiametoxam foram preparadas soluções padrão de trabalho de tiametoxam de  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$ , da qual foram preparadas todas as demais soluções padrão utilizadas no desenvolvimento deste trabalho. Utilizando uma micropipeta de 1-100  $\mu\text{L}$ , a solução padrão de trabalho do tiametoxam foi preparada, retirando um volume de 100  $\mu\text{L}$  e transferindo para um balão volumétrico de 10 mL, que foi então completado com acetonitrila. As soluções foram transferidas para frascos flaconetes, devidamente identificados e armazenados em um freezer na geladeira até o momento de uso. Essas soluções foram utilizadas no desenvolvimento do método de análise por CLAE e na otimização do método de extração dos resíduos do agrotóxico.

#### 3.2 Processamento das amostras de solos

As amostras de solo, empregadas no estudo de otimização do método ESL-PBT e validação da metodologia analítica para determinação de resíduos de tiametoxam, foram obtidas do campo experimental do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, *campus* Ituiutaba, livres da utilização de quaisquer insumos químicos, portanto, isentas de tiametoxam. As amostras de solo foram secas a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  em estufa por 12 h e, posteriormente, maceradas com gral e pistilo de vidro até a obtenção de um pó finamente dividido e homogêneo. As amostras de solo foram então armazenadas em frascos plásticos e deixadas em refrigerador a  $+8 \text{ }^\circ\text{C}$  até o momento do uso.

Figura 2. Fluxograma do processamento das amostras de latossolo vermelho destinado ao plantio de feijão.



Fonte: Própria autora.

### 3.3 Desenvolvimento do método de análise dos extratos com tiametoxam por CLAE-DAD

O método analítico foi desenvolvido utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) da Waters, modelo Alliance. Esse sistema é equipado com bombeamento quaternário e2695, módulo automático de injeção com carrossel para 120 amostras e detectores de arranjo de fotodiodos (DAD) e índice de refração. A identificação do pico do tiametoxam nos cromatogramas foi realizada a partir da injeção da solução padrão do TMX e comparação com o tempo de retenção do pico do tiametoxam no padrão. A coluna utilizada para separação foi uma coluna ZORBAX Eclipse XDB-C18 da Agilent Technologies®.

Para a preparação da fase móvel, os solventes utilizados foram metanol grau cromatográfico/espectroscópico com 99,5 % de pureza e água ultrapura com resistividade de, pelo menos, 18,2 MΩ cm a 25 °C ou com condutividade máxima de 0,054 μS cm<sup>-1</sup> a 25 °C. Ambos os solventes foram filtrados utilizando um sistema de filtração de fase móvel, composto por um funil de placa sinterizada, uma bomba de vácuo e um kitassato de 500 mL. A filtração foi realizada através de membranas de nylon com 0,22 μm de poros. Após a filtração, os solventes foram submetidos a um banho ultrassônico por 20 minutos. A utilização do banho ultrassônico em vácuo teve como objetivo eliminar gases dissolvidos nos líquidos, evitando assim a formação de bolhas no sistema cromatográfico. Uma solução padrão de tiametoxam a 10,0 μg mL<sup>-1</sup> foi analisada no sistema cromatográfico, modificando a composição da fase móvel MeOH:água até a obtenção do pico do tiametoxam distante, pelo menos, de 3 minutos do início do cromatograma, para evitar a co-eluição com componentes da matriz dos solos. Otimizada a composição da fase móvel, foi realizada uma varredura espectral no intervalo de comprimento de onda de 200 a 400 nm para obtenção do maior sinal cromatográfico para o tiametoxam e fixação como comprimento de onda de detecção.

### 3.4 Otimização do método ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo

A ESL-PBT foi escolhida como método de preparação das amostras de solos para a extração do tiametoxam por se apresentar como um método que atende às principais demandas dos métodos de preparação de amostras modernos, tais como: simplicidade de execução, poucas etapas, uso reduzido de reagentes/solventes químicos e baixa interferência do analista. O método de extração se baseia na adição de alguns mililitros (mL) de um solvente orgânico, seletivo ao analito, a uma massa de solo previamente umedecida com água para favorecer o processo de partição do composto. Em seguida, a mistura é agitada e deixada em repouso em freezer para congelamento da fase aquosa da amostra e separação da fase líquida orgânica contendo o analito.

Para este trabalho, o método ESL-PBT foi otimizado com relação aos principais fatores que podem afetar a eficiência da extração do tiametoxam das amostras de solo. Desta forma, porções de amostras de solo foram fortificadas com concentração conhecida da solução padrão de tiametoxam de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  e submetidas ao processo de otimização da ESL-PBT. Foram estudados para otimização: a quantidade de amostra, o tipo de solvente extrator, o volume do solvente extrator e de água adicionada à amostra de solo, a adição de sal e o tempo de congelamento, visando garantir a máxima recuperação dos resíduos sem a interferência dos componentes da matriz da amostra. As condições avaliadas para estes fatores no método ESL-PBT estão descritas na Tabela 2.

*Tabela 2. Condições para otimização da ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo.*

<b>Solvente extrator</b>	<b>Massa da amostra (mg)</b>	<b>Água:solvente (v/v)</b>	<b>Massa do KCl (g)</b>	<b>Tempo de congelamento (h)</b>
Acetato de etila	500	2:4 mL	0,10	2
Acetona	1000	3:6 mL	0,20	4
Acetonitrila	1250	4:8 mL		

*Fonte: Própria autora.*

O procedimento de extração do tiametoxam de amostras de solos consistiu na adição de um volume de água (2,0; 3,0 ou 4,0 mL) com 0,1 g ou 0,2 g de KCl em uma porção de amostra (0,50; 1,00 ou 1,25 g) fortificada com padrão de tiametoxam dentro de um tubo Falcon®. Em seguida, um certo volume (4,0; 6,0 ou 8,0 mL) de um solvente extrator (acetato de etila, acetona, acetonitrila ou metanol) foi adicionado à amostra de solo umedecida e, para promover uma

melhor interação entre a amostra e o extrator, o frasco foi submetido à agitação em um agitador vórtex, seguido de centrifugação para decantação das partículas de solo. Os tubos Falcon® contendo a mistura foram transferidos para o *freezer* de um refrigerador doméstico e mantidos por 2 h ou 4 h para congelamento. Para cada condição avaliada no modo univariado, foram realizadas triplicatas das medidas.

No período em que o tubo permaneceu no freezer, ocorreu a separação das fases orgânica e aquosa, inicialmente miscíveis entre si, uma vez que a fase aquosa foi congelada, formando um sólido, enquanto a fase orgânica permaneceu líquida. O extrato orgânico líquido, que se espera conter o tiametoxam, foi cuidadosamente transferido para um frasco (*vial*) e reservado até o momento de análise no cromatógrafo a líquido. O procedimento descrito está resumido na Figura 3.

Figura 3. Fluxograma da extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura do tiametoxam de amostras de solo e análise dos extratos por CLAE-DAD.



Fonte: Própria autora.

### 3.5 Estudo da validação do método de determinação de tiametoxam de amostras de solo

A validação dos métodos realizada neste trabalho seguiu as diretrizes estabelecidas no documento de orientação para validação de métodos analíticos de resíduos e agrotóxicos em alimentos e rações proposto pela Comunidade Europeia (SANTE, 2022). A escolha desse guia foi baseada em sua especificidade para análise de resíduos de agrotóxicos, bem como nos procedimentos e critérios de aceitação claramente definidos para avaliação das figuras de mérito dos métodos analítico. Dessa forma, os parâmetros analisados foram: seletividade, linearidade

e faixa de trabalho, LOQ, sensibilidade, efeito matriz, ensaios de precisão e exatidão e a robustez.

### ***3.5.1 Seletividade***

A seletividade da metodologia proposta para a determinação de tiametoxam de amostras de solo foi avaliada a partir da comparação dos cromatogramas do extrato de uma amostra isenta de tiametoxam e do extrato da amostra fortificada com padrão de tiametoxam. A seletividade do método é confirmada pela ausência de picos de componentes da amostra no tempo de retenção do tiametoxam ou que resultem em um acréscimo ou diminuição da área do pico do tiametoxam de, no máximo, 30 % (SANTE, 2022).

### ***3.5.2 Curvas analíticas para o tiametoxam***

A construção das curvas de calibração, curvas analíticas, para o tiametoxam seguindo o documento SANTE/11312/2021, com soluções padrão preparadas em solvente e no extrato da matriz, permite a determinação da faixa de trabalho, linearidade, sensibilidade, limite de quantificação e efeito matriz da metodologia proposta para determinação do tiametoxam em amostras de solo.

