

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Ana Clara Lourenço Barbosa dos Santos

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MILHO E SOJA POR UPLC-MS/MS**

Rio de Janeiro

2017

Ana Clara Lourenço Barbosa dos Santos

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MILHO E SOJA POR UPLC-MS/MS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária

Preceptoras: Lucia Helena Pinto Bastos
Angélica Castanheira de Oliveira

Tutora: Maria Helena W. Cardoso

Rio de Janeiro

2017

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Santos, Ana Clara Lourenço Barbosa dos

Validação e aplicação de método analítico para determinação de resíduos de agrotóxicos em milho e soja por UPLC-MS/MS. / Ana Clara Lourenço Barbosa dos Santos – Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2017.

70 f.: il., tab.

Trabalho de conclusão do curso (Especialista em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2017.
Preceptores: Lucia Helena Pinto Bastos; Angélica Castanheira de Oliveira
Tutora: Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso

1. Zea mays. 2. Feijão de Soja. 3. Contaminação de Alimentos. 4. Agroquímicos. 5. Limite Máximo de Agrotóxico em Alimentos. 6. Métodos Analíticos de Preparação de Amostras. I. Título

Ana Clara Lourenço Barbosa dos Santos

**VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO
DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MILHO E SOJA POR UPLC-MS/MS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária

Aprovado em: 08/02/2017

BANCA EXAMINADORA

Armi Wanderley da Nobrega (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

André Victor Sartori (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Angélica Castanheira de Oliveira (Mestre) - Preceptora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Lucia Helena Pinto Bastos (Doutora) - Preceptora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso (Doutora) - Tutora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por ter me dado saúde e força para o cumprimento de mais uma etapa da minha vida.

Ao meu pai, Helio, e a minha mãe, Marcia, pelo amor, dedicação e apoio em todos os momentos. Não sei o que seria de mim sem vocês!

A minhas preceptoras, Lucia e Angélica, e a minha tutora, Maria Helena, pela ótima orientação, paciência e confiança no meu trabalho.

A minhas companheiras de trabalho e amigas, Shaiene, Laiza, Thaiz e Nathália, por compartilharem comigo todos os momentos de alegrias e dificuldades durante todo esse tempo.

Aos fiscais da SubVisa do Rio de Janeiro, do setor de Saúde do Trabalhador, por terem me recebido de braços abertos e me ensinado ainda mais sobre Vigilância Sanitária.

E, por fim, a todos os familiares e amigos que também sempre me apoiaram e me deram força para continuar caminhando firme e forte!

RESUMO

A produção em monocultura é o sistema mais utilizado em cultivos de milho e soja que tende a provocar degradações do solo e leva a utilização extensiva de agrotóxicos nessas culturas. No Brasil, o milho (*Zea mays L.*) e a soja (*Glycine max (L.) Merrill*) são plantados em grande escala e destinados a produção de alimentos e rações. Nas primeiras safras de 2016/2017, foram produzidos mais de 83 e 100 milhões de toneladas de milho e soja respectivamente, sendo as regiões Centro Oeste e Sul as maiores produtoras dessas culturas. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite atualmente cerca de 120 agrotóxicos para o uso na cultura de milho e 149 para a soja. Ainda que essas substâncias sejam aplicadas em conformidade com as boas práticas agrícolas, podem deixar resíduos nos alimentos, reforçando a importância do controle desses resíduos para garantir a segurança alimentar da população. Visando este controle, o objetivo do trabalho foi o desenvolvimento e a validação de um método analítico de multirresíduos para determinação quantitativa de agrotóxicos em milho e soja empregando o método de extração QuEChERS e a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS). Foi realizado um monitoramento piloto desses produtos amostrados na região Centro-Oeste do Brasil, não tendo sido detectados resíduos de agrotóxicos nas amostras de milho avaliadas, apresentando 100 % de conformidade com a legislação. Nas amostras de soja, obteve-se um percentual de resultados insatisfatórios de 34,8 % devido majoritariamente à detecção de substâncias não autorizadas para a cultura, como o pirimifós metílico e atrazina. Este panorama reforça a necessidade da elaboração de políticas públicas mais eficientes para o controle e monitoramento do uso de agrotóxicos.

Palavras-chave: Agrotóxicos. Milho. Soja. Validação. UPLC-MS/MS.

ABSTRACT

Monoculture production is the most widely used system in maize and soybean crops that tends to cause soil degradation and leads to the extensive use of pesticides in these crops. In Brazil, maize (*Zea mays L.*) and soybean (*Glycine max (L.) Merrill*) are planted on large scale for food and feed production. In the first harvests of 2016/2017, more than 83 million and 100 million tons of maize and soybeans were produced, respectively, with the Central-West and South regions being the largest producers of these crops. The National Agency of Sanitary Surveillance (ANVISA) currently allows about 120 pesticides for use in maize and 149 for soybean. Although these substances are applied in accordance with good agricultural practice, they may leave residues in food, reinforcing the importance of controlling such residues to ensure the food safety for the population. Aiming at this control, the objective of this work was the development and validation of an analytical multi-residues method for quantitative determination of pesticides in maize and soybean employing the QuEChERS extraction method and ultra-efficient liquid chromatography coupled to sequential mass spectrometry (UPLC-MS / MS). A pilot monitoring of these products sampled in the Central-West region of Brazil was carried out. No pesticides residues were detected in the evaluated maize samples, presenting 100 % compliance with the legislation. In the soybean samples, a percentage of unsatisfactory results of 34.8 % was obtained mainly due to the detection of substances not authorized for this culture, such as pirimiphos methyl and atrazine. This scenario reinforces the need for the elaboration of more efficient public policies for the control and monitoring of the use of pesticides.

Keywords: Pesticides. Maize. Soybean. Validation. UPLC-MS/MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação das 18 diferentes janelas de tempo programadas para aquisição de dados no método UPLC-MS/MS.	30
Figura 2 - Fluxograma da extração pelo método QuEChERS utilizado na validação.	33
Figura 3 - Representação dos íons da atrazina na amostra de soja 2016 G.....	61
Figura 4 - Representação dos íons do MR de atrazina (fortificada no nível 1).	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Agrotóxicos estudados no processo de validação e seus respectivos Limites Máximo de Resíduos (LMR) para as matrizes milho e soja.	26
Tabela 2 - Equipamentos utilizados na validação.	29
Tabela 3 - Condições do UPLC-MS/MS utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES ⁺) nas matrizes milho e soja.	29
Tabela 4 - Solventes e reagentes utilizados na validação do método proposto.	31
Tabela 5 - Valores dos coeficientes de correlação (r) e determinação (R ²).	38
Tabela 6 - Avaliação da relação S/N e valores dos LD e LQ calculados para o método - mistura.	41
Tabela 7 - Avaliação de precisão - coeficiente de variação (%) - mistura.	45
Tabela 8 - Avaliação de exatidão - taxa de recuperação - mistura.	48
Tabela 9 - Substâncias validadas para as matrizes milho e soja utilizando a mistura.	51
Tabela 10 - Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz milho.	52
Tabela 11 - Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz soja.	55
Tabela 12 - Avaliação de amostras de soja em grão por UPLC-MS/MS no ano de 2015.	58
Tabela 13 - Avaliação de amostras de milho por UPLC-MS/MS no ano de 2015.	59
Tabela 14 - Avaliação de amostras de soja com casca por UPLC-MS/MS no ano de 2016.	59
Tabela 15 - Resultados insatisfatórios das amostras de soja em grão e com casca.	60
Tabela 16 - Agrotóxicos, íons precursores, fragmentos e tempo de retenção, em minutos, dos métodos específicos utilizados para a confirmação da presença das substâncias encontradas.	61

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPA	Boas Práticas Agrícolas
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CGCRE	Coordenação Geral de Acreditação
CO	Centro-Oeste
CODEX	<i>Codex alimentarius</i>
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CRC	Coordenação de Resíduos e Contaminantes
CV	Coeficiente de variação
DOQ	Documento de caráter orientativo
DPR	Desvio padrão relativo
IA	Ingrediente ativo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IEC	<i>International Electrotechnical Commission</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LD	Limite de detecção
LDI	Limite de detecção do instrumento
LMR	Limite Máximo de Resíduos
LQ	Limite de quantificação
LQI	Limite de quantificação do instrumento
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
ME	Monografia Excluída
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
MMQO	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
MR	Material de Referência

MRM	Monitoramento de reações múltiplas
NA	Não Autorizado para a cultura
NBR	Norma Brasileira
NE	Resíduos de Agrotóxicos não encontrados
OMS	Organização Mundial de Saúde
PARA	Programa Análise de Resíduos de Agrotóxicos
PNCRC	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes
POP	Procedimento operacional padrão
PU	Procedimento de Uso
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged , Safe</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SANTE	<i>European Comission Directorate-General For Health and Food Safety</i>
S/N	Razão sinal ruído
SPE-D	Extração em fase sólida dispersiva
SQRA	Substância Química de Referência de Agrotóxico
t _R (min)	Tempo de retenção em minutos
UPLC-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 PROGRAMA DE MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS.....	14
1.2 O MILHO NO BRASIL	15
1.3 A SOJA NO BRASIL.....	16
1.4 VALIDAÇÃO DE MÉTODO	17
1.4.1 Seletividade.....	18
1.4.2 Linearidade.....	18
1.4.3 Faixa de trabalho.....	19
1.4.4 Precisão	19
1.4.5 Exatidão	20
1.4.6 Limite de detecção	21
1.4.7 Limite de quantificação.....	21
1.5 MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS.....	22
2 OBJETIVO	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1 VALIDAÇÃO DE MILHO E SOJA POR UPLC-MS/MS.....	25
3.1.1 Amostras	25
3.1.2 Agrotóxicos avaliados.....	25
3.1.3 Equipamentos utilizados.....	28
3.1.4 Condições cromatográficas	29
3.1.5 Padrões e Reagentes.....	31
3.1.6 Preparo das soluções analíticas.....	31
3.1.7 Método de ensaio	32
3.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	33
3.2.1 Seletividade.....	33
3.2.2 Linearidade e Faixa de trabalho	34
3.2.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	34
3.2.4 Precisão (repetibilidade) e Exatidão (taxa de recuperação)	35
3.3 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	35

3.3.1 Amostras	35
3.3.2 Processamento das amostras	36
3.3.3 Agrotóxicos avaliados.....	36
3.3.4 Método de ensaio	36
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	37
4.1.1 Seletividade.....	37
4.1.2 Linearidade e Faixa de trabalho	37
4.1.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação	41
4.1.4 Precisão (repetibilidade) e Exatidão (taxa de recuperação)	45
4.2 AVALIAÇÃO DE AMOSTRAS	58
4.2.1 Amostras	58
4.2.2 Análise por UPLC-MS/MS	58
5 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

O processo tradicional de trabalho na agricultura, bem como seus impactos sobre o ambiente e a saúde humana, sofreram profundas mudanças desde a década de 1950 quando se iniciou a “revolução verde”. Novas tecnologias foram aprimoradas durante esses anos, muitas delas baseadas no uso extensivo de agentes químicos. Esses produtos são substâncias amplamente utilizadas na agricultura e na saúde pública, conhecidas como agrotóxicos (MOREIRA et al, 2002).

As práticas agrícolas modernas dependem da aplicação dos agrotóxicos durante o cultivo, após a colheita e na etapa de estocagem dos produtos agrícolas (RAVELO, HERNÁNDEZ, RODRÍGUEZ, 2008). O uso de agrotóxicos é sugerido para prevenir ou reduzir perdas na agricultura, gerando benefícios como o aumento da produtividade e da qualidade do produto, além da proteção contra insetos e outras pragas (PRESTES et al, 2009).