#### ***3.5.2.1 Faixa de trabalho e linearidade***

De acordo com o documento SANTE/11312/2021, a linearidade do método pode ser obtida pela injeção de pelo menos 5 concentrações diferentes do agrotóxico, permitindo então a construção da curva analítica. Os dados das áreas de pico do tiametoxam para cada concentração analisada são submetidos à regressão linear para obtenção de uma equação de reta. O ajuste do modelo é confirmado pela obtenção de um coeficiente de regressão linear ( $r$ ) maior que 0,99. No presente estudo, todas as curvas analíticas foram construídas com pelo menos 5 concentrações diferentes sendo estas: 0,01; 0,10; 0,25; 0,50 e 1,00 mg L<sup>-1</sup>. Estas concentrações compuseram a faixa de trabalho ou faixa dinâmica linear, que se refere ao intervalo de concentrações em que se espera determinar o tiametoxam em amostras de solo. A menor concentração do intervalo se refere ao limite de quantificação do método (LOQ), como será visto posteriormente.

### 3.5.2.2 Sensibilidade

A sensibilidade da metodologia de determinação de resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho foi determinada a partir da medida do coeficiente angular da equação da reta da curva analítica, uma vez que a sensibilidade se refere à variação do sinal analítico obtido pelo método em função da variação da concentração do agrotóxico na amostra.

### 3.5.2.3 Efeito matriz

A presença de efeito matriz no método foi avaliada a partir da construção de curvas analíticas para o tiametoxam preparadas com soluções do padrão em solvente e nos extratos da matriz do latossolo vermelho. Qualitativamente, avaliou-se a sobreposição das retas obtidas pela regressão linear das curvas analíticas. Quantitativamente, o efeito matriz foi determinado pela Equação 3.

$$EM (\%) = \frac{S_{extrato} - S_{solvente}}{S_{solvente}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

*Em que:  $S_{solvente}$  se refere ao coeficiente angular da curva preparada a partir dos padrões de tiametoxam dissolvido em solvente;  $S_{extrato}$  se refere ao coeficiente angular da curva preparada a partir dos padrões de tiametoxam no extrato da matriz de solo.*

### 3.5.2.4 Limite de quantificação

O limite de quantificação do método foi determinado pelo método experimental, no qual soluções padrão de tiametoxam foram injetadas consecutivamente no cromatógrafo a líquido em ordem decrescente de concentrações, a partir das sucessivas diluições das soluções, até o desaparecimento do pico do tiametoxam no cromatograma. Para isso, a menor concentração de tiametoxam que gerou um pico com área repetitiva, RSD < 20 %, foi definida como o LOQ do método. Para garantir a confiabilidade do LOQ, a solução padrão na concentração do LOQ foi injetada 5 vezes e calculou-se o desvio padrão relativo destas medidas.

### 3.5.3 Ensaios de precisão e exatidão do método

A exatidão e a precisão do método de determinação de tiametoxam de amostras de latossolo vermelho foram avaliadas a partir de ensaios de adição e recuperação, ou seja,

fortificação das amostras de solo com concentrações conhecidas de tiametoxam, seguida da aplicação da ESL-PBT sob condições otimizadas para a recuperação do tiametoxam inicialmente adicionado. A exatidão e a precisão foram avaliadas em duas concentrações diferentes e próximas do LOQ do método, conforme sugerido pelo documento SANTE/11312/2021, sendo de 5×LOQ e 10×LOQ, em 6 repetições para cada nível testado.

A precisão do método foi avaliada em duas dimensões empregando o método ESL-PBT otimizado: (i) repetibilidade – seis extrações para cada nível de fortificação das amostras de solo realizadas sob as mesmas condições em um mesmo dia pelo mesmo analista; e (ii) reprodutibilidade intralaboratorial (precisão intermediária) – seis extrações das amostras de solo fortificadas em cada nível de concentração realizadas em dois dias distintos com a troca do analista. Em ambas as dimensões da precisão, o desvio padrão relativo foi medido para avaliar o grau de repetibilidade e de reprodutibilidade intralaboratorial do método proposto. O critério de aceitação para que o método seja considerado de boa precisão, de acordo com o guia da Comunidade Europeia, é que o desvio padrão relativo das medidas seja inferior a 20 %, tanto para a repetibilidade quanto para a reprodutibilidade intralaboratorial (SANTE, 2022).

A exatidão do método foi determinada pelas taxas de recuperação do tiametoxam do solo, empregando o método ESL-PBT otimizado nos dois níveis de concentração avaliados. O critério de aceitação estabelecido para quem um método analítico seja considerado exato, de acordo com o documento SANTE/11312/2021, é que a taxa de recuperação dos compostos fique na faixa de 70 a 120 % (SANTE, 2022). A porcentagem de recuperação dos agrotóxicos foi calculada de acordo com a Equação 2.

#### ***3.5.4 Avaliação da robustez pelo teste de Youden***

A robustez do método de determinação de resíduos de tiametoxam em amostras de latossolo vermelho foi avaliada a partir da aplicação do teste de Youden (YOU DEN; STEINER, 1975). Esse teste permite avaliar diversos fatores que podem exercer influência sobre a resposta do método analítico a partir de pequenas perturbações em seus níveis durante a execução do método para a finalidade que se destina. Os fatores selecionados devem ser aqueles suscetíveis a variações durante análises de rotina, na qual o método sob avaliação foi submetido.

Para a determinação da robustez pelo teste de Youden, foram conduzidos 8 ensaios da ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo, nos quais sete fatores (condições do método) foram avaliados simultaneamente através de um planejamento fatorial fracionário  $2^{7-4}$  (BARROS NETO *et al.*, 2010). Os experimentos consistiram na fortificação do solo com uma



concentração de 10×LOQ e aplicação do método ESL-PBT nas condições otimizadas e em condições em que sete fatores experimentais foram deliberadamente alterados, conforme o conjunto de experimentos propostos pelo teste de Youden apresentados na Tabela 3.

*Tabela 3. Matriz do planejamento de experimentos para a avaliação da robustez dos métodos analíticos propostos, empregando o teste de Youden.*

Fatores	Experimentos								Condições	
	1	2	3	4	5	6	7	8	Otimizada	Alterada
Volume de solvente (mL)	A	A	A	A	a	a	a	a	4	4,5
Tempo de congelamento (h)	B	B	b	b	B	B	b	b	2	2,5
Massa de amostra (mg)	C	c	C	c	C	c	C	c	1000	1025
Solvente (marca)	D	D	d	d	d	d	D	D	Êxodo	Dinâmica
Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	E	e	E	e	e	E	e	E	1,0	0,9
FM (% MeOH)	F	f	f	F	F	f	f	F	30	32
Temperatura (°C)	G	g	g	G	g	G	G	g	30	32

**Letras em maiúsculo:** valores originais do método otimizado; **Letras em minúsculo:** valores deliberadamente variados no método otimizado. Fonte: Adaptado de (STEINER; YOUNDEN, 1975).

A avaliação da robustez do método foi realizada calculando os efeitos de cada fator na variação das taxas de recuperação do tiametoxam das amostras de latossolo vermelho, quando do emprego do método nas condições otimizadas e sob condições com pequenas variações. Os métodos propostos são considerados robustos quando as variações na resposta para cada fator estão dentro do intervalo de recuperação aceito pelo documento SANTE/11312/2021 de 70 a 120 %. Os efeitos de cada fator nas taxas de recuperação foram calculados pela Equação 4.

$$\text{Efeito}(A - a) = \bar{R}_A - \bar{R}_a \quad \text{Equação 4}$$

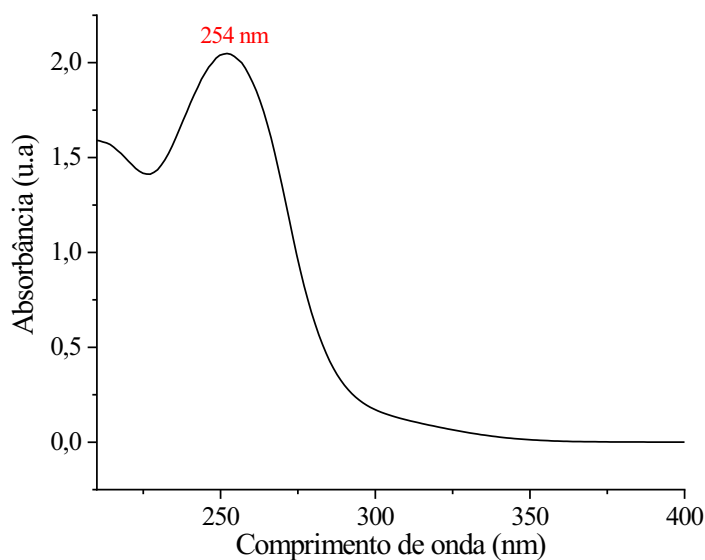
Em que:  $\bar{R}_A$  é a média das taxas de recuperação para o fator A na condição otimizada do método;  $\bar{R}_a$  é a média das taxas de recuperação para o fato a na condição alterada de forma deliberada no método.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Otimização do método de análise dos extratos de solo contendo tiametoxam

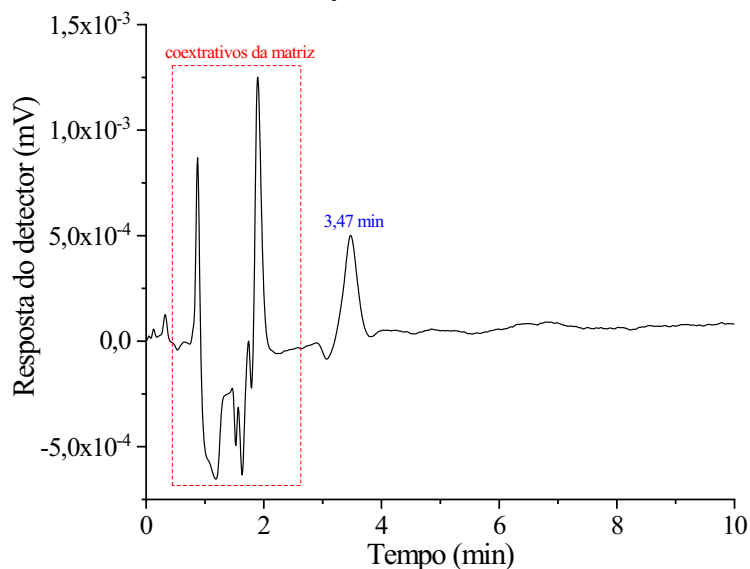
Com o objetivo de otimizar as condições cromatográficas para análise do tiametoxam nos extratos de solo obtidos pela ESL-PBT, uma solução padrão do inseticida foi submetida a análise por CLAE-DAD, variando-se as condições da fase móvel. Essas variações foram realizadas com o intuito de separar o pico do analito de possíveis interferentes da própria amostra em um tempo total de análise reduzido. Dentre as diversas condições testadas, aquela que resultou na melhor separação foi obtida com uma fase móvel de água:metanol (H<sub>2</sub>O:MeOH) na proporção de 70:30 (v/v). Além disso, a temperatura da coluna foi mantida em 30 °C, a vazão da fase móvel foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e o comprimento de onda selecionado para detecção foi de 254 nm, conforme demonstrado na Figura 4, que apresenta o espectro de absorção na região UV do tiametoxam. O tempo total de análise foi estabelecido em 6 minutos para a corrida cromatográfica utilizando um método isocrático.

Figura 4. Espectro de absorção do comprimento de onda do inseticida tiametoxam.



A Figura 5 apresenta um cromatograma da separação do tiametoxam dos componentes coextraídos de uma amostra de solo submetida ao método ESL-PBT sob condições otimizadas.

Figura 5. Cromatograma de um extrato de amostra de solo fortificada com tiametoxam a  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ , obtida pelo método ESL-PBT em condições otimizadas. Condições de análise: FM  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$  (70:30, v/v), vazão de FM de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , injeção de  $10 \mu\text{L}$ , temperatura de coluna de  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , detecção a  $254 \text{ nm}$ .



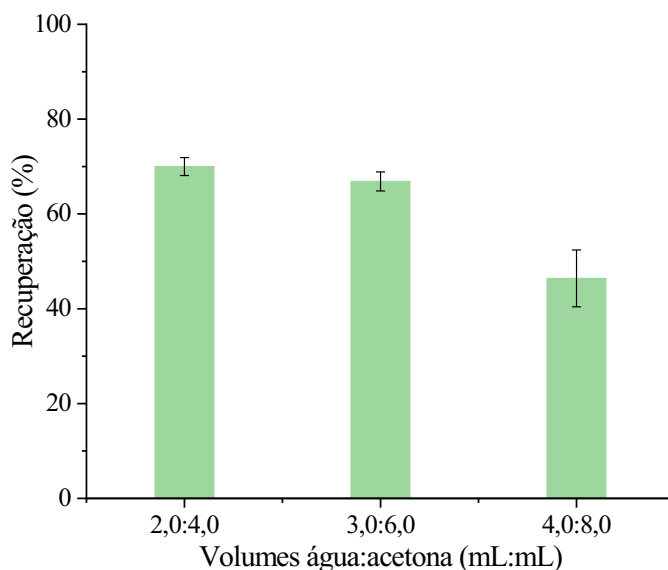
## 4.2 Otimização do método ESL-PBT de tiametoxam de amostras de solo

A eficiência da extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT) pode ser afetada por diversos fatores, incluindo a seletividade do solvente extrator, a massa de amostra, o tempo de congelamento, o volume do solvente extrator, entre outros. A eficiência da extração é altamente dependente das condições experimentais adequadas do método de preparação de amostra (AMBRÓSIO *et al.*, 2022).

### 4.2.1 Volume do solvente extrator

Para obtenção da máxima porcentagem de recuperação do tiametoxam das amostras de solo pelo método ESL-PBT, o primeiro fator otimizado foi o volume de solvente extrator, que foi fixado em uma relação 1:2 com o volume de água adicionado à amostra de solo, para promover a partição do analito da amostra para o extrator. O solvente empregado foi a acetona, por ser considerado o solvente mais adequado para extração de compostos orgânicos de solos (TADEO *et al.*, 2012). Foram testados os volumes de água:acetona de 2,0:4,0; 3,0:6,0 e 4,0:8,0 mL. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 6.

Figura 6. Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes volumes de água e acetona. Condições: 1000 mg de amostra; acetona como solvente extrator; sem adição de sal e 4h de congelamento.

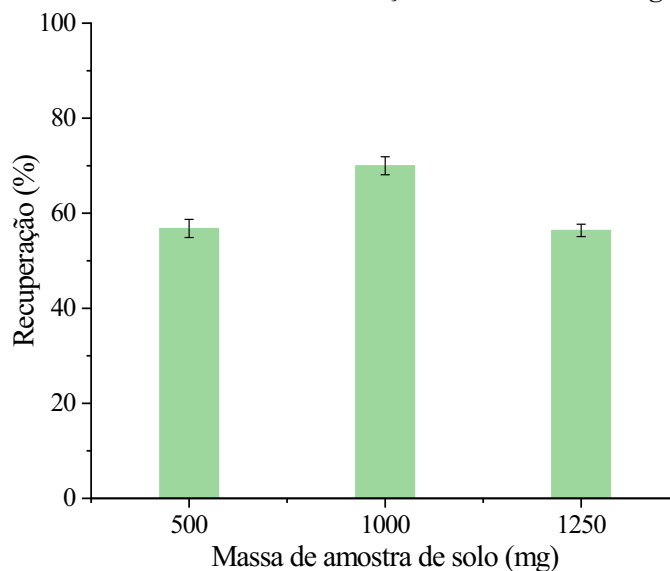


De acordo com a Figura 6, pode-se observar que o volume de 4,0 mL de acetona para 2,0 mL de água foi a combinação que resultou na maior taxa de extração do tiametoxam das amostras de solo, cerca de 70 % de recuperação. Este resultado está de acordo com os objetivos deste trabalho de desenvolver um método de extração que utilize o menor volume possível de solvente orgânico e, conseqüentemente, gere o menor volume de resíduos possível, tornando o método mais compatível com os princípios da química analítica verde (TOBISZEWSKI, 2016).

#### 4.2.2 Escolha da massa de amostra

Após a otimização da razão água:solvente (em mL), foi avaliada a recuperação do tiametoxam utilizando diferentes massas da amostra do latossolo vermelho, 500 mg; 1000 mg e 1250 mg. É importante mencionar que a massa de amostra tem fundamental importância no dimensionamento do método ESL-PBT, em termos de volume de solvente e de água adicionado e no tempo de congelamento (SANTANA *et al.*, 2018). Os resultados da extração do tiametoxam de diferentes massas de amostras de solo são apresentados na Figura 7.

Figura 7. Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes massas do latossolo vermelho. Condições: volume água:acetona 2:4 mL; acetona como solvente extrator; sem adição de sal e 4h de congelamento.

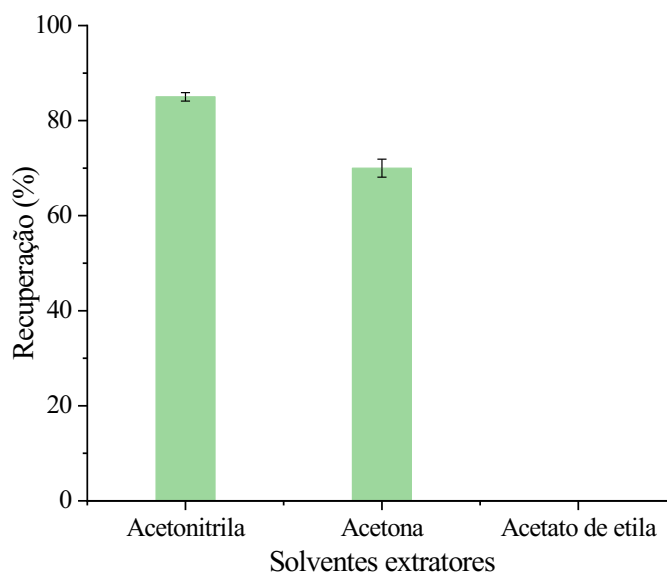


Na Figura 7, pode-se observar que a maior porcentagem de recuperação foi obtida quando utilizada uma massa de 1,00 g de amostra de latossolo vermelho, permanecendo em 70 % da extração do tiametoxam do solo, enquanto massas de solo menores ou maiores diminuiram esta taxa. Assim, fixou-se no método o uso de 1,00 g de amostra de solo como a condição ótima de execução do método ESL-PBT.