No Brasil, o consumo de agrotóxicos cresceu nas últimas décadas, transformando o país em um dos líderes mundiais no consumo desses produtos. Nos últimos anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93 %, enquanto o mercado brasileiro cresceu 190 %. Em 2008, o Brasil ultrapassou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos (ABRASCO, 2012). Em 2014 o mercado nacional de venda de agrotóxicos movimentou 489 mil toneladas de produtos técnicos, sendo 228 mil toneladas produzidas no país e 81 mil toneladas importadas (IBAMA, 2014).

Os produtos agrotóxicos são regulados no Brasil pela Lei nº 7.802 de 11/07/1989, a qual “Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, seus componentes e afins, e dá outras providências” (BRASIL, 1989).

A partir dessa lei, os agrotóxicos são legalmente definidos como:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados

nocivos bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento. (BRASIL, 1989).

O Decreto nº 4.074 de 04/01/2002 que regulamenta a Lei nº 7.802 de 11/07/1989 trouxe mudanças importantes sobre o tema, principalmente sobre o registro desses produtos, cujo processo é rigoroso e segue padrões internacionais. O registro no Brasil ficou sob responsabilidade de três órgãos nacionais: a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), responsável por avaliar o impacto toxicológico do uso dos agrotóxicos na saúde humana, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), ao qual coube a avaliação ambiental, incluindo comportamento no solo, água e atmosfera e efeitos nos organismos vivos e o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), responsável pela avaliação agronômica, e a avaliação dos agrotóxicos na eficiência contra as pragas-alvo (BRASIL, 2002b; MENTEN, 2016).

Estão registrados no Brasil, cerca de 1500 produtos comerciais com aproximadamente 430 ingredientes ativos (IA) (SINDAG, 2011). Dentre eles estão em grande parte os inseticidas (controle de insetos), fungicidas (controle de fungos) e herbicidas (controle de plantas invasoras), além dos desfolhantes (controle de folhas indesejadas), fumigantes (controle de bactérias do solo), rodenticidas ou raticidas (controle de roedores/ratos), nematicidas (controle de nematóides) e acaricidas (controle de ácaros) (RIBAS, MATSUMURA, 2008).

Nos últimos anos tem havido uma preocupação crescente com relação à presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos, devido aos possíveis efeitos adversos à saúde dos seres humanos se expostos por longos períodos a esses resíduos oriundos do alimento. Para proteger a saúde dos consumidores e assegurar a saúde pública, a ANVISA estabelece os limites máximos de resíduos (LMR) para as diversas combinações de agrotóxicos e *commodities* (QUEIROZ, FERRACINI, ROSA, 2012).

O LMR é a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico, expresso em ppm ou mg kg⁻¹, que pode estar legalmente presente nos alimentos em decorrência da aplicação adequada numa fase específica desde sua produção até o consumo (BRASIL, 2002b). Atualmente, existem 120 substâncias com LMR estabelecido para a cultura de milho e 149 para a cultura de soja. Esse limite é estabelecido com base

em ensaios supervisionados de resíduos de agrotóxicos conduzidos em todo o país e refletem as boas práticas agrícolas (JARDIM, CALDAS, 2012).

1.1 PROGRAMA DE MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS

O uso de agrotóxicos para a proteção das diferentes culturas permitiu aumento no volume de produção, porém o aparecimento de resíduos destas substâncias nos alimentos gera uma preocupação na área de saúde pública. Programas de monitoramento de resíduos de agrotóxicos foram criados com o objetivo de avaliar a conformidade dos alimentos com os LMR nacionais estabelecidos permitindo a fiscalização de uso desses produtos (PRESTES et al, 2009).

Há na área de resíduos de agrotóxicos dois programas oficiais de monitoramento: o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) do ministério da saúde e o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC-vegetal) do ministério da agricultura (MAPA).

O PARA foi criado em 2001 pela ANVISA, vinculado ao Ministério da Saúde desde 2003 através da RDC nº 119/03, com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor, a fim de fortalecer a capacidade do governo em atender a segurança alimentar, evitando possíveis agravos à saúde da população. Até 2015, um total de mais de 30.000 amostras foram analisadas, distribuídas em 25 alimentos de origem vegetal. Nos anos de 2013 a 2015, 729 amostras de milho (fubá) foram analisadas no programa. Treze amostras foram consideradas insatisfatórias, devido aos agrotóxicos pendimetalina, encontrado em concentração acima do LMR, e diclorvós, substância de uso não permitido para o milho (ANVISA, 2016b).

O MAPA instituiu em 2008, através da Instrução Normativa nº 42 o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal) sob a Coordenação de Resíduos e Contaminantes (CRC), órgão ligado diretamente à Secretaria de Defesa Agropecuária, que tem por finalidade a inspeção e fiscalização dos produtos de origem vegetal, seus subprodutos e derivados de valor econômico (BRASIL, 2009; MAPA, 2016).

Este monitoramento oficial é realizado por meio da verificação da presença e dos níveis de resíduos de substâncias químicas potencialmente nocivas à saúde do consumidor, tais como resíduos de produtos de uso veterinário, de agrotóxicos ou afins, e de contaminantes químicos.

São os principais objetivos do programa: verificar e avaliar as boas práticas agropecuárias (BPA), as boas práticas de fabricação (BPF), boas práticas de armazenamento e transporte; verificar os fatores de qualidade e de segurança higiênico-sanitária dos produtos de origem vegetal, seus subprodutos e derivados de valor econômico importados e fornecer garantias de um sistema que provenha a segurança e a inocuidade dos alimentos disponibilizados aos consumidores e que seja equivalente aos requisitos sanitários internacionais estabelecidos pelo Mercado Comum do Sul (MERCOSUL), *Codex Alimentarius* (CODEX) e órgãos auxiliares, como a Organização Mundial de Saúde (OMS) (MAPA, 2016).

O milho e a soja são monitorados pelo PNCRC/Vegetal e de acordo com a última publicação na Portaria SDA nº 44, de 08 de maio de 2015, as amostras avaliadas dessas matrizes apresentaram índice de conformidade de 97 % e 100 %, respectivamente. Apenas uma amostra de milho foi considerada insatisfatória, devido à presença do agrotóxico cipermetrina, encontrado em concentração acima do LMR nacional (BRASIL, 2015).

1.2 O MILHO NO BRASIL

O milho (*Zea mays L.*) é uma espécie originária do México. Pertence à família das Poáceas e é um cereal essencialmente energético, uma vez que seus grãos são constituídos principalmente de carboidratos, proteínas, vitaminas do complexo B, gorduras e sais minerais, como ferro, potássio e zinco (BRASIL, 2002a; NAVES et al, 2004).

O milho ocupa a segunda colocação quando relacionado com o volume de grão produzido, perdendo apenas para o trigo. Sua produção está voltada para a nutrição animal e humana, além da produção industrial de combustível. Do grão de milho podem resultar subprodutos como a farinha de milho, o fubá, farelos, óleo, amido,

biscoitos, pães, massas, entre outros produtos, sendo considerado um dos cereais mais consumidos do país (BRASIL, 2006).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, produzindo mais de 83 milhões de toneladas. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), os maiores estados brasileiros produtores são o Mato Grosso e o Paraná, os quais forneceram 21 e 15 milhões de toneladas, respectivamente, nas safras de 2016/2017 (BRASIL, 2016).

1.3 A SOJA NO BRASIL

A soja (*Glycine max (L.) Merrill*) é uma planta oriunda da China, de comportamento primordial rasteiro e foi descoberta pelo Ocidente na segunda metade do século XX. Pertence à família das Papilionáceas e à subordem das leguminosas, sendo rica em proteínas de boa qualidade, ácidos graxos poliinsaturados e fibras, além de conter em sua composição, as isoflavonas, uma classe de fito-hormônios muito importante para a saúde feminina (BRASIL, 2004; GOUVÊA et al, 2015).

A soja apresenta elevado valor econômico e agrícola devido a sua adaptação em solos e climas diversos e ampla diversidade de uso na alimentação animal e humana. Além do grão como alimento funcional, é utilizada para a produção de chocolate, alimentos dietéticos, bebidas prontas, óleo, margarina, maionese e pertence, juntamente com trigo, arroz, milho e batata, ao grupo das cinco culturas alimentares mais importantes do mundo (LIU, 1999; PIZZUTTI et al, 2009).

Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, atrás apenas dos Estados Unidos. O Brasil produziu, nas primeiras safras de 2016/2017, mais de 100 milhões de toneladas e, os estados do Mato Grosso e do Paraná foram os maiores produtores nacionais, produzindo, respectivamente, 26 e 16 milhões de toneladas. Além disso, o Brasil é o país que mais exporta soja no mundo, totalizando em 2016, 57 milhões de toneladas de safras exportadas (BRASIL, 2016).

O sistema de produção em monocultura é o mais utilizado em cultivos de milho e soja e tende a provocar degradações física, química e biológica do solo, além de proporcionar condições favoráveis para o desenvolvimento de pragas, doenças e

plantas daninhas, gerando, com isso, a queda da produtividade e conseqüentemente uma maior utilização de agrotóxicos nessas culturas (BRASIL, 2004).

Alguns benefícios são adquiridos a partir do uso de agrotóxicos na agricultura, como o aumento do volume de produção e a proteção das diferentes culturas. Porém, mesmo quando essas substâncias são aplicadas em conformidade com as boas práticas agrícolas (BPA), elas podem deixar resíduos nos alimentos, gerando uma das principais preocupações de saúde pública reforçando cada vez mais a importância de haver o controle desses resíduos para garantir a segurança alimentar e nutricional da população e também dos animais (WALORCZYK, 2007; PRESTES et al, 2009).

1.4 VALIDAÇÃO DE MÉTODO

Métodos analíticos têm sido desenvolvidos para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos como ferramenta principal para assegurar que estes produtos estejam de acordo com a legislação nacional. Para isso, é preciso que esses métodos cumpram requisitos capazes de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos. Com este objetivo, são delineados procedimentos de validação do processo analítico empregado, como garantia da qualidade das medições químicas, através da sua comparabilidade e rastreabilidade (PASCHOAL et al, 2008).

As agências reguladoras do Brasil e de outros países têm estabelecido documentos orientativos com diretrizes a serem adotadas no processo de validação, as quais possibilitam a obtenção de evidências de que um método analítico é adequado para o uso proposto. Os laboratórios que realizam as análises em alimentos precisam ter capacidade técnica comprovada, a qual é garantida pelas normas de credenciamento estabelecidas pelo órgão responsável, que no Brasil é o INMETRO, que disponibiliza guia para procedimentos de validação de métodos analíticos, como o documento INMETRO DOQ – CGCRE – 008 de 04/07/2011 (INMETRO, 2011).

1.4.1 Seletividade

A seletividade é a habilidade de um método para a determinação do analito, na presença de interferentes provenientes da matriz da amostra (LANÇAS, 2004). Além disso, representa a capacidade de avaliar de forma inequívoca o analito em estudo em misturas complexas, sem a interferência de outras substâncias (INCQS, 2015).

A seletividade de um método analítico pode ser avaliada de duas formas: comparando-se a matriz isenta dos agrotóxicos com a matriz adicionada com os padrões dos agrotóxicos para verificar a existência de coeluição dessas substâncias junto a interferentes da matriz ou utilizando-se detectores modernos, como os espectrômetros de massas que permitem comparar o espectro do pico obtido na amostra com o espectro do padrão puro e, no caso da espectrometria de massas em série, pela razão das transições de íons selecionadas (RIBANI et al, 2004).

1.4.2 Linearidade

A linearidade definida como a capacidade de um método analítico de produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito, em uma dada faixa de concentração. É expressa através da correlação entre o sinal medido (área do pico cromatográfico) e a massa ou concentração da substância a ser quantificada (INMETRO, 2011; RIBANI et al, 2004)

Essa correlação pode ser expressa matematicamente como uma equação de reta denominada curva analítica. A estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático conhecido como regressão linear (RIBANI et al., 2004). A equação de reta que descreve uma curva analítica pode ser expressa pela equação:

$$y = ax + b$$

Onde: **y** é a resposta medida (altura ou área do pico);

x é a concentração do analito;

a é o coeficiente angular (inclinação da curva);

b é o coeficiente linear (intersecção da curva com o eixo y).

A correlação entre os valores numéricos de x e de y é representada pelo coeficiente de correlação (r) e o coeficiente de determinação (R^2). Esses não devem ser usados isoladamente para avaliação da linearidade e sim para ajustes dos dados da curva (RIBANI et al., 2004).

1.4.3 Faixa de trabalho

A faixa de trabalho de um método de ensaio é o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito, no qual é possível a determinação com precisão, exatidão e linearidade exigidas (INMETRO, 2011). Em métodos de análise para resíduos, o SANTE recomenda que o nível mais baixo da curva analítica deve ser igual ou inferior ao LMR recomendado pelo órgão regulador (SANTE, 2016).

A quantificação das substâncias de interesse pode ser obtida através dos métodos de padronização externa, padronização interna, e adição padrão (RIBANI et al., 2004). Tanto o método de padronização externa quanto o de padronização interna possibilitam que as curvas analíticas sejam construídas com superposição da matriz.

A superposição de matriz é feita pela adição do padrão da substância de interesse, em diversas concentrações, em uma matriz similar à amostra e isenta dessa substância. Sendo assim, é possível relacionar as áreas obtidas com as concentrações dos padrões para a construção da curva. Este método é usado para compensar o efeito da matriz (RIBANI et al., 2004).

1.4.4 Precisão

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas (INMETRO, 2011). A precisão pode ser expressa em termos de estimativa do desvio padrão relativo (DPR), também conhecida como coeficiente de variação (CV). Em métodos de análise de traços são aceitos CV de até

20%, dependendo da complexidade da amostra (RIBANI et al, 2004; PASCHOAL et al, 2008; SANTE, 2016). O CV pode ser obtido utilizando a equação abaixo:

$$\text{DPR (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = (s/x) \cdot 100$$

Onde: **CV (%)** é o coeficiente de variação para cada nível de concentração;
s é o desvio padrão das leituras no nível de concentração estudado;
x é a média dos resultados obtidos.

Este parâmetro pode ser avaliado através da repetibilidade, que é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas sob as mesmas condições de medição, que compreendem um mesmo procedimento de extração, mesmo analista, mesmo instrumento, mesmo local e repetições em um curto espaço de tempo (INMETRO, 2011).

1.4.5 Exatidão

A exatidão é uma medida da concordância existente entre os dados obtidos em uma determinada medida e um valor de referência assumido como sendo o verdadeiro (RIBANI et al, 2004). Pode ser avaliada através dos ensaios de fortificação e recuperação, podendo ser calculada pela equação abaixo:

$$\text{R (\%)} = (C1/C2) \cdot 100$$

Onde: **R (%)** é a recuperação;
C1 é a concentração determinada na amostra fortificada;
C2 é a concentração adicionada à amostra.

A recuperação é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na proporção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada. Além disso, deve ser avaliada na faixa de

concentração esperada para o analito do composto de interesse (RIBANI et al., 2004). São aceitos intervalos de recuperação entre 70 e 120 % (SANTE, 2016).

1.4.6 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada e declarada com um intervalo de confiança, em que a concentração do analito é maior que zero (INMETRO, 2011).

O limite de detecção do instrumento (LDI) é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão sinal/ruído do instrumento. O limite de detecção pode ser determinado pela relação Sinal/Ruído em que o LD é determinado através da comparação entre a medição dos sinais de amostras com baixas concentrações conhecidas do analito na matriz e um branco dessas amostras (INMETRO, 2011).

Assim, é estabelecida uma concentração mínima na qual a substância pode ser facilmente detectada (INMETRO, 2011; BRASIL, 2003). A equação abaixo descreve o cálculo da concentração equivalente a esse valor:

$$LD_{\text{calculado}} = LD_{\text{est}} \cdot 3 \cdot s/x$$

Onde: **LD_{est}** é o limite de detecção estimado, concentração injetada;

s é o desvio padrão das leituras;

x é a média das respostas.

1.4.7 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e exatidão.

O limite de quantificação do instrumento (LQI) é definido como a concentração do analito que produz um sinal de seis a dez vezes a razão sinal/ruído do equipamento.

Os mesmos critérios usados para a determinação do LD podem ser adotados para o LQ, utilizando a relação 10:1, ou seja, o LQ pode ser calculado pelo método da relação sinal/ruído (10:1). A equação abaixo descreve o cálculo da concentração equivalente a este limite.

$$LQ_{\text{calculado}} = LQ_{\text{est}} \cdot 10 \cdot s/x$$

Onde: **LQ_{est}** é o limite de detecção estimado, concentração injetada;

s é o desvio padrão das leituras;

x é a média das respostas.

1.5 MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ALIMENTOS

O método de extração multirresíduos QuEChERS (“Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe”), tem como vantagens o fato de ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. Diversas modificações foram realizadas ao longo do tempo desde seu desenvolvimento em 2003 por Anastassiades e colaboradores (ANASTASSIADES et al, 2003).

O método QuEChERS é composto por três etapas principais: extração, partição e limpeza.

A etapa de extração inicial é feita com acetonitrila acidificada. Este solvente possibilita a extração de uma menor quantidade de coextrativos lipofílicos provenientes da amostra, como por exemplo, ceras, gorduras e pigmentos, e proporciona a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades (LEHOTAY et al, 2001). Além disso, a acetonitrila, quando acidificada, permite recuperações satisfatórias de substâncias que geralmente apresentam problemas de estabilidade (ANASTASSIADES et al, 2003).

A etapa de partição consiste na adição de sais, promovendo o efeito “*salting out*”, removendo o excesso de água na amostra.

Por fim, a etapa de limpeza consiste em uma extração em fase sólida dispersiva permitindo a limpeza e redução de água residual, sendo efetuadas de uma forma rápida e simultânea (ANASTASSIADES et al, 2003).

Para identificação, separação e quantificação dos resíduos de agrotóxicos em alimentos, geralmente são empregados métodos cromatográficos de análise. A técnica cromatográfica está entre os principais métodos físico-químicos de separação, apresentando alto grau de precisão e resposta. Agrotóxicos voláteis e estáveis termicamente são determinados por cromatografia gasosa com detectores seletivos. No entanto, para a análise de resíduos de agrotóxicos polares iônicos, de baixa volatilidade ou instabilidade térmica, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas é uma das melhores técnicas utilizadas atualmente (KAEWSUYA et al, 2013).

A cromatografia líquida é muito efetiva na separação dos analitos, enquanto a espectrometria de massas permite a sua identificação e/ou confirmação em nível de traços. Recentemente, a utilização de UPLC-MS/MS está gradualmente se tornando importante para análise de resíduos de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros. Esta técnica permite a análise de agrotóxicos em níveis de ultra-traços (da ordem de ng kg^{-1} ou menor), empregando poucas etapas de processamento das amostras, devido ao alto grau de seletividade e sensibilidade (JARDIM, ANDRADE, 2009; GOUVÊA et al, 2015).

A fragmentação controlada da espectrometria de massas é uma ferramenta essencial para a identificação confiável do analito de interesse com maior seletividade, gerando sinais mais limpos, melhorando a razão sinal/ruído e diminuindo, portanto, os limites de detecção e quantificação (JARDIM, ANDRADE, 2009).

Neste contexto, esse trabalho consistiu em validar e implementar um método analítico quantitativo para a determinação de resíduos agrotóxicos em milho e soja por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS, do inglês *Ultra-Performance Liquid Chromatography tandem Mass-Spectrometry*) a fim de realizar um monitoramento piloto de amostras desses produtos, adquiridos na região centro-oeste do Brasil, área de maior produção dessas matrizes no país.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho foi implementar e validar um método analítico quantitativo para a determinação de resíduos de agrotóxicos em milho e soja.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Validar método analítico quantitativo para a determinação de cento e noventa e quatro resíduos de agrotóxicos nas matrizes milho e soja, utilizando método de extração QuEChERS com detecção por cromatografia líquida de ultra eficiência com detector por espectrometria de massas sequencial – UPLC-MS/MS.
- Aplicar o método analítico validado na análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de milho e soja oriundas da região Centro-Oeste (CO) do Brasil.
- Realizar um monitoramento piloto desses produtos adquiridos na região Centro-Oeste.

3 PARTE EXPERIMENTAL

As análises foram realizadas no Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do INCQS, acreditado junto ao INMETRO pela norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 (*International Organization for Standardization*).

O trabalho consistiu na validação do método por UPLC-MS/MS das matrizes milho e soja em dois momentos distintos: utilizando uma mistura contendo 60 % de milho e 40 % de soja em sua composição, e utilizando milho e soja separadamente. Em seguida, foi feita uma avaliação de resíduos de agrotóxicos nessas matrizes com o método validado.

3.1 VALIDAÇÃO DE MILHO E SOJA POR UPLC-MS/MS

3.1.1 Amostras

Aproximadamente 1,0 kg de uma mistura contendo 60 % de milho e 40 % de soja, já processada, foi adquirida na região serrana do estado do Rio de Janeiro. Já as amostras de milho e soja utilizadas (1,0 kg de cada) foram adquiridas na região Centro-Oeste do Brasil. As amostras foram identificadas e armazenadas em geladeira, sob refrigeração entre 3 °C à 6 °C.

3.1.2 Agrotóxicos avaliados

Os critérios utilizados para a escolha dos agrotóxicos utilizados neste trabalho foram:

- a) Serem avaliados por método multirresíduos utilizando a técnica UPLC-MS/MS;
- b) Estarem os materiais de referência (MR) dos ingredientes ativos (IA) disponíveis no laboratório;
- c) Serem os IA de uso permitido em culturas de hortifrutigranjeiros;
- d) Inclusão de IA de uso proibido de modo a avaliar a aplicação de boas práticas agrícolas no campo.

Os cento e noventa e quatro agrotóxicos selecionados para a validação e seus respectivos Limites Máximo de Resíduos (LMR) para milho e soja estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Agrotóxicos estudados no processo de validação e seus respectivos Limites Máximo de Resíduos (LMR) para as matrizes milho e soja.