#### 4.2.3 Escolha do solvente extrator

A ESL-PBT apresenta algumas vantagens sobre outros métodos de extração, como o baixo consumo de solvente orgânico, o uso de poucos ou nenhum reagente químico adicional no processo de extração e a eliminação de uma etapa de limpeza do extrato, frequentemente necessários em outros métodos. Na ESL-PBT, portanto, normalmente se emprega o solvente extrator como único insumo químico para a execução do método. Dentre os solventes potenciais extratores para o método, deve-se escolher aquele que seja miscível em água e que possua densidade e temperatura de fusão menores que a da água (SANTANA *et al.*, 2018). Os solventes escolhidos para avaliação neste trabalho foram: acetona, acetato de etila e acetonitrila, que atendem a esses requisitos. Os resultados obtidos na extração de tiametoxam de amostras de solo pelo método ESL-PBT estão apresentados na Figura 8.

Figura 8. Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes solventes extratores. Condições: volume água: acetona 2:4 mL; massa de amostra 1000 mg; adição de sal e 2h de congelamento.



Dos três solventes avaliados, não foi obtido sucesso no congelamento ao utilizar o acetato de etila. Portanto, foram realizadas análises comparativas apenas com acetona e acetonitrila, como apresentado na Figura 8. Ao empregar a acetonitrila como solvente extrator houve um aumento da taxa de recuperação do tiametoxam do solo para cerca de 85 % de extração. Esta condição atende ao intervalo de recuperações aceitáveis para um método analítico de 70 a 120 %, conforme preconizado pelo guia de validação de métodos analíticos da Comunidade Europeia (SANTE, 2022). Além disso, a acetonitrila é o solvente mais comumente usado na extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura devido às suas características favoráveis, como formação de mistura homogênea com a água, menor densidade que a água, compatibilidade com diversas classes de compostos, compatibilidade ao ser usado como extrator no preparo da amostra e como fase móvel na análise cromatográfica, além de ser adequado para solubilização de agrotóxicos de diferentes polaridades (BERNARDI *et al.*, 2016).

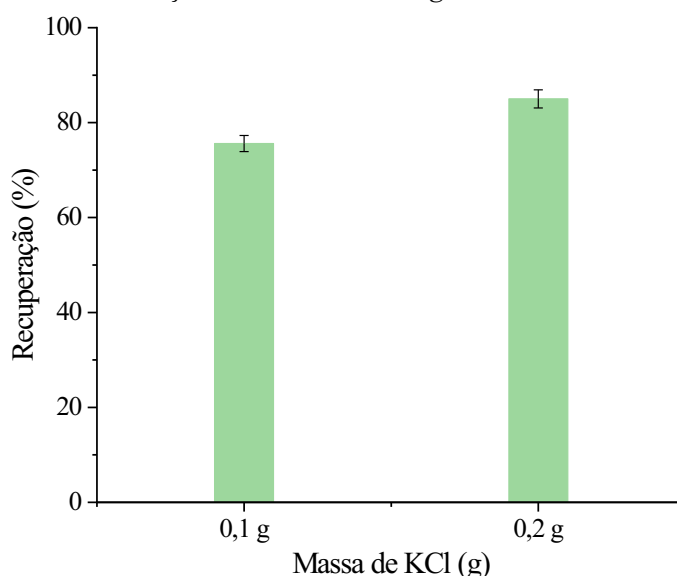
#### 4.2.4 Efeito da adição de sal

Foi investigada a possibilidade de obter uma recuperação maior de tiametoxam das amostras, adicionando-se um sal inorgânico, totalmente solúvel em água, a fim de promover o

efeito *salting out*. A adição de sais tem o efeito de reduzir a solubilidade de analitos polares (assim como o tiametoxam) na fase aquosa, bem como a quantidade de água presente na fase orgânica, provocando a separação eficiente e completa das fases orgânica e aquosa (PRESTES *et al.*, 2011). Essa observação pode ser explicada pelo fato de que os íons provenientes do sal têm uma maior afinidade pelas moléculas de água, atraindo-as. Com o aumento da concentração do sal (aumento da força iônica), as moléculas deixam de ser solvatadas, isso leva a uma diminuição drástica na solubilidade das moléculas, facilitando sua partição para a fase orgânica (DUARTE; MALAQUIAS, 2020).

Na pesquisa em questão, o sal utilizado foi o cloreto de potássio (KCl) em duas massas diferentes 0,1 e 0,2 g, que correspondeu a 10 e 20 % (m/v) na água adicionada à amostra de solo. Os resultados obtidos com o processo de extração empregando as soluções aquosas de KCl estão apresentados na Figura 9.

*Figura 9. Porcentagem de recuperação de tiametoxam de amostras de solo após a ESL-PBT, empregando diferentes massas de sal (KCl) à água para promoção do efeito salting out. Condições: volume água:acetona 2:4 mL; massa de amostra 1000 mg; acetonitrila como solvente extrator; adição de sal e 2h de congelamento.*



De acordo com a Figura 9, a presença de KCl na água adicionada ao solo aumenta a porcentagem de extração, à medida que aumenta a quantidade do sal. Além disso, foi observado um efeito de redução no tempo mínimo de congelamento da amostra na fase aquosa, que ocorreu em 2 h ao invés das 4 h quando se utilizou apenas água. Isso ocorre porque a adição de sal provoca uma redução do potencial químico da água, alterando assim as posições de equilíbrio sólido-líquido. Essas mudanças nas posições de equilíbrio resultam no abaixamento

da temperatura de congelamento da água, fenômeno conhecido como abaixamento crioscópico (CASTELLAN, 1986). Considerando a massa de KCl de 0,2 g a taxa de recuperação do tiametoxam do solo foi de 85 %.

Durante o estudo da otimização do método ESL-PBT, foi possível observar a evolução dos resultados de porcentagem de recuperação do inseticida nas amostras do latossolo vermelho. Com base nesses últimos resultados, foram definidos os seguintes parâmetros otimizados para a ESL-PBT de tiametoxam de amostras de latossolo vermelho: volumes de 2,0:4,0 mL de água:acetonitrila, massa de 1000 mg de amostra, acetonitrila como solvente extrator e adição de uma quantidade de 0,20 g de KCl, promovendo o efeito *salting out*, que permitiu reduzir o tempo de congelamento para 2 h e obter uma taxa de recuperação de 85 % de tiametoxam. Dessa forma, ao implementar esses parâmetros otimizados, foi possível obter resultados de recuperação do inseticida, dentro do intervalo de 70 a 120 %, recomendado pelos protocolos de validação de métodos analíticos, garantindo uma abordagem simples, eficiente e econômica para o processo de extração do tiametoxam em latossolo vermelho.

### **4.3 Validação do método de determinação de tiametoxam em solos**

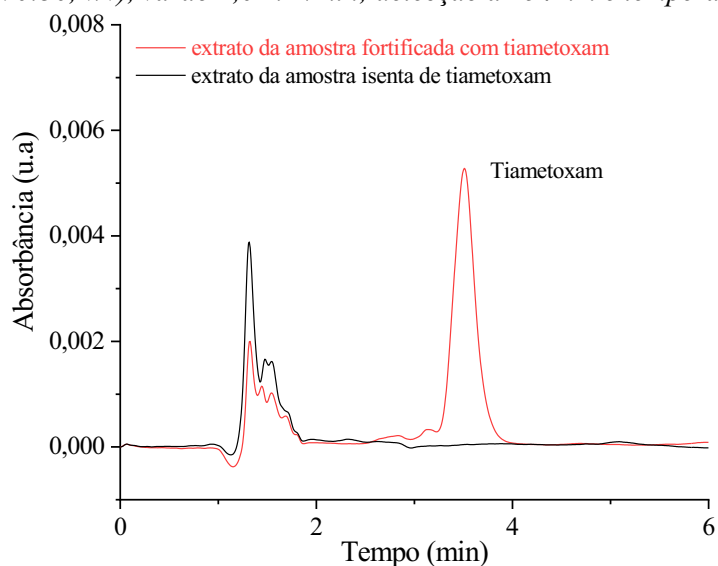
A validação de um método analítico é realizada por estudos sistemáticos produzidos no laboratório, indicando que o método atende às normas estabelecidas por agências reguladoras e órgãos de fiscalização nacionais e/ou internacionais. Esta validação pode ser averiguada através de parâmetros conhecidos como figuras de méritos. No presente trabalho, foi empregado o guia de validação da Comunidade Europeia documento SANTE/11312/2021 (SANTE, 2022), avaliando as figuras de mérito: seletividade, linearidade e faixa de trabalho, LOQ, efeito matriz, precisão, exatidão e robustez.