Substância	LMR (mg/kg)		Substância	LMR (mg/kg)	
	Milho	Soja		Milho	Soja
3-OH-Carbofurano	0,1	NA	Furatiocarbe	0,03	NA
Abamectina	0,005	0,01	Halofenosídeo	Excluído ou não registrado no Brasil	
Acefato	NA	1	Hexaconazol	NA	NA
Acetamiprido	0,05	0,05	Hexitiazoxi	NA	NA
Acibenzolar-S-Metílico	NA	NA	Imazalil	NA	NA
Aldicarbe	NA	NA	Imazapic	0,1	NA
Aldicarbe Sulfona	Excluído ou não registrado no Brasil		Imazaquim	NA	0,05
Aldicarbe Sulfóxido	Excluído ou não registrado no Brasil		Imidacloprido	0,5	0,1
Ametrina	0,04	NA	Indoxacarbe	0,2	NA
Atrazina	0,25	NA	Iprodiona	NA	0,5
Azaconazol	NA	NA	Iprovalicarbe	NA	NA
Azametifós	NA	NA	Isoprotiollona	Excluído ou não registrado no Brasil	
Azinfós Etilico	Excluído ou não registrado no Brasil		Isoxaflutol	0,01	NA
Azinfós Metílico	NA	NA	Isoxationa	Excluído ou não registrado no Brasil	
Azoxistrobina	0,01	0,5	Linurom	0,3	1
Benalaxil	NA	NA	Lufenuron	0,05	0,05
Benzoato de Emamectina	Excluído ou não registrado no Brasil		Malationa	8	NA
Bitertanol	NA	NA	Mandipropamida	NA	NA
Boscalida	NA	0,01	Mefenacete	Excluído ou não registrado no Brasil	
Bromuconazol	NA	0,05	Mefosfolan	Excluído ou não registrado no Brasil	
Bupirimato	NA	NA	Mepanipirim	Excluído ou não registrado no Brasil	
Buprofezina	NA	0,02	Mepronil	Excluído ou não registrado no Brasil	
Butocarboxim Sulfóxido	Excluído ou não registrado no Brasil		Metalaxil	Excluído ou não registrado no Brasil	
Cadusafós	NA	0,01	Metalaxil – M	0,05	0,05
Carbaril	NA	NA	Metamidofós	Excluído ou não registrado no Brasil	
Carbendazim	0,05	0,5	Metconazol	NA	0,05
Carbofurano	0,1	NA	Metidationa	NA	NA
Carbossulfano	0,05	0,05	Metiocarbe	NA	NA
Carpropamida	NA	NA	Metiocarbe Sulfona	NA	NA
Ciazofamida	NA	NA	Metiocarbe Sulfóxido	NA	NA
Cimoxanil	NA	NA	Metobromuron	Excluído ou não registrado no Brasil	
Ciproconazol	0,01	0,05	Metomil	0,1	0,1
Ciprodinil	NA	0,1	Metoxifenosida	0,5	0,05
Ciromazina	NA	NA	Metoxuron	Excluído ou não registrado no Brasil	

Tabela 1 – (Continuação) Agrotóxicos estudados no processo de validação e seus respectivos Limites Máximo de Resíduos (LMR) para as matrizes milho e soja.

Substância	LMR (mg/kg)		Substância	LMR (mg/kg)	
	Milho	Soja		Milho	Soja
Clofentezina	NA	NA	Mevinfós	NA	NA
Clomazona	0,05	0,05	Miclobutanil	NA	0,02
Clorbromuron	NA	NA	Molinato	NA	NA
Clorfenvinfós	Excluído ou não registrado no Brasil		Monocrotofós	Excluído ou não registrado no Brasil	
Clorpirifós	0,1	0,01	Monolinuron	Excluído ou não registrado no Brasil	
Clorpirifós Metílico	Excluído ou não registrado no Brasil		Nitenpiran	Excluído ou não registrado no Brasil	
Clotianidina	0,02	0,02	Nuarimol	Excluído ou não registrado no Brasil	
Coumafós	Excluído ou não registrado no Brasil		Ometoato	Excluído ou não registrado no Brasil	
Cresoxim Metílico	NA	0,05	Oxadixil	Excluído ou não registrado no Brasil	
Demeton-S-Metílico	Excluído ou não registrado no Brasil		Oxamil	Excluído ou não registrado no Brasil	
Desmedifan	Excluído ou não registrado no Brasil		Oxamil Oxima	Excluído ou não registrado no Brasil	
Diafenturon	NA	0,3	Oxicarboxina	NA	NA
Diazinona	NA	NA	Paclobutrazol	NA	NA
Diclofuanida	Excluído ou não registrado no Brasil		Pencicurom	NA	NA
Diclorvós	NA	NA	Penconazol	Excluído ou não registrado no Brasil	
Dicrotofós	Excluído ou não registrado no Brasil		Picoxistrobina	0,01	0,02
Dietofencarbe	Excluído ou não registrado no Brasil		Pimetrozina	NA	NA
Difenoconazol	NA	0,05	Piperonil Butóxido	Excluído ou não registrado no Brasil	
Diffubenzuron	0,2	0,2	Piraclostrobina	0,1	0,1
Dimetoato	NA	NA	Pirazofós	NA	NA
Dimetomorfe	NA	NA	Piridaben	NA	NA
Dimoxistrobina	NA	0,01	Piridafentiona	0,05	NA
Diniconazol	Excluído ou não registrado no Brasil		Pirifenox	Excluído ou não registrado no Brasil	
Dissulfotom	NA	NA	Pirimetanil	NA	NA
Diuron	0,05	0,2	Pirimicarbe	NA	NA
DMSA	Excluído ou não registrado no Brasil		Pirimicarbe Desmetil	NA	NA
DMST	Excluído ou não registrado no Brasil		Pirimifós Etilico	Excluído ou não registrado no Brasil	
Dodemorfe	Excluído ou não registrado no Brasil		Pirimifós Metílico	10	NA
Epoxiconazol	0,05	0,05	Piriproxifem	NA	0,05
Espinosade	0,01	0,01	Procloraz	NA	NA
Espirodiclofen	NA	NA	Profenofós	0,02	0,1
Espiroxamina	Excluído ou não registrado no Brasil		Propargito	NA	NA
Etiofencarbe Sulfona	Excluído ou não registrado no Brasil		Propiconazol	0,1	0,05
Etiofencarbe Sulfóxido	Excluído ou não registrado no Brasil		Propizamida	Excluído ou não registrado no Brasil	
Etiona	NA	NA	Propoxur	NA	NA
Etiprole	NA	NA	Quinalfós	Excluído ou não registrado no Brasil	
Etririmol	Excluído ou não registrado no Brasil		Simazina	0,02	NA
Etofenproxi	0,05	1	Tebuconazol	0,1	0,1
Etoprofós	NA	NA	Tebufenosida	0,02	0,05
Etrinifós	ME	ME	Tebufenpirade	Excluído ou não registrado no Brasil	

Tabela 1 – (Continuação) Agrotóxicos estudados no processo de validação e seus respectivos Limites Máximo de Resíduos (LMR) para as matrizes milho e soja.

Substância	LMR (mg/kg)		Substância	LMR (mg/kg)	
	Milho	Soja		Milho	Soja
Famoxadona	NA	NA	Terbufós	0,05	NA
Fenamidona	NA	NA	Tetraconazol	0,05	0,1
Fenamifós	NA	NA	Tiabendazol	0,2	0,1
Fenarimol	NA	0,05	Tiacloprido	NA	0,1
Fenazaquina	Excluído ou não registrado no Brasil		Tiametoxam	0,05	0,02
Fenbuconazol	Excluído ou não registrado no Brasil		Tiobencarbe	NA	NA
Fenhexamida	Excluído ou não registrado no Brasil		Tiodicarbe	0,1	0,1
Fenoxicarbe	Excluído ou não registrado no Brasil		Tiofanato Metílico	NA	0,5
Fenpiroximato	NA	NA	Tiofanox Sulfona	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fenpropidina	Excluído ou não registrado no Brasil		Tiofanox Sulfóxido	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fenpropimorfe	NA	0,2	Tolclofós Metílico	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fentiona	NA	NA	Tolifluanida	0,5	0,5
Fentiona Sulfóxido	NA	NA	Triadimefon	NA	NA
Fentoato	NA	NA	Triadimenol	NA	NA
Fluazifope-p-butílico	NA	0,3	Triazofós	0,01	0,01
Flufenacete	Excluído ou não registrado no Brasil		Triciclozol	NA	NA
Flufenoxuron	NA	0,05	Triclorfon	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fluquinconazol	NA	0,05	Trifloxistrobina	0,05	0,05
Flusilasol	Excluído ou não registrado no Brasil		Triflumizol	NA	NA
Flutriafol	NA	0,1	Triticonazol	NA	NA
Fosalona	NA	NA	Vamidotiona	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fosfamidona	Excluído ou não registrado no Brasil		Vamidotiona Sulfona	Excluído ou não registrado no Brasil	
Fosmete	NA	NA	Zoxamida	NA	NA

*Consulta de LMR realizada no site da ANVISA (19/12/2016).

NA: não autorizado para a cultura.

3.1.3 Equipamentos utilizados

Os equipamentos utilizados para preparo de reagente, padrões e amostras, bem como para determinação e quantificação dos resíduos de agrotóxicos, estão descritos na tabela 2.

Todos os equipamentos utilizados estão de acordo com o padrão de qualidade exigido pela norma ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005, apresentando suas calibrações, verificações e qualificações atualizadas, conforme o POP 65.1120.013 e o POP 65.3120.117(INCQS, 2016a, 2016c).

Tabela 2 - Equipamentos utilizados na validação.

Equipamento	Balança Analítica	Balança Analítica	UPLC-MS/MS	Centrífuga	Deionizador	Agitador
Modelo	XP205	AG245	Quattro Premier XE	Himac CF7D2	Milli-Q	MS3 Digital
Fabricante	Metler Toledo	Metler Toledo	Waters	Hitachi	MilliPore	IKA

3.1.4 Condições cromatográficas

O cromatógrafo foi equipado com um sistema binário de bombas, injetor automático, degaseificador e forno para a coluna. A coluna utilizada para a separação cromatográfica foi de fase reversa ACQUITY UPLC™ BEH C18 com 1,7 µm de tamanho de partícula esférica, 2,1 mm de diâmetro interno e 100 mm de comprimento (Waters, USA). A pré-coluna utilizada foi a VanGuard™ BEH C18 com 1,7 µm de tamanho de partícula esférica (Waters, USA). O detector acoplado de massas sequencial foi equipado com uma fonte de ionização ESI (Z-Spray™) operando no modo positivo e estação de trabalho MassLynx™ Versão 4.1. A tabela 3 mostra as condições utilizadas para o estudo das matrizes milho e soja em resíduos de agrotóxicos em (ES⁺).

Tabela 3 - Condições do UPLC-MS/MS utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES⁺) nas matrizes milho e soja.

UPLC	
Coluna analítica	BEH C18, 1,7 µm, 100 x 2,1 mm
Temperatura da coluna	35 °C
Fluxo da fase móvel	0,3 mL/min
Volume de injeção	5 µL
Fase móvel A	5mmol/L formato de amônio em água (10% metanol)
Fase móvel B	Metanol
MS/MS	
Fonte	ES +
Voltagem capilar	0,98 kV
Temperatura da fonte	100 °C
Interface	electrospray (Z-Spray)™
Fluxo do gás do cone	50 L/h de nitrogênio

Tabela 3 – (Continuação) Condições do UPLC-MS/MS utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES⁺) nas matrizes milho e soja.

MS/MS	
Temperatura de dessolvatação	400 °C
Gás de dessolvatação	Nitrogênio ultra puro
Gás de colisão e pressão	Argônio (3,5 x10 ⁻³) mbar

O gradiente de eluição utilizado foi: Fase móvel A 5 mmol/L de ácido fórmico em água (10 % metanol) inicialmente com 82,5 % (v/v) com rampa linear até atingir 5,5 % da mesma fase em curva linear e Fase móvel B em Metanol. O tempo total de análise foi de vinte e cinco minutos.

As condições de operação do espectrômetro de massas foram otimizadas para modo MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas), através da indicação dos íons precursores e íons fragmentos, e ajustados com a mistura para diferentes programas de gradiente. Os íons foram separados em 18 janelas de tempo contendo no máximo 30 transições por janela, por MRM e o íon de maior e menor abundância selecionados para a quantificação e confirmação, respectivamente. Na Figura 1 está descrita a distribuição MRM em janelas de tempo baseada no tempo de retenção dos agrotóxicos avaliados.

Figura 1 - Representação das 18 diferentes janelas de tempo programadas para aquisição de dados no método UPLC-MS/MS.

No.	Type	Information	Time
1	MRM of 20 mass pairs	Time 0.35 to 2.50, ES+	
2	MRM of 22 mass pairs	Time 0.70 to 3.70, ES+	
3	MRM of 22 mass pairs	Time 1.70 to 5.30, ES+	
4	MRM of 22 mass pairs	Time 2.70 to 6.20, ES+	
5	MRM of 30 mass pairs	Time 4.50 to 8.20, ES+	
6	MRM of 20 mass pairs	Time 6.70 to 9.70, ES+	
7	MRM of 24 mass pairs	Time 7.80 to 11.00, ES+	
8	MRM of 22 mass pairs	Time 8.90 to 12.10, ES+	
9	MRM of 22 mass pairs	Time 9.30 to 13.10, ES+	
10	MRM of 22 mass pairs	Time 9.90 to 12.30, ES+	
11	MRM of 20 mass pairs	Time 10.20 to 12.70, ES+	
12	MRM of 22 mass pairs	Time 10.90 to 13.10, ES+	
13	MRM of 20 mass pairs	Time 11.20 to 13.80, ES+	
14	MRM of 22 mass pairs	Time 11.60 to 14.10, ES+	
15	MRM of 20 mass pairs	Time 12.00 to 14.40, ES+	
16	MRM of 20 mass pairs	Time 12.40 to 15.20, ES+	
17	MRM of 24 mass pairs	Time 13.30 to 16.60, ES+	
18	MRM of 18 mass pairs	Time 15.10 to 18.00, ES+	

3.1.5 Padrões e reagentes

Os solventes e reagentes utilizados estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 - Solventes e reagentes utilizados na validação do método proposto.

Solvente/ Reagente	Fabricante	Lote
Ácido Fórmico	MERCK	I470170905
Metanol	PANREAC	RV57808
Formato de Amônio	FLUKA	412092481385428
Ácido Acético Glacial	MERCK	K39438566850
Sulfato de Magnésio Anidro	MERCK	K43535167
Acetato de Sódio	MERCK	A0346768
Acetonitrila	MERCK	I768629

Dos padrões de agrotóxicos utilizados, 103 eram da marca Dr. Ehrenstorfer-Augsburg (Alemanha), 87 eram da AccuStandard (Estados Unidos) e 4 eram da marca Syngenta (Suíça). Do total utilizado, 177 padrões apresentavam certificado de análise com grau de pureza superior a 97 %, 16 apresentavam pureza entre 91 e 97 % e apenas uma substância apresentava pureza inferior a 90 %: etrinfós (64,2 %).

3.1.6 Preparo das soluções analíticas

As soluções estoque foram individualmente preparadas pela dissolução do Material de Referência (MR), considerando o grau de pureza e sua solubilidade, em concentrações nominais em faixa de 4 a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em solventes acetato de etila, acetonitrila e metanol, de acordo com sua solubilidade. As soluções foram armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração (-10 °C à -25 °C), até o momento de sua utilização.

A partir das soluções estoque, foi preparada uma solução intermediária de mistura de agrotóxicos em faixa de concentração de 0,32 a 0,40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em solvente

metanol grau cromatográfico. Essa mistura foi utilizada para fortificação em três níveis de concentrações distintas (0,006; 0,012 e 0,024 $\mu\text{g mL}^{-1}$), para quatro replicatas e para o preparo das curvas de calibração em seis pontos que apresentaram as seguintes faixas: ponto 1: de 0,0032 a 0,0040 $\mu\text{g mL}^{-1}$; ponto 2: de 0,0064 a 0,0080 $\mu\text{g mL}^{-1}$; ponto 3: de 0,0128 a 0,0160 $\mu\text{g mL}^{-1}$; ponto 4: de 0,0256 a 0,0320 $\mu\text{g mL}^{-1}$; ponto 5: de 0,0512 a 0,0640 $\mu\text{g mL}^{-1}$; e ponto 6: de 0,0768 a 0,0960 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Para o controle do equipamento, foi utilizada uma solução intermediária da substância propoxur na concentração de 0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$ preparada em solvente metanol. Todas as soluções foram preparadas de acordo com o POP 65.3120.096 (INCQS, 2016b).

3.1.7 Método de ensaio

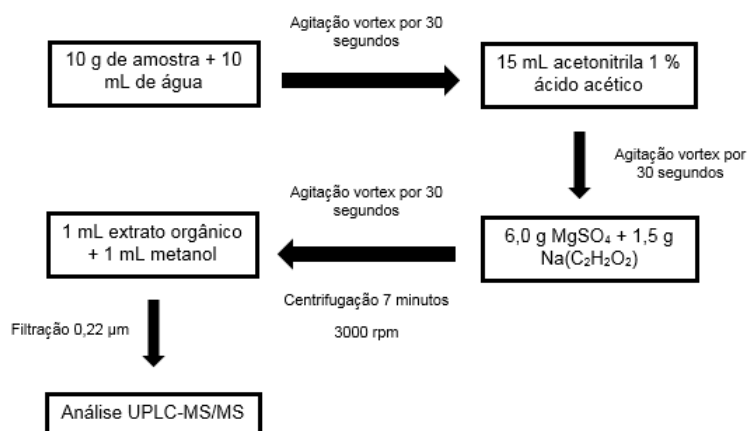
Foi utilizado o método de extração QuEChERS, o qual introduziu uma nova denominação ao procedimento de limpeza da amostra, denominada extração em fase sólida dispersiva (SPE-D) (ANASTASSIADES et al, 2003).

Cerca de 10 g de amostra foram pesadas em tubo para centrífuga de fundo cônico (tipo Falcon) de 50 mL. Para a aplicação do método, foi realizada a adição de 10 mL de água à amostra pesada, para dar uma consistência pastosa (*slurry*). Para a etapa de fortificação, foi adicionado às amostras 0,5 mL, 1,0 mL e 2,0 mL da solução intermediária contendo a mistura dos agrotóxicos, com concentração conhecida, para cada um dos três níveis, respectivamente. Após agitação em vórtex por 30 s deixou-se repousar por 15 min.

Após o período de descanso, iniciou-se o processo de extração com a adição de 15 mL de acetonitrila acidificada com 1 % de ácido acético, seguida de agitação em vortex por 30 s. Para a etapa de partição foram adicionadas 6,0 g de MgSO_4 + 1,5 g $\text{Na}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$ repetindo a homogeneização por cerca de 30 s em vortex e posteriormente centrifugados a 3000 rpm, durante 7 minutos a temperatura ambiente.

O extrato orgânico foi diluído com metanol e filtrado em unidades filtrantes de 0,22 μm diretamente para *vial*, para então ser feita a análise cromatográfica. O processo de extração está representado pelo fluxograma da figura 2.

Figura 2 - Fluxograma da extração pelo método QuEChERS utilizado na validação.



Para as amostras de soja, foram pesados ± 10 g de amostra em tubo de teflon de 250 mL para centrífuga, seguido da adição de 10 mL de água para a formação do *slurry*. As etapas de extração, partição e diluição também foram realizadas conforme descrito acima.

3.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

Na validação do método foram avaliados os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limites de detecção e quantificação do método, precisão como repetibilidade e exatidão como recuperação. Os critérios de aceitação dos resultados obtidos estão definidos no CODEX e no SANTE (*European Commission Directorate-General For Health and Food Safety*) (CODEX, 2003; SANTE, 2016).

3.2.1 Seletividade

A seletividade foi verificada a partir da análise dos extratos orgânicos das amostras da mistura utilizada e de milho e soja, separadamente, quanto à ausência dos resíduos de agrotóxicos estudados identificados por UPLC-MS/MS e de

interferentes que pudessem afetar a metodologia proposta. Para a comprovação da seletividade do método, foram analisadas duas alíquotas de cada amostra.

3.2.2 Linearidade e Faixa de trabalho

A avaliação da linearidade e faixa de trabalho foi realizada através da construção da curva analítica em matriz. A preparação da curva consistiu na diluição de 1 mL de extrato orgânico da mistura de milho e soja em 1 mL da mistura de agrotóxico em metanol. Foram estudados 6 pontos na faixa de concentração de 0,002 a 0,048 µg/mL, sendo cada concentração injetada em duplicata no equipamento de UPLC-MS/MS. Já a preparação da curva de milho e soja, separadamente, consistiu na diluição de 1 mL de extrato orgânico das amostras de milho e soja em 1 mL da mistura de agrotóxico em metanol. Foram três pontos estudados na faixa de concentração de 0,002 a 0,016µg/mL

A linearidade da faixa de trabalho foi analisada através da leitura da curva analítica, utilizando o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) de acordo com relação linear, verificando a significância da regressão ($r \geq 0,98$ e $R^2 \geq 0,95$) (CARDOSO et al, 2010) e a homogeneidade na variância dos resíduos da regressão pelo método de *Cochran*.

3.2.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação (LD e LQ) foram estabelecidos com base no método da relação sinal/ruído (S/R) para cada agrotóxico avaliado, no qual se aceita a estimativa de 3:1 para o LD e de 10:1 para o LQ. Esta relação (S/R) foi calculada pela *ChemStation MassLynx™* Versão 4.1 do equipamento de UPLC-MS/MS (SANTE, 2016).

3.2.4 Precisão (repetibilidade) e Exatidão (taxa de recuperação)

Para a avaliação da precisão e exatidão do método, as amostras da mistura, previamente avaliadas como branco, foram fortificadas em três concentrações distintas (0,006, 0,012 e 0,024 $\mu\text{g mL}^{-1}$), em quadruplicata, com a mistura dos agrotóxicos de interesse e injetadas em duplicata. No caso das matrizes milho e soja, para a avaliação da precisão e exatidão, as amostras avaliadas como branco, foram fortificadas em uma concentração de 0,006, $\mu\text{g/mL}$, em quadruplicata, com a mistura dos agrotóxicos de interesse e injetadas duas vezes. O primeiro nível de fortificação foi utilizado para confirmação do LQ calculado para o método a partir dos valores observados através da relação S/R.

A precisão (repetibilidade) foi expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (DPR), também conhecido como coeficiente de variação (CV), sendo considerado aceitável o valor de até 20 %. A exatidão foi calculada pela divisão da concentração média experimental pela concentração média teórica multiplicada por 100. A faixa de variação aceitável é de 70 – 120 % e foi expressa para os três níveis de concentração estudados (SANTE, 2016).

3.3 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os equipamentos, condições cromatográficas, padrões e reagentes utilizados e o preparo das soluções analíticas foram os mesmos descritos no item 3.1.

3.3.1 Amostras

As amostras de milho e soja utilizadas para avaliação de resíduos de agrotóxicos por UPLC-MS/MS foram adquiridas na região Centro-Oeste do Brasil.

3.3.2 Processamento das amostras

As amostras de milho chegaram ao laboratório já processadas. As amostras de soja em grão e com casca foram trituradas em liquidificador com copo de vidro. Após processadas, foram conservadas em frascos devidamente identificados, em geladeira sob refrigeração entre 3 à 6 °C, até o momento de sua utilização.

3.3.3 Agrotóxicos avaliados

Foram avaliados 194 agrotóxicos pela metodologia validada no Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do INCQS. As substâncias avaliadas estão presentes na tabela 1.

3.3.4 Método de ensaio

Foram pesados ± 10 g de amostra em um tubo para centrífuga de fundo cônico (tipo Falcon) de 50 mL, seguido da adição de 10 mL de água para a formação do *slurry*. A etapa de extração, partição e diluição foram realizadas conforme o item 3.1.7.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

4.1.1 Seletividade

Tanto a mistura, quanto as amostras de milho e soja avaliadas, não apresentaram interferentes em concentrações que poderiam invalidar a continuidade do processo de validação. Desta forma, estas amostras puderam ser consideradas como “branco” e foram utilizadas para a validação do método apresentado.

4.1.2 Linearidade e Faixa de trabalho

Para a mistura, a condição de homoscedasticidade dos resíduos foi confirmada para 189 substâncias na utilização da curva em matriz contendo cinco pontos, exceto para **carbendazim**, **fentoato**, **mepronil**, **penconazol**, **pirimicarbe desmetil**, **triazofós** e **vamidotiona**, que apresentaram esta condição na curva com quatro pontos. Alguns agrotóxicos, como **acibenzolar-S-metílico**, **ciazofamida**, **diafentiruon**, **iprodivona** e **lufenuron** não apresentaram resposta.