#### **4.3.1 Seletividade**

A seletividade do método proposto para determinar tiametoxam em um solo do tipo latossolo vermelho, destinado ao plantio de feijão, foi avaliada por meio da análise comparativa de cromatogramas. Nesse processo, foram comparados o cromatograma dos extratos de um branco e de uma amostra fortificada com tiametoxam, que foram obtidos pelo método ESL-PBT otimizado. A Figura 10 apresenta os dois cromatogramas sobrepostos.



Figura 10. Cromatogramas sobrepostos do extrato do branco da amostra de latossolo vermelho e do extrato da amostra fortificada com tiametoxam obtidos pelo método ESL-PBT otimizado. FM  $H_2O:MeOH$  (70:30, v/v), vazão 1,0 mL /min; detecção a 254 nm e temperatura de 30 °C.



Ao analisar a Figura 10, é possível observar que o agrotóxico em estudo é eluído como um pico isolado no cromatograma, sem a presença de interferências provenientes dos componentes da matriz no seu tempo de retenção. Conforme estabelecido pelo documento SANTE/11312/2021, um método pode ser considerado seletivo quando o analito não é afetado pelos coextrativos presentes na matriz da amostra ou afetado em no máximo 30 % da sua área de pico inicial. Com base nessa condição, pode-se afirmar que o método de análise desenvolvido é seletivo para determinação de resíduos de tiametoxam em amostras de latossolo vermelho.

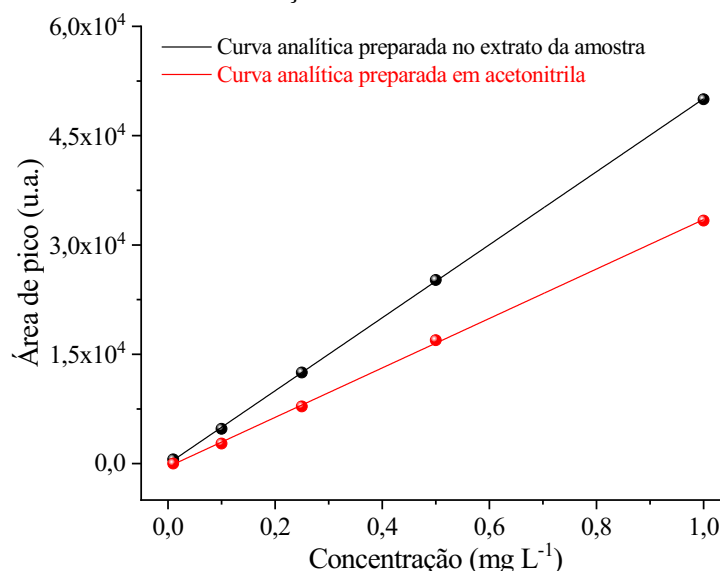
### 4.3.2 Curvas analíticas para quantificação do tiametoxam

#### 4.3.2.1 Faixa de trabalho, linearidade e sensibilidade

Com o objetivo de avaliar a linearidade do método proposto, foram construídas duas curvas analíticas utilizando diferentes métodos de calibração. A primeira curva foi construída em acetonitrila, empregando o método do padrão externo, enquanto a segunda curva analítica foi preparada no extrato da amostra, utilizando o método da calibração na matriz. A faixa de concentração empregada para a construção das duas curvas analíticas foi de 0,010 a 1,000 mg

L<sup>-1</sup> de tiametoxam. A Figura 11 apresenta as curvas analíticas obtidas para o tiametoxam por meio dos métodos mencionados.

Figura 11. Curvas analíticas para o tiametoxam obtidas pelo método do padrão externo e pelo método da calibração no extrato da matriz.



Com base nas curvas analíticas ilustradas na Figura 11, foram determinados os seus parâmetros analíticos que estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros analíticos das curvas pelo método do padrão externo (preparada em solvente) e pelo método da adição padrão (preparada no extrato).

Parâmetros analíticos	Curvas analíticas	
	Preparada em solvente	Preparada no extrato da matriz
Coef. regressão (r)	0,99961	0,99994
Coef. determinação (R <sup>2</sup> )	0,99981	0,99997
Coeficiente angular	33929,7	50096,4
Coeficiente linear	444,8	31,0
Equação da reta	$A = 444,8 + 33929,7 \times C_{\text{TMX}}$	$A = 31,0 + 50096,4 \times C_{\text{TMX}}$
Faixa de trabalho (mg L <sup>-1</sup> )	0,010 a 1,000	0,010 a 1,000

Ao analisar a Tabela 4, pode-se observar que os coeficientes de regressão linear (r) e de determinação (R<sup>2</sup>) obtidos para as duas curvas analíticas apresentaram valores superiores a 0,99 que é o critério de aceitação estabelecido pelo documento SANTE/11312/2021 (SANTE, 2022) para a linearidade do método. Com base nisso, pode-se afirmar que os modelos lineares

ajustados aos dados das curvas analíticas do tiametoxam são adequados para realizar as determinações analíticas do inseticida na matriz de latossolo vermelho. É importante enfatizar que o método analítico, portanto, demonstrou uma boa linearidade de resposta para o inseticida quando determinado na matriz de solo. A faixa de trabalho foi escolhida com base na menor concentração do tiametoxam quantificável pelo método, de  $0,010 \text{ mg L}^{-1}$  até  $100\times$  esse valor, e foi considerada adequada para quantificar a presença de resíduos de tiametoxam em amostras de latossolo vermelho.

Ainda de acordo com a Tabela 4, a sensibilidade do método é maior quando empregada a curva analítica preparada no extrato da matriz, pois apresenta maior coeficiente angular da equação da reta que a curva preparada em acetonitrila,  $50096$  vs.  $33930 \text{ L mg}^{-1}$ . Isso significa que a curva preparada na matriz do solvente fornece ao método analítico maior capacidade de discriminar pequenas variações na concentração do tiametoxam nas amostras de solo.

#### 4.3.2.2 Efeito matriz

Com o propósito de avaliar a presença de efeito matriz no método analítico desenvolvido, foi adotado o procedimento recomendado pelo documento SANTE/11312/2021 (SANTE, 2022). O efeito matriz foi avaliado qualitativamente pela comparação das inclinações das curvas analíticas preparadas em acetonitrila e no extrato da matriz de solo, Figura 11. Segundo o referido documento, o indicativo qualitativo do efeito matriz em um método analítico é confirmado quando não há sobreposição das duas curvas analíticas. Como observado na Figura 11, existe efeito matriz no método proposto para determinação de tiametoxam de amostras de solo, uma vez que as inclinações das duas curvas analíticas são diferentes.

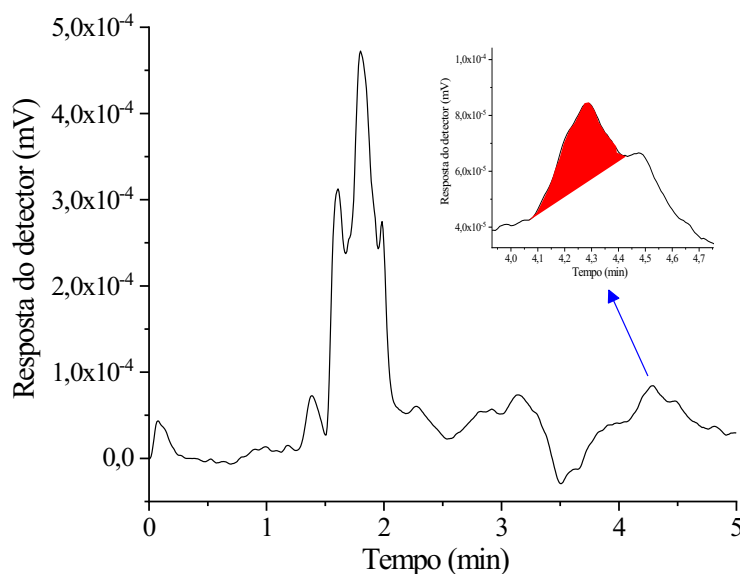
Além da avaliação qualitativa mencionada, o efeito matriz também foi avaliado quantitativamente por meio do cálculo do percentual do efeito matriz (%EM) no método proposto, utilizando-se da Equação 3. Com base nos coeficientes angulares obtidos para as duas curvas analíticas em acetonitrila e no extrato, foi obtido uma %EM de 32 %. Este valor indica que o efeito matriz do método analítico é moderado (ECONOMOU *et al.*, 2010). Quando a variação percentual é inferior a 20 %, o efeito matriz é considerado negligenciável. Já quando a variação está na faixa de 20 % a 50 %, o efeito matriz é considerado moderado e a quantificação do tiametoxam deverá ser realizada pela equação da reta obtida para a curva preparada no extrato da matriz, uma vez que esta compensa o efeito matriz do método (ECONOMOU *et al.*, 2009). Em análises de amostras complexas como o solo, o efeito de matriz é sempre evidente (PINHO *et al.*, 2009).