A curva analítica em matriz mostrou-se linear, com regressão significativa, na faixa de concentração estudada para 189 agrotóxicos estudados. Com relação aos coeficientes de correlação (r) e de determinação (R^2), 187 substâncias apresentaram valores de r maiores ou iguais a 0,98 e de R^2 maiores ou iguais a 0,95, com exceção dos agrotóxicos **fluquinconazol** ($r= 0,97$ e $R^2= 0,94$) e **mepanipirim** ($r= 0,95$ e $R^2= 0,91$). Na Tabela 5 são apresentados os valores dos coeficientes de correlação (r) e determinação (R^2) encontrados.

Tabela 5 - Valores dos coeficientes de correlação (r) e determinação (R²).

Substância	Avaliação da curva analítica		Substância	Avaliação da curva analítica	
	r	R ²		r	R ²
3-OH-Carbofurano	0,9996	0,9992	Furatiocarbe	0,9941	0,9882
Abamectina	0,9996	0,9992	Halofenosídeo	0,9875	0,9753
Acefato	0,9998	0,9997	Hexaconazol	0,9932	0,9864
Acetamiprido	0,9986	0,9971	Hexitiazoxi	0,9996	0,9993
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta		Imazalil	0,9994	0,9989
Aldicarbe	0,9904	0,9810	Imazapic	0,9996	0,9992
Aldicarbe Sulfona	0,9999	0,9997	Imazaquim	0,9996	0,9993
Aldicarbe Sulfóxido	0,9995	0,9989	Imidacloprido	0,9995	0,9989
Ametrina	0,9990	0,9980	Indoxacarbe	0,9937	0,9874
Atrazina	0,9991	0,9982	Iprodiona	sem resposta	
Azaconazol	0,9978	0,9957	Iprovalicarbe	0,9994	0,9989
Azametifós	0,9993	0,9985	Isoprotiolona	0,9946	0,9892
Azinfós Etilico	0,9769	0,9544	Isoxaflutol	0,9991	0,9982
Azinfós Metílico	0,9976	0,9951	Isoxationa	0,9984	0,9968
Azoxistrobina	0,9994	0,9989	Linurom	0,9918	0,9837
Benalaxil	0,9982	0,9964	Lufenuron	sem resposta	
Emamectina Benzoato	0,9929	0,9859	Malationa	0,9911	0,9823
Bitertanol	0,9953	0,9907	Mandipropamida	0,9989	0,9977
Boscalida	0,9981	0,9963	Mefenacete	0,9996	0,9993
Bromuconazol	0,9955	0,9910	Mefosfolan	0,9966	0,9932
Bupirimato	0,9951	0,9902	Mepanipirim	0,9518	0,9060
Buprofezina	0,9981	0,9963	Mepronil	0,9989	0,9979
Butocarboxim Sulfóxido	0,9991	0,9982	Metalaxil	0,9983	0,9967
Cadusafós	0,9986	0,9971	Metalaxil-M	0,9999	0,9998
Carbaril	0,9993	0,9987	Metamidofós	0,9995	0,9991
Carbendazim	0,9987	0,9975	Metconazol	0,9823	0,9650
Carbofurano	0,9997	0,9995	Metidationa	0,9987	0,9975
Carbossulfano	0,9999	0,9997	Metiocarbe	0,9994	0,9988
Carpropamida	0,9973	0,9947	Metiocarbe Sulfona	0,9941	0,9883
Ciazofamida	sem resposta		Metiocarbe Sulfóxido	0,9998	0,9995
Cimoxanil	0,9980	0,9960	Metobromuron	0,9968	0,9937
Ciproconazol	0,9972	0,9945	Metomil	0,9946	0,9893
Ciprodinil	0,9970	0,9939	Metoxifenosida	0,9996	0,9992
Ciromazina	0,9982	0,9963	Metoxuron	0,9967	0,9934
Clofentezina	0,9929	0,9859	Mevinfós	0,9978	0,9956
Clomazona	0,9994	0,9987	Miclobutanil	0,9887	0,9775
Clorbromuron	0,9972	0,9945	Molinato	0,9993	0,9985
Clorfenvinfós	0,9984	0,9968	Monocrotofós	0,9966	0,9932

Tabela 5 – (Continuação) Valores dos coeficientes de correlação (r) e determinação (R²).

Substância	Avaliação da curva analítica		Substância	Avaliação da curva analítica	
	r	R ²		r	R ²
Clorpirifós	0,9971	0,9941	Monolinuron	0,9974	0,9948
Clorpirifós Metílico	0,9934	0,9868	Nitenpiran	0,9985	0,9970
Clotianidina	0,9983	0,9966	Nuarimol	0,9911	0,9823
Coumafós	0,9973	0,9946	Ometoato	0,9998	0,9996
Cresoxim Metílico	0,9902	0,9804	Oxadixil	0,9985	0,9969
Demeton-S-Metílico	0,9976	0,9952	Oxamil	0,9968	0,9937
Desmedifan	0,9952	0,9904	Oxamil Oxima	0,9976	0,9952
Diafentiuron	sem reposta		Oxicarboxina	0,9999	0,9998
Diazinona	0,9991	0,9982	Paclobutrazol	0,9956	0,9912
Diclofuanida	0,9762	0,953	Pencicrom	0,9995	0,9991
Diclorvós	0,9957	0,9914	Penconazol	0,9961	0,9923
Dicrotofós	0,9977	0,9954	Picoxistrobina	0,9872	0,9745
Dietofencarbe	0,9953	0,9906	Pimetrozina	0,9987	0,9974
Difenoconazol	0,9989	0,9978	Piperonil Butóxido	0,9957	0,9913
Diflubenzuron	0,9831	0,9665	Piraclostrobina	0,9875	0,9751
Dimetoato	0,9997	0,9995	Pirazofós	0,9959	0,9918
Dimetomorfe	0,9933	0,9867	Piridaben	0,9964	0,9929
Dimoxistrobina	0,9775	0,9555	Piridafentiona	0,9974	0,9947
Diniconazol	0,9901	0,9803	Pirifenox	0,9985	0,9970
Dissulfotom	0,9964	0,9927	Pirimetamil	0,9996	0,9991
Diuron	0,9959	0,9918	Pirimicarbe	0,9997	0,9993
DMSA	0,9985	0,9970	Pirimicarbe Desmetil	0,9994	0,9988
DMST	0,9970	0,9940	Pirimifós Etílico	0,9974	0,9949
Dodemorfe	0,9989	0,9979	Pirimifós Metílico	0,9846	0,9695
Epoxiconazol	0,9975	0,9951	Piriproxifem	0,9992	0,9984
Espinosade A	0,9973	0,9946	Procloraz	0,9940	0,9880
Espirodiclofen	0,9965	0,9930	Profenofós	0,9909	0,9820
Espiroxamina	0,9996	0,9992	Propargito	0,9959	0,9918
Etiofencarbe Sulfona	0,9998	0,9995	Propiconazol	0,9937	0,9874
Etiofencarbe Sulfóxido	0,9998	0,9995	Propizamida	0,9917	0,9836
Etiona	0,9965	0,9930	Propoxur	0,9984	0,9967
Etiprole	0,9981	0,9963	Quinalfós	0,9927	0,9854
Etirimol	0,9995	0,9990	Simazina	0,9978	0,9955
Etifenproxi	0,9912	0,9825	Tebuconazol	0,9983	0,9965
Etoprofós	0,9950	0,9901	Tebufenosida	0,9860	0,9723
Etrinifós	0,9982	0,9964	Tebufenpirade	0,9990	0,9981
Famoxadona	0,9939	0,9878	Terbufós	0,9949	0,9898
Fenamidona	0,9978	0,9956	Tetraconazol	0,9959	0,9919

Tabela 5 – (Continuação) Valores dos coeficientes de correlação (r) e determinação (R²).

Substância	Avaliação da curva analítica		Substância	Avaliação da curva analítica	
	r	R ²		r	R ²
Fenamifós	0,9924	0,9848	Tiabendazol	0,9992	0,9984
Fenarimol	0,9886	0,9772	Tiacloprido	0,9997	0,9995
Fenazaquina	0,9967	0,9935	Tiametoxam	0,9994	0,9988
Fenbuconazol	0,9935	0,9870	Tiobencarbe	0,9802	0,9607
Fenhexamida	0,9911	0,9823	Tiodicarbe	0,9987	0,9974
Fenoxicarbe	0,9900	0,9801	Tiofanato Metílico	0,9979	0,9957
Fenpiroximato	0,9997	0,9994	Tiofanox Sulfona	0,9966	0,9932
Fenpropidina	0,9882	0,9764	Tiofanox Sulfóxido	0,9985	0,9971
Fenpropimorfe	0,9991	0,9982	Tolclofós Metílico	0,9913	0,9826
Fentiona	0,9786	0,9577	Tolifluanida	0,9950	0,9900
Fentiona Sulfóxido	0,9955	0,9910	Triadimefon	0,9879	0,9759
Fentoato	0,9993	0,9986	Triadimenol	0,9921	0,9843
Fluazifope-p-butílico	0,9972	0,9944	Triazofós	0,9985	0,9970
Flufenacete	0,9983	0,9966	Triciclozol	0,9982	0,9965
Flufenoxuron	0,9997	0,9993	Triclorfon	0,9987	0,9974
Fluquinconazol	0,9695	0,9400	Trifloxistrobina	0,9984	0,9969
Flusilasol	0,9962	0,9924	Triflumizol	0,9969	0,9937
Flutriafol	0,9979	0,9957	Triticonazol	0,9839	0,9680
Fosalona	0,9936	0,9872	Vamidotiona	0,9884	0,9769
Fosfamidona	0,9934	0,9869	Vamidotiona Sulfona	0,9998	0,9997
Fosmete	0,9969	0,9938	Zoxamida	0,9784	0,9573

Nota: os agrotóxicos em fonte em negrito não foram considerados na validação por apresentarem $r < 0,98$, $R^2 < 0,95$ e/ou por não apresentarem resposta.

Para o milho e a soja, a condição de homoscedasticidade dos resíduos foi confirmada para 183 substâncias na utilização da curva em matriz contendo três pontos. Alguns agrotóxicos, como **acibenzolar-S-metílico**, **aldicarbe sulfona**, **ciazofamida**, **diafentiruon**, **DMST**, **iprodivona**, **lufenuron**, **mepanipirim**, **tiobencarbe**, **triadimenol** e **vamidotiona sulfona** não apresentaram resposta.

A curva analítica em matriz mostrou-se linear, com regressão significativa, na faixa de concentração estudada para 183 agrotóxicos. Com relação aos coeficientes de correlação (r) e de determinação (R²), as 183 substâncias apresentaram valores de r maiores ou iguais a 0,98 e de R² maiores ou iguais a 0,95. A tabela 5 acima, apresenta, como exemplo, os valores obtidos.

4.1.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Para a mistura, o estabelecimento do valor do LQ foi considerado o menor nível de fortificação com precisão e exatidão satisfatórias. Os valores de LQ variaram entre 0,016 e 0,026 mg kg⁻¹ para as substâncias analisadas na matriz avaliada, enquanto os valores de LD variaram entre 0,0053 e 0,0086 mg kg⁻¹.

Os valores de LD e LQ calculados para o método foram adequados à legislação nacional e abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA para 142 substâncias. Para **abamectina**, **clorpirifós**, **dimoxistrobina**, **espinosade** e **triazofós** não foram adequados devido ao LMR dessas substâncias serem menores do que o LD e LQ calculados. As demais não apresentaram resposta ou não foi possível estabelecer esses valores porque não obtiveram precisão e exatidão satisfatórias. Na tabela 6 constam os valores de razão sinal/ruído e dos LD e LQ calculados.

Tabela 6 – Avaliação da relação S/N e valores dos LD e LQ calculados para o método – mistura

Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)
3-OH-Carbofurano	90,5	0,00645	0,01936	Furatiocarbe	56,74	0,00697	0,02091
Abamectina	20,66	0,00647	0,01941	Halofenosídeo	58,26	0,00649	0,01948
Acefato	436,45	0,00645	0,01936	Hexaconazol	32,61	0,00696	0,02089
Acetamiprido	343,22	0,00645	0,01936	Hexitiazoxi	199,55	0,00645	0,01936
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta			Imazalil	62,01	0,00645	0,01936
Aldicarbe	21,8	Não estabelecido		Imazapic	22,21	Não estabelecido	
Aldicarbe Sulfona	490,42	0,00645	0,01936	Imazaquim	32,96	Não estabelecido	
Aldicarbe Sulfóxido	288,75	0,00645	0,01936	Imidacloprido	33,2	0,00645	0,01936
Ametrina	128,81	0,00645	0,01936	Indoxacarbe	17,12	0,00682	0,02045
Atrazina	17,37	0,0067	0,0201	Iprodiona	sem resposta		
Azaconazol	104,76	0,00645	0,01936	Iprovalicarbe	51,86	0,00645	0,01936
Azametifós	39,07	0,00663	0,0199	Isoprotiolona	29,79	0,00696	0,02087
Azinfós Etilico	14,28	0,00663	0,0199	Isoxaflutol	79,16	0,00645	0,01936
Azinfós Metílico	80,75	0,00576	0,01727	Isoxationa	24,44	0,00675	0,02024
Azoxistrobina	258,63	0,00645	0,01936	Linurom	52,55	0,00659	0,01976
Benalaxil	145,05	0,00645	0,01936	Lufenuron	sem resposta		
Benzoato de Emamectina	23,22	0,00642	0,01926	Malationa	46,79	Não estabelecido	

Tabela 6 – (Continuação) Avaliação da relação S/N e valores dos LD e LQ calculados para o método – mistura

Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)
Bitertanol	23,42	Não estabelecido		Mandipropamida	255,58	0,00645	0,01936
Boscalida	35,22	Não estabelecido		Mefenacete	211,51	0,00645	0,01936
Bromuconazol	28,24	0,0072	0,02159	Mefosfolan	28,3	0,0082	0,02461
Bupirinato	105,28	Não estabelecido		Mepanipirim	247,2	Não estabelecido	
Buprofezina	37,77	0,00665	0,01994	Mepronil	109,45	0,00645	0,01936
Butocarboxim Sulfóxido	313,71	0,00645	0,01936	Metalaxil	26,28	0,00561	0,01683
Cadusafós	57,78	0,00701	0,02103	Metalaxil-M	410,6	0,00645	0,01936
Carbaril	21,82	0,00687	0,0206	Metamidofós	231,59	0,00645	0,01936
Carbendazim	46,81	0,00645	0,01936	Metconazol	61,43	0,00645	0,01936
Carbofurano	42,73	0,00662	0,01986	Metidationa	10,58	0,00769	0,02308
Carbossulfano	195,03	0,00645	0,01936	Metiocarbe	174,56	0,00645	0,01936
Carpropamida	61,85	0,00657	0,0197	Metiocarbe Sulfona	26,18	0,00692	0,02075
Ciazofamida	sem resposta			Metiocarbe Sulfóxido	295,35	0,00645	0,01936
Cimoxanil	59,1	0,00645	0,01936	Metobromuron	36,35	0,00695	0,02084
Ciproconazol	35,85	0,00645	0,01936	Metomil	23,18	0,00697	0,02091
Ciprodinil	27,41	Não estabelecido		Metoxifenosida	23,74	0,00696	0,02087
Ciromazina	361,62	Não estabelecido		Metoxuron	56,56	0,00699	0,02098
Clofentezina	101,59	0,00645	0,01936	Mevinfós	12,84	0,00645	0,01936
Clomazona	115,74	0,00645	0,01936	Miclobutanil	67,31	0,00659	0,01976
Clorbromuron	10,78	0,00688	0,02065	Molinato	137,12	0,00645	0,01936
Clorfenvinfós	17,13	0,00734	0,02202	Monocrotofós	95,43	0,00645	0,01936
Clorpirifós	53,93	0,00645	0,01936	Monolinuron	346,52	0,00674	0,02021
Clorpirifós Metílico	82,87	Não estabelecido		Nitenpiran	14,01	0,00645	0,01936
Clotianidina	16,94	0,00645	0,01936	Nuarimol	11,58	Não estabelecido	
Coumafós	161,03	0,00645	0,01936	Ometoato	38,57	0,00645	0,01936
Cresoxim Metílico	77,55	Não estabelecido		Oxadixil	13,18	0,00665	0,01994
Demeton-S-Metílico	48,62	0,00671	0,02014	Oxamil	13,93	0,00645	0,01936
Desmedifan	40,35	0,00589	0,01768	Oxamil Oxima	79,37	0,00645	0,01936
Diafentiuron	sem resposta			Oxicarboxina	146,49	0,00645	0,01936
Diazinona	88,12	Não estabelecido		Pacloutrazol	63,43	0,00697	0,02091
Diclofuanida	41,03	Não estabelecido		Pencicrom	176,14	0,00645	0,01936
Diclorvós	32,49	0,00645	0,01936	Penconazol	107,07	0,00658	0,01974
Dicrotofós	55,12	0,00645	0,01936	Picoxistrobina	55,81	Não estabelecido	
Dietofencarbe	41,22	0,00676	0,02029	Pimetrozina	37,49	Não estabelecido	

Tabela 6 – (Continuação) Avaliação da relação S/N e valores dos LD e LQ calculados para o método – mistura

Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)
Difenoconazol	83,12	0,00645	0,01936	Piperonil Butóxido	169,06	0,00787	0,02361
Diflubenzuron	31,73	Não estabelecido		Piraclostrobina	90,48	Não estabelecido	
Dimetoato	26,06	0,00645	0,01936	Pirazofós	238,38	0,00703	0,02108
Dimetomorfe	125,26	0,00645	0,01936	Piridaben	10,22	0,00648	0,01945
Dimoxistrobina	196,02	0,00656	0,01969	Piridafentiona	106,33	0,00645	0,01936
Diniconazol	11,39	0,00645	0,01936	Pirifenox	43,48	0,00645	0,01936
Dissulfotom	142,63	Não estabelecido		Pirimetanil	91,59	0,00645	0,01936
Diuron	22,06	0,0066	0,01979	Pirimicarbe	174,07	0,00645	0,01936
DMSA	23,35	Não estabelecido		Pirimicarbe Desmetil	58,62	0,00645	0,01936
DMST	47,24	0,00721	0,02162	Pirimifós Etilico	130,42	0,00712	0,02137
Dodemorfe	12,91	0,00685	0,02054	Pirimifós Metílico	85,18	0,00522	0,01565
Epoxiconazol	21,82	0,00533	0,01599	Piriproximem	86,6	0,00662	0,01987
Espinosade A	69,81	0,0057	0,01711	Procloraz	137,92	0,00645	0,01936
Espinosade D	24,57	0,0057	0,01711	Profenofós	119,24	0,00683	0,02048
Espirodiclofen	27,03	0,00673	0,0202	Propargito	147,56	0,0075	0,02251
Espiroxamina	69,97	0,00645	0,01936	Propiconazol	21,36	0,00739	0,02216
Etiofencarbe Sulfona	40,85	0,00645	0,01936	Propizamida	107,59	0,00645	0,01936
Etiofencarbe Sulfóxido	30,48	0,00645	0,01936	Propoxur	23,84	0,00693	0,02078
Etiona	161	0,00857	0,02571	Quinalfós	404,85	0,00726	0,02177
Etiprole	19,9	Não estabelecido		Simazina	17,84	0,00687	0,02061
Etirimol	46,37	0,00645	0,01936	Tebuconazol	59,53	Não estabelecido	
Etofenproxi	56,22	Não estabelecido		Tebufenosida	37,78	Não estabelecido	
Etoprofós	18,19	0,00635	0,01904	Tebufenpirade	108,61	0,00645	0,01936
Etrinofós	40,03	0,0076	0,02279	Terbufós	65,01	0,00645	0,01936
Famoxadona	268,69	0,00645	0,01936	Tetraconazol	83,99	Não estabelecido	
Fenamidona	34,31	0,00645	0,01936	Tiabendazol	289,31	0,00645	0,01936
Fenamifós	122,84	Não estabelecido		Tiacloprido	159,46	0,00645	0,01936
Fenarimol	18,69	Não estabelecido		Tiametoxam	100,76	0,00645	0,01936
Fenazaquina	14,9	0,00672	0,02015	Tiobencarbe	20,57	Não estabelecido	
Fenbuconazol	48,62	Não estabelecido		Tiodicarbe	326,69	Não estabelecido	
Fenhexamida	39,01	Não estabelecido		Tiofanato Metílico	35,9	Não estabelecido	
Fenoxicarbe	33,32	0,00682	0,02047	Tiofanox Sulfona	15,98	0,00703	0,02109
Fenpiroximato	207,86	0,00645	0,01936	Tiofanox Sulfóxido	18,1	0,00645	0,01936
Fenpropidina	37,55	0,00694	0,02083	Tolclofós Metílico	15,85	Não estabelecido	

Tabela 6 – (Continuação) Avaliação da relação S/N e valores dos LD e LQ calculados para o método – mistura

Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)	Substância	Razão Sinal/Ruído	LD (mg/kg)	LQ (mg/kg)
Fenpropimorfe	47,48	0,00645	0,01936	Tolifluanida	173,74	Não estabelecido	
Fentiona	27,48	0,00645	0,01936	Triadimefon	18,96	Não estabelecido	
Fentiona Sulfóxido	15,88	0,00659	0,01978	Triadimenol	68,77	Não estabelecido	
Fentoato	85,81	0,00784	0,02353	Triazofós	210,26	0,00645	0,01936
Fluazifope-p-butílico	159,14	0,0072	0,02161	Triciclozol	101,88	0,00645	0,01936
Flufenacete	130,58	0,00681	0,02044	Triclorfon	29,1	0,00645	0,01936
Flufenoxuron	66,32	0,00645	0,01936	Trifloxistrobina	92,88	0,00699	0,02098
Fluquinconazol	567,86	Não estabelecido		Triflumizol	26,66	0,00683	0,02049
Flusilasol	125,04	Não estabelecido		Triticonazol	925,17	Não estabelecido	
Flutriafol	16,25	0,00667	0,02001	Vamidotiona	104,7	0,00654	0,01963
Fosalona	67,52	Não estabelecido		Vamidotiona Sulfona	197,4	0,00516	0,01549
Fosfamidona	31,03	Não estabelecido		Zoxamida	170,23	0,00691	0,02073
Fosmete	108,11	0,00692	0,02077	-	-		

Nota: os agrotóxicos em fonte em negrito não foram considerados na validação por não terem os valores de LD e LQ estabelecidos e/ou por não apresentarem resposta.

No caso das matrizes milho e soja, para estabelecer o valor do LQ foi considerado o menor nível de fortificação com precisão e exatidão satisfatórias. Os valores de LQ variaram entre 0,0196 e 0,0199 mg kg⁻¹, para milho e soja, respectivamente, enquanto os valores de LD variaram entre 0,0065 e 0,0066 mg kg⁻¹.

Os valores de LD e LQ calculados para o método foram adequados à legislação nacional e abaixo dos LMRs estabelecidos pela ANVISA para 143 e 132 substâncias para o milho e soja, respectivamente. Para **abamectina, clorpirifós, dimoxistrobina, espinosade e triazofós** não foram adequados devido ao LMR dessas substâncias serem menores do que o LD e LQ calculados. As demais não apresentaram resposta ou não foi possível estabelecer esses valores, pois não obtiveram precisão e exatidão satisfatórias.