#### 4.3.2.3 Limite de quantificação

O LOQ de um método analítico é uma medida crucial, pois representa a menor concentração do analito em uma matriz que o método consegue quantificar com precisão e exatidão aceitáveis. No caso de contaminantes orgânicos como os agrotóxicos, que são normalmente encontrados em níveis inferiores a partes por milhão (ppm) nas amostras, é de extrema importância que o LOQ seja o menor possível, permitindo assim uma maior detectabilidade do método analítico.

No método desenvolvido neste estudo, o LOQ foi determinado por meio da injeção sequencial de soluções padrão do tiametoxam em concentrações decrescentes. A menor concentração que gerou um pico para o tiametoxam discriminado da linha de base e com área repetitiva foi definida como o LOQ. O valor obtido do LOQ para o tiametoxam em latossolo vermelho foi de  $0,010 \text{ mg L}^{-1}$  e o cromatograma desta determinação está apresentado na Figura 12. Para a confirmação do LOQ, a solução na concentração de  $0,01 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  foi injetada 5 vezes e o desvio padrão relativo medido foi de 10,0 %, inferior aos 20 % definido pelo documento SANTE/11312/2021 como o máximo aceitável. Este valor de concentração do tiametoxam equivale, de acordo com as condições do método ESL-PBT otimizado, a um teor de  $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$  de tiametoxam no solo. Como não há referência para o limite de tiametoxam tolerável no solo, comparou-se esse valor com o limite máximo residual (LMR) para o tiametoxam em grãos de feijão que é de  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ , de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2019). Esse resultado demonstra que o método proposto possui uma detectabilidade adequada para quantificar resíduos de tiametoxam na matriz de latossolos vermelhos.

Figura 12. Cromatograma de uma solução a  $0,010 \text{ mg L}^{-1}$  de tiametoxam, empregando CLAE-DAD nas condições otimizadas de análise.



### 4.3.3 Precisão da metodologia

Quando são propostos novos métodos analíticos, é essencial avaliar a precisão e exatidão deste novo método. A precisão de um método pode ser determinada em dois níveis distintos dentro do laboratório: repetibilidade e reprodutibilidade intralaboratorial, conforme definido pelo guia (SANTE, 2022). Estes níveis de precisão do método de determinação de tiametoxam em amostras de solo foram validados neste trabalho.

#### 4.3.3.1 Repetibilidade

A repetibilidade do método desenvolvido foi avaliada utilizando a amostra de latossolo vermelho fortificada com o padrão de tiametoxam em sextuplicata, seguindo as recomendações do documento SANTE/11312/2021, nas quais todas as condições de execução do método foram mantidas constantes em curto intervalo de tempo, incluindo o mesmo analista (SANTE, 2022). A amostra foi fortificada em duas concentrações, correspondentes a  $5\times$  e  $10\times$ LOQ, com seis repetições cada e submetida ao método ESL-PBT otimizado, sendo os extratos analisados por CLAE-DAD. A repetibilidade do método foi expressa por meio do desvio padrão relativo (RSD) dos resultados obtidos para as réplicas em cada nível de concentração avaliado. Os resultados obtidos para estas medidas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados da precisão, no nível de repetibilidade, do método ESL-PBT para determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de solo ( $n = 6$ ).

$C_{\text{Tiametoxam}}$ (mg L <sup>-1</sup> )	Replicatas	Recuperação (%)	RSD (%)
0,050 (5×LOQ)	1	81,2	5,7
	2	87,2	
	3	94,2	
	4	94,0	
	5	86,0	
	6	90,7	
0,100 (10×LOQ)	1	91,4	3,1
	2	96,1	
	3	90,7	
	4	96,8	
	5	93,2	
	6	97,5	

Os valores de RSD obtidos para as medidas realizadas em sextuplicata de extrações de tiametoxam do latossolo vermelho empregando a ESL-PBT otimizada foram de 5,7 % e de 3,1 % para os níveis de 5×LOQ e 10×LOQ, respectivamente. Esses valores estão abaixo do limite aceitável de RSD < 20 %, estabelecido pelo documento SANTE/11312/2021 para garantir a precisão do método. Portanto, pode-se concluir que o método proposto para determinação de resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho apresenta uma boa repetibilidade, uma vez que os valores de RSD estão dentro dos critérios de aceitação estabelecidos.

#### 4.3.3.2 Reprodutibilidade intralaboratorial

Para avaliar a reprodutibilidade intralaboratorial do método analítico de determinação de resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho, foi seguido o protocolo estabelecido no documento SANTE/11312/2021 (SANTE, 2022). Foram realizadas extrações por meio do método ESL-PBT otimizado em sextuplicata, utilizando amostras de solo fortificadas em dois níveis de concentração do tiametoxam: 5×LOQ e 10×LOQ. Essas análises foram executadas de forma idêntica, mantendo as mesmas condições experimentais, porém sendo realizadas em dois dias diferentes e com a participação de dois analistas.

A precisão intermediária foi expressa pelo desvio padrão relativo (RSD), que permite avaliar a variação dos resultados entre as replicatas das medidas realizadas em diferentes dias

por diferentes analistas. Os resultados obtidos para as medidas de reprodutibilidade intralaboratorial podem ser encontrados na Tabela 6.

*Tabela 6. Resultados da precisão, no nível de reprodutibilidade intralaboratorial, do método ESL-PBT para determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de solos (n = 12).*

C <sub>Tiametoxam</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Réplicas	Recuperação (%)		RSD (%)
		1º dia Analista A	2º dia Analista B	
0,050 (5×LOQ)	1	81,2	74,0	10,0
	2	87,2	70,5	
	3	94,2	75,4	
	4	94,0	80,0	
	5	86,0	74,5	
	6	90,7	76,7	
0,100 (10×LOQ)	1	91,4	83,5	6,2
	2	96,1	85,2	
	3	90,7	89,2	
	4	96,8	84,6	
	5	93,2	88,4	
	6	97,5	80,5	

Essa análise da precisão intermediária é fundamental para verificar a confiabilidade e a consistência do método analítico quando uma outra condição do método não é possível de ser totalmente atendida. De acordo com a Tabela 6, os valores de RSD para as medidas em sextuplicata nos dois níveis de fortificação da matriz de latossolo vermelho foram de 10,0 % e 6,2 %, respectivamente para 5×LOQ e 10×LOQ, ficando abaixo do limite de 20 %, conforme recomendado pelo documento SANTE/11312/2021. Esses resultados indicam uma excelente precisão intermediária do método analítico, demonstrando sua capacidade em fornecer resultados consistentes, mesmo quando executado por diferentes analistas e em dias diferentes. Essa boa precisão intralaboratorial é essencial para garantir a confiabilidade das determinações de tiametoxam nas amostras de solo.

#### **4.3.4 Exatidão (Ensaio de adição e recuperação)**

Para avaliar a exatidão do método proposto para a determinação de tiametoxam em latossolo vermelho, foram realizadas extrações em sextuplicata de amostras de solo fortificadas em dois níveis de concentração de tiametoxam, correspondentes a 5×LOQ e 10×LOQ, ou seja,

0,050 mg L<sup>-1</sup> e 0,100 mg L<sup>-1</sup>. As análises foram conduzidas em dois dias diferentes com troca de analistas. A exatidão do método foi estimada com base nos valores percentuais de recuperação do inseticida, após a extração realizada pelo método ESL-PBT otimizado. Os resultados da taxa de recuperação do tiametoxam estão apresentados na Tabela 7.

*Tabela 7. Taxas de recuperação do tiametoxam nas amostras de solos pelo método ESL-PBT.*

<b>C<sub>Tiametoxam</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Analista A – dia 1</b>		<b>Analista B – dia 2</b>	
	<b>C<sub>TMX</sub> (mg L<sup>-1</sup>) recuperada</b>	<b>% Recuperação</b>	<b>C<sub>TMX</sub> (mg L<sup>-1</sup>) recuperada</b>	<b>% Recuperação</b>
0,050 (5×LOQ)	0,081	81,2	0,074	74,0
	0,087	87,2	0,070	70,5
	0,094	94,2	0,075	75,4
	0,094	94,0	0,080	80,0
	0,086	86,0	0,074	74,5
	0,090	90,7	0,076	76,7
0,100 (10×LOQ)	0,091	91,4	0,083	83,5
	0,096	96,1	0,085	85,2
	0,091	90,7	0,089	89,2
	0,097	96,8	0,084	84,6
	0,093	93,2	0,088	88,4
	0,097	97,5	0,080	80,5

De acordo com as diretrizes do guia de validação da Comunidade Europeia e com os resultados da Tabela 7, a porcentagem de recuperação de agrotóxicos em matrizes alimentícias estão dentro da faixa de 70 a 120 %. Para amostras mais complexas como as amostras de solos, essa variação pode ser ainda mais ampla, de 30-140%, desde que os resultados apresentem uma precisão com RSD ≤ 20 % (SANTE, 2022). Com base nos dados da Tabela, as porcentagens de recuperação do tiametoxam em latossolo vermelho, utilizando o método ESL-PBT otimizado, situaram-se entre 70,5 % e 97,5 %, nos níveis de fortificação das amostras próximos do limite instrumental, sendo assim, os resultados obtidos foram satisfatórios independentes da mudança de dias de realização do método e do analista, indicando que o método proposto apresenta uma boa exatidão na determinação de resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho destinado ao plantio de feijão, garantindo a confiabilidade na aplicação do método para esta finalidade.

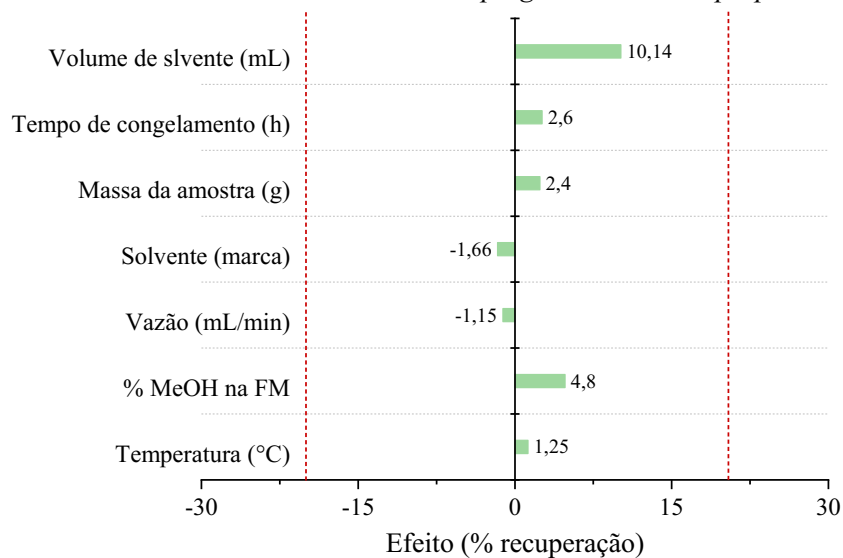


#### 4.3.5 Robustez via teste de Youden

A fim de avaliar a robustez do método de determinação de tiametoxam em amostras de latossolo vermelho, utilizou-se o teste de Youden (YOU DEN; STEINER, 1975). Foram realizadas pequenas alterações nas condições otimizadas de sete variáveis do método proposto. Conforme proposto por Youden, foram conduzidas oito extrações de tiametoxam em latossolo vermelho utilizando o método ESL-PBT. Essas extrações combinaram as condições otimizadas e moderadamente alteradas das sete variáveis. Essas modificações buscam representar variações mínimas que podem ocorrer durante as análises de rotina.

Assim, a robustez do método analítico foi determinada a partir da diferença nas taxas de recuperação de tiametoxam entre a condição ótima e a condição alterada para as sete variáveis estudadas. Os resultados destes efeitos estão apresentados na Figura 13.

Figura 13. Efeito dos fatores avaliados no estudo de robustez do método de determinação de tiametoxam em latossolo vermelho, empregando o método proposto.



Ao analisar o gráfico presente na Figura 13, é possível constatar que, para cada fator analisado (temperatura da coluna, porcentagem de metanol na fase móvel, vazão da fase móvel, marca de metanol, massa da amostra, tempo de congelamento e volume de solvente extrator), os efeitos das pequenas variações deliberadamente realizadas nos fatores não resultaram em variações significativas na taxa de recuperação do tiametoxam. A maior diferença nas taxas de recuperação foi identificada na alteração do volume de solvente extrator (acetoneitrila) no método ESL-PBT. Essa mudança afetou a porcentagem de recuperação, causando uma influência de +10,14 % na resposta, ou seja, aumentou de 85 % para cerca de 94 % de extração

do tiametoxam. É válido destacar que a variação de recuperação, conforme as exigências estabelecidas pelo guia SANTE/11312/2021, se manteve dentro da faixa de 70 a 120 % para todas as condições analisadas. Dessa forma, pode-se afirmar que o método demonstra robustez para determinação de tiametoxam em amostras de solo em uma análise de rotina.

## 5 CONCLUSÕES

Neste estudo, foi desenvolvido e otimizado um método de extração (ESL-PBT) de resíduos de tiametoxam em latossolo vermelho, utilizado no plantio de feijão. A análise foi realizada por CLAE-DAD. Os resultados obtidos demonstraram uma eficiente recuperação dos resíduos e uma detectabilidade adequada, inferior ao limite máximo de resíduos de tiametoxam em feijão, estabelecidos por órgãos regulamentadores. A metodologia ESL-PBT otimizada pode ser considerada simples, de fácil execução por ser constituída de poucas etapas e com pouca manipulação por parte do analista, empregando um único solvente químico em baixo volume para a extração do tiametoxam de amostras de solo, alcançando rendimentos percentuais próximos a 100%.

A avaliação das figuras de mérito do método proposto, como seletividade, limite de quantificação, linearidade, efeito matriz, exatidão/precisão e robustez, revelou que o método é adequado para o propósito desejado, ou seja, determinação de resíduos de tiametoxam de amostras de latossolo vermelho destinado ao plantio de feijão, atendendo aos critérios de aceitação estabelecidos pelas agências reguladoras nacionais e internacionais. Embora o detector por arranjo de diodos não apresente a mesma sensibilidade da espectrometria de massas, os valores de LOQ obtidos para o tiametoxam foram menores que os limites máximos residuais para o inseticida em outras matrizes, já que não há referência para solos.

Esses resultados evidenciam a eficácia do método de extração (ESL-PBT) desenvolvido neste estudo, se apresentando como um protocolo analítico adequado para monitorar os resíduos de tiametoxam em amostras de solos do cultivo de plantas de feijão, que estão sendo submetidas a diferentes tratamentos com o inseticida em experimento realizado na Casa de Vegetação, instalada na Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Pontal.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSIO, I.S.; OTAVIANO, C.M.; CASTILHO, L.M.B.; SANTOS, A.L.R.; MENDONÇA, J.S.; FARIA, A.M. Development and validation of a solid-liquid extraction with low-temperature partitioning method for the determination of fipronil in turtle eggshell. *Microchemical Journal*, v. 178, 107393, **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107393>
- ANTUNES-KENYON, S. E.; KENNEDY, G. Thiamethoxam: A new active ingredient review. Massachusetts: Pesticide Bureau, **2001**. Disponível em: [http://www.state.ma.us/dfa/pesticides/water/REVIEW\\_THIAMETHOXAM.pdf](http://www.state.ma.us/dfa/pesticides/water/REVIEW_THIAMETHOXAM.pdf), acesso em 22 abr. 2023.
- BARBOSA, F.R. Desafios ao controle de pragas na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*): região Nordeste. 2006. *IN: Seminário sobre pragas, doenças e plantas daninhas do feijoeiro*. Campinas: IAC, **2006**. 22p. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/33857/1/OPB669.pdf>
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2010.
- BERNARDI, G.; KEMMERICH, M.; RIBEIRO, L.C.; ADAIME, M.B.; ZANELLA, R.; PRESTES, O.D. An effective method for pesticide residues determination in tobacco by GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS employing acetonitrile extraction with low-temperature precipitation and d-SPE clean-up. *Talanta*, v. 161, p. 40-47, **2016**. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.015>
- BORTOLUZZI, E.C.; RHEINHEIMER, D.S.; GONÇALVES, C.S.; PELLEGRINI, J.B.R.; ZANELLA, R.; COPETTI, A.C.C. Contaminação de águas superficiais por agrotóxicos em função do uso do solo numa microbacia hidrográfica de Agudo, RS. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 10, p. 881-887, **2006**. <https://doi.org/10.1590/S1415-43662006000400015>
- BRAIBANTE, M.E.; ZAPPE, J.A. A química dos agrotóxicos. *Química Nova na Escola*, v. 34, p. 10-15, **2012**. [http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc34\\_1/03-QS-02-11.pdf](http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc34_1/03-QS-02-11.pdf)
- CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. *IN: Métodos alternativos de controle fitossanitário*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 279p. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1076531>
- CARVALHO, N.L.; PERLIN, R.S.; COSTA, E.C. Thiametoxam em tratamento de sementes. *REMOA – Revistas Monografias Ambientais*, v. 2, p. 158-175, **2011**. <https://doi.org/10.5902/223613082314>
- CARVALHO, S.A.; LIMA, J.M.; CURI, N.; SILVA, C.A.; TOLEDO, J.P.V.F.; SOARES, F.V. Coeficiente de distribuição do inseticida tiametoxam na fração mineral de solos sob efeito de ácidos orgânicos mono, di e tricarbóxicos. *Química Nova*, v. 36, p. 1323-1331, **2013**. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000900008>
- COSTA, A.I.G.; QUEIROZ, M.E.L.R.; NEVES, A.A.; ASSIS, R.C.; SOARES, C.E.S.; SILVA, A.A.; D'ANTONINO, L.; OLIVEIRA, A.F.; BELLATO, C.R. Mobility and persistence of the herbicide fomesafen in soils cultivated with bean plants using SLE/LTP and HPLC/DAD. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, p. 3457-3466, **2015**. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3557-5>
- DUARTE, L.O.; MALAQUIAS, K.S. Extração líquido-líquido assistida por *salting out* da cafeína em amostras urina por cromatografia a gás. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, p. 46549-46559, **2020**. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-332>

ECONOMOU, A.; BOTITSI, H.; ANTONIOU, S.; TSIPI, D. Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, v. 1216, p. 5856-5867, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.06.031>

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Codex pesticide residues in food online database. 2019. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codextexts/dbs/pestres/en>, acesso em: 12 abr. 2023.

FERRARI JÚNIOR, E.; CALDAS, E.D. Simultaneous determination of drugs and pesticides in postmortem blood using dispersive solid-phase extraction and large volume injection-programmed temperature vaporization-gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Science International*, v. 290, p. 318-326, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.07.031>

GILSON, I.K.; ROCHA, L.G.; SILVA, M.R.V.; WAMMES, S.W.; LEITE, G.S.; WELTER, T.; RADÜNZ, A.L.; CABRERA, L.C. Agrotóxicos liberados nos anos de 2019-2020: Uma discussão sobre a uso e a classificação toxicológica. *Brazilian Journal of Development*, v. 6n. 7, p. 49468-49479, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-553>

GONZÁLEZ-CURBELO, M.A.; VARELA-MARTÍNEZ, D.A.; RIAÑO-HERRERA, D.A. Pesticide-residue analysis in soils by the QuEChERS method: A review. *Molecules*, v. 27, 4323, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27134323>

GOULART, A.C. Otimização e aplicação da extração sólido líquido com partição a baixa temperatura para determinação de carbofurano em solo. 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2017.538>

GOULART, A.C.; FARIA, A.M.; GOULART, S.M. Agrotóxicos: Uma revisão sobre suas propriedades físico-químicas de interesse ambiental. **Ciências Agrárias Multidisciplinares: Avanços e Aplicações Múltiplas**. Rio de Janeiro: Editora e-Publicar, 2022. <https://doi.org/10.47402/ed.ep.c20222318150>

HEM, L.; PARK, J.; SHIM, J. Residual analysis of insecticides (lambda-cyhalothrin, lufenuron, thiamethoxam and clothianidin) in pomegranate using GC- $\mu$ ECD or HPLC-UV. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, v. 29, p. 257-265, 2010. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2010.29.3.257>

LEITE, G.L.D.; PICANÇO, M.; MADEIRA, N.R.; ZANUNCIO, J.C. Efeito de inseticidas sistêmicos aplicados no solo na produção do feijoeiro. *Bragantia*, v. 55, p. 279-287, 1996. <https://doi.org/10.1590/S0006-87051996000200012>

LOPES, C.V.A.; ALBUQUERQUE, G.S.C.D. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. *Saúde em Debate*, v. 42, p. 518-534, 2018. <https://doi.org/10.1590/0103-1104201811714>

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2011.

NUNES, R.C.N.; SANTOS, A.L.R.; RODRIGUES, R.P.; CARDOSO, A.T.; GOULART, A.C.; SANTOS, J.P.V.; GOULART, S.M. Avaliação da ESL-PBT na determinação de carbaril em amostras de abacaxi pérola (*Ananás comosus*) comercializadas no município de Itumbiara. *Tecno-lógica*, v. 23, p. 100-107, 2019.

OLIVEIRA, J.L.; LIMA, A.C.; MININI, D.; SILVA, E. Usos, efeitos e potencial tóxico dos agrotóxicos na qualidade do solo. *Agrarian Academy*, v. 5, p. 454-467, 2018. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/agrarian/article/view/5073>

OLIVEIRA, P.P. A aplicação do princípio da seletividade na tributação extrafiscal dos agrotóxicos. *Res Severa Verum Gaudium*, v. 6, p. 360-385, 2021. <https://seer.ufrgs.br/index.php/resseveraverumgaudium/article/view/116615>

ORAZBAYEVA, D.; KOZIEL, J.A.; TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M.J.; ANDERSON, J.L.; KENESSOV, B. Polymeric ionic liquid sorbent coatings in headspace solid-phase microextraction: A green sample preparation technique for the determination of pesticides in soil. *Microchemical Journal*, v. 157, 104996, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104996>

OTAVIANO, C.M. Desenvolvimento e otimização de método para extração do inseticida fipronil em cascas de ovos. 2022. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2022. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/34697>

PINHO, G.P.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; SILVÉRIO, F.O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. *Química Nova*, v. 32, p. 987-995, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400030>

PORTILHO, I.I.R.; SCORZA JÚNIOR, R.P.; DORES, E.F.G.C. Determinação de resíduos dos agrotóxicos tiametoxam, bifentrina e permetrina em amostras de solo. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 24, p. 1-12, 2014. <https://doi.org/10.5380/pes.v24i1.39009>

PRESTES, O.D.; ADAIME, M.B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. *Scientia Chromatographica*, v. 3, p. 51-64, 2011. <https://doi.org/10.4322/sc.2011.004>

RIBANI, M.; BOTOLLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, p. 771-780, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. *Revista Liberato*, v. 10, p. 149-158, 2009. <http://www.revista.liberato.com.br/index.php/revista/article/view/142>

SANTANA, E.T.D.; SOARES, D.F.; FARIA, A.M. Development of a methodology for the determination of pesticide residues in cajá-manga pulp (*Spondias dulcis* L.) using solid-liquid extraction with low-temperature partitioning. *Journal of Chemistry*, v. 2018, 6012503, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/6012503>

SANTE, European Commission. 2022. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed, SANTE/11312/2021. Disponível em: [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_201912682.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_201912682.pdf)

SANTOS, H.G.; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C.; OLIVEIRA, V.A.; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A.; ARAUJO FILHO, J.C.; OLIVEIRA, J.B.; CUNHA, T.J.F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5ª ed. Brasília: Embrapa, 2018. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/199517/1/SiBCS-2018-ISBN-9788570358004.pdf>

SCORZA JÚNIOR, R.P.; RIGITANO, R.L.O.; FRANCO, A.A. Comportamento ambiental de dois inseticidas em um solo de Mato Grosso do Sul: Experimentação e Modelagem Matemática. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 36p. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/880300>

SOARES, C.E.S.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; OLIVEIRA, A.F.; COSTA, A.I.G.; ASSIS, R.C.; ANDRADE, C.E.O.; Determination of pesticides in soil using a hyphenated extraction technique. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 26, p. 1790-1797, 2015. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150155>

SOUZA, M.D.R. Determinação voltamétrica de tiametoxam utilizando eletrodos de diamante dopado com boro (DDB). 2017. 71f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017. <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/6320>

SPADOTTO, C.A.; GOMES, M.A.F.; LUCHINI, L.C.; ANDRÉA, M.M. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29 p. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/14523/1/documentos42.pdf>

STEFFEN, G.P.K.; STEFFEN, R.B.; ANTONIOLLI, Z.I. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. *Tecno-lógica*, v. 15, p. 15-21, 2011.

TADEO, J.L.; PÉREZ, R.A.; ALBERO, B.; GARCÍA-VALCÁRCEL, A.I.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C. Review of sample preparation techniques for the analysis of pesticide residues in soil. *Journal of AOAC International*, v. 95, p. 1258-1271, 2012. [https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE\\_Tadeo](https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Tadeo)

TOBISZEWSKI, M. Metrics for green analytical chemistry. *Analytical Methods*, v. 8, p. 2993-2999, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6AY00478D>

URZEDO, A.P.F.M.; RIGITANO, R.L.O.; GUERREIRO, M.C.; CASTRO, N.R.A. Dissipação do inseticida tiametoxam em solos da região de Lavras-MG. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 16, p. 31-38, 2006. <https://doi.org/10.5380/pes.v16i0.7477>

VICARI, M.C.D. Desenvolvimento de métodos para a determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em solo por UHPLC-MS/MS. 2013. 216f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013. <http://repositorio.ufsm.br/handle/1/4250>

WAUCHOPE, R.D.; YEH, S.; LINDERS, J.B.H.J.; KLOSKOWSKI, R.; TANAKA, K.; RUBIN, B.; KATAYAMA, A.; KÖRDEL, W.; GERSTL, Z.; LANE, M.; UNSWORTH, J.B. Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Management Science*, v. 58, p. 419-445, 2002. <https://doi.org/10.1002/ps.489>

YOUTEN, W.J.; STEINER, E.H. **Statistical manual of the AOAC** -Association of Official Analytical Chemists. Washington DC: AOAC-1, 1975.

ZHANG, L.; LIU, S.; PAN, C.; ZHANG, A.; CHEN, F. A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. *Central European Journal of Chemistry*, v. 10, p. 900-925, 2012. <https://doi.org/10.2478/s11532-012-0034-1>