4.1.4 Precisão (repetibilidade) e Exatidão (taxa de recuperação)

Nas tabelas 7 e 8, pode-se observar os resultados de precisão (coeficientes de variação) e exatidão (taxas de recuperação), nos três níveis estudados, respectivamente, obtidos para a mistura (60 % de milho e 40 % de soja).

Tabela 7 - Avaliação de precisão - coeficiente de variação (%) – mistura

Substância	Precisão - Repetitividade			Substância	Precisão – Repetitividade		
	Critério 20 %				Critério 20%		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
3-OH-Carbofurano	6	4	4	Furatiocarbe	5	5	3
Abamectina	13	8	8	Halofenosídeo	9	12	10
Acefato	5	5	3	Hexaconazol	14	18	8
Acetamiprido	5	5	5	Hexitiazoxi	11	7	5
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta			Imazalil	9	5	4
Aldicarbe	44	23	16	Imazapic	11	3	4
Aldicarbe Sulfona	4	4	3	Imazaquim	8	7	4
Aldicarbe Sulfóxido	6	5	3	Imidacloprido	10	10	8
Ametrina	3	4	4	Indoxacarbe	11	9	4
Atrazina	10	5	6	Iprodiona	sem resposta		
Azaconazol	7	5	4	Iprovalicarbe	11	12	11
Azametifós	5	5	6	Isoprotioluma	7	5	5
Azinfós Etilico	16	12	14	Isoxaflutol	17	8	9
Azinfós Metílico	7	9	6	Isoxationa	5	5	5
Azoxistrobina	3	3	7	Linurom	14	19	10
Benalaxil	7	6	2	Lufenuron	sem resposta		
Benzoato de Emamectina	11	2	7	Malationa	19	9	9
Bitertanol	24	21	12	Mandipropamida	10	4	13
Boscalida	21	13	14	Mefenacete	6	4	16
Bromuconazol	20	12	11	Mefosfolan	6	3	3
Bupirimato	14	9	18	Mepanipirim	101	28	31
Buprofezina	9	5	2	Mepronil	10	12	13
Butocarboxim Sulfóxido	6	4	6	Metalaxil	5	4	3
Cadusafós	9	9	5	Metalaxil-M	3	4	3
Carbaril	5	4	5	Metamidofós	6	3	3
Carbendazim	5	10	5	Metconazol	12	14	20
Carbofurano	6	3	4	Metidationa	7	4	2
Carbossulfano	2	3	2	Metiocarbe	7	5	4
Carpropamida	14	5	4	Metiocarbe Sulfona	8	8	5

Tabela 7 – (Continuação) Avaliação de precisão - coeficiente de variação (%) – mistura

Substância	Precisão - Repetitividade			Substância	Precisão – Repetitividade		
	Critério 20 %				Critério 20%		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
Ciazofamida	sem resposta			Metiocarbe Sulfóxido	3	4	2
Cimoxanil	9	5	2	Metobromuron	8	6	6
Ciproconazol	8	5	9	Metomil	10	5	9
Ciprodinil	22	11	10	Metoxifenosida	14	12	8
Ciromazina	12	13	9	Metoxuron	10	7	6
Clofentezina	12	9	5	Mevinfós	10	9	12
Clomazona	3	6	3	Miclobutanil	11	10	8
Clorbromuron	17	11	11	Molinato	13	13	20
Clorfenvinfós	12	11	10	Monocrotófós	7	7	5
Clorpirifós	8	9	5	Monolinuron	13	5	7
Clorpirifós Metílico	27	7	20	Nitenpiran	18	6	7
Clotianidina	8	10	8	Nuarimol	15	21	12
Coumafós	12	12	6	Ometoato	9	8	4
Cresoxim Metílico	27	27	12	Oxadixil	10	7	8
Demeton-S-Metílico	7	5	6	Oxamil	8	7	5
Desmedifan	7	6	5	Oxamil Oxima	9	4	2
Diafentiuron	sem resposta			Oxicarboxina	3	5	3
Diazinona	5	7	22	Paclobutrazol	7	4	6
Diclofuanida	60	29	21	Pencicuumom	11	5	3
Diclorvós	7	10	4	Penconazol	11	9	14
Dicrotofós	7	3	4	Picoxistrobina	19	17	14
Dietofencarbe	6	4	6	Pimetrozina	7	5	4
Difenoconazol	5	4	11	Piperonil Butóxido	6	4	4
Diflubenzuron	57	26	44	Piraclostrobina	20	12	19
Dimetoato	6	4	4	Pirazofós	11	6	5
Dimetomorfe	9	9	8	Piridaben	8	5	5
Dimoxistrobina	16	7	9	Piridafentiona	11	4	5
Diniconazol	14	7	15	Pirifenox	19	12	7
Dissulfotom	10	4	14	Pirimetanil	8	5	7
Diuron	6	5	4	Pirimicarbe	3	6	4
DMSA	10	6	4	Pirimicarbe Desmetil	4	5	3
DMST	7	6	6	Pirimifós Etilico	6	4	3
Dodemorfe	6	3	2	Pirimifós Metílico	14	11	12
Epoxiconazol	12	9	10	Piriproxifem	4	6	6
Espinosade A	7	9	7	Procloraz	9	8	16
Espinosade D	11	8	7	Profenofós	8	4	6
Espirodiclofen	7	7	13	Propargito	4	6	5
Espiroxamina	4	3	3	Propiconazol	9	9	4
Etiofencarbe Sulfona	5	5	3	Propizamida	12	12	13

Tabela 7 – (Continuação) Avaliação de precisão - coeficiente de variação (%) – mistura

Substância	Precisão - Repetitividade			Substância	Precisão – Repetitividade		
	Critério 20 %				Critério 20%		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
Etiofencarbe Sulfóxido	3	4	2	Propoxur	5	5	2
Etiona	3	4	6	Quinalfós	20	14	15
Etiprole	24	15	9	Simazina	12	6	5
Etirimol	3	6	3	Tebuconazol	4	6	3
Etofenproxi	9	15	6	Tebufenosida	30	17	15
Etoprofós	9	8	7	Tebufenpirade	5	3	3
Etrinfós	5	7	4	Terbufós	17	10	6
Famoxadona	15	11	14	Tetraconazol	30	8	27
Fenamidona	18	12	15	Tiabendazol	4	7	5
Fenamifós	24	20	16	Tiacloprido	4	5	3
Fenarimol	47	29	20	Tiametoxam	5	5	5
Fenazaquina	5	6	7	Tiobencarbe	77	16	24
Fenbuconazol	25	12	8	Tiodicarbe	14	12	7
Fenhexamida	26	19	10	Tiofanato Metílico	32	6	6
Fenoxicarbe	19	5	5	Tiofanox Sulfona	12	10	6
Fenpiroximato	3	3	2	Tiofanox Sulfóxido	6	5	7
Fenpropidina	8	5	3	Tolclofós Metílico	22	11	18
Fenpropimorfe	2	4	4	Tolifluanida	23	27	14
Fentiona	13	14	12	Triadimefon	28	21	13
Fentiona Sulfóxido	13	6	5	Triadimenol	48	36	9
Fentoato	11	8	15	Triazofós	16	15	13
Fluazifope-p-butílico	5	5	3	Triciclozol	5	4	4
Flufenacete	6	4	8	Triclorfon	8	10	6
Flufenoxuron	9	6	6	Trifloxistrobina	6	6	6
Fluquinconazol	86	32	48	Triflumizol	14	6	10
Flusilasol	8	9	23	Triticonazol	21	11	10
Flutriafol	8	5	5	Vamidotiona	10	5	3
Fosalona	7	6	5	Vamidotiona Sulfona	5	6	3
Fosfamidona	42	30	12	Zoxamida	17	12	15
Fosmete	6	5	4	-	-	-	-

Em negrito: agrotóxicos que apresentaram falta de resposta ou CV > 20 %.

Tabela 8 – Avaliação de exatidão - taxa de recuperação – mistura

Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %			Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
3-OH-Carbofurano	83,8	92,2	94,7	Furatiocarbe	72,7	76,1	75,2
Abamectina	87,2	90,3	94,2	Halofenosídeo	105,1	99	100,2
Acefato	80,9	80,3	81,4	Hexaconazol	70,6	81,7	94,6
Acetamiprido	79,5	81	91,8	Hexitiazoxi	92	93,2	91,5
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta			Imazalil	87,9	89,3	96,6
Aldicarbe	81,8	104,4	111,5	Imazapic	34,6	45,6	47,2
Aldicarbe Sulfona	88,9	88,7	91,8	Imazaquim	54,4	59,3	59,7
Aldicarbe Sulfóxido	87,3	86,6	89,4	Imidacloprido	85,6	88,9	91,8
Ametrina	92,5	91,6	92,3	Indoxacarbe	89,8	89,4	84,9
Atrazina	73,5	81,3	83,4	Iprodiona	sem resposta		
Azaconazol	87,3	91,7	94,1	lprovalicarbe	82,7	87,9	90,9
Azametifós	77,6	87,6	86,4	Isoprotioluma	82,7	83,8	86,7
Azinfós Etilico	114	104,8	102	Isoxaflutol	80,3	86,1	96,1
Azinfós Metílico	99,5	101	96,8	Isoxationa	82,5	84,3	88,7
Azoxistrobina	93,6	93,1	95,6	Linurom	78,7	74,2	79,8
Benalaxil	95,9	91,9	88,8	Lufenuron	sem resposta		
Benzoato de Emamectina	86,5	94,8	89,8	Malationa	52,3	70,9	83,6
Bitertanol	94,2	96,8	97,7	Mandipropamida	93,6	91,7	97,5
Boscalida	78,9	76,1	77,3	Mefenacete	84,9	92,3	86,4
Bromuconazol	78,8	89,9	79,7	Mefosfolan	82,8	94,5	95,3
Bupirimato	53,1	78,4	86,9	Mepanipirim	122	105	86,4
Buprofezina	71	73,1	74,1	Mepronil	89,9	97,4	108,5
Butocarboxim Sulfóxido	80,6	82,4	87,8	Metalaxil	80,8	88,1	88,9
Cadusafós	85,2	90,3	86	Metalaxil-M	84,6	90,8	94,5
Carbaril	71,6	86,2	89,7	Metamidofós	74,5	74,4	77,9
Carbendazim	86,1	92,4	92,5	Metconazol	77,3	89,4	85,4
Carbofurano	76,6	84,1	83,6	Metidationa	76,8	89,9	92,7
Carbossulfano	81,9	85,2	88,4	Metiocarbe	86,4	87,1	93
Carpropamida	83,4	86,4	86,9	Metiocarbe Sulfona	73,6	87,2	87,5
Ciazofamida	sem resposta			Metiocarbe Sulfóxido	82,7	86,5	91,6
Cimoxanil	87	92,6	88,4	Metobromuron	77,4	86,3	84,1
Ciproconazol	92,3	97,3	96,8	Metomil	94,2	105,8	105,3
Ciprodinil	73,6	82	85,7	Metoxifenosida	100,4	93,5	99,7
Ciromazina	43,5	48	57,4	Metoxuron	70,9	86,2	84,8

Tabela 8 – (Continuação) Avaliação de exatidão - taxa de recuperação – mistura

Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %			Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
Clofentezina	73,5	81,2	87,4	Mevinfós	76,7	75,1	89,9
Clomazona	85,1	92,4	97,5	Miclobutanil	84,8	90,4	87,4
Clorbromuron	72,1	78,1	78,9	Molinato	81	80,7	82,7
Clorfenvinfós	77,8	86,2	78,4	Monocrotofós	77,8	85,7	93,1
Clorpirifós	75,6	84,5	96,3	Monolinuron	73,5	86,3	85
Clorpirifós Metílico	108,6	91,2	85,9	Nitenpiran	71,4	78	85,9
Clotianidina	87,1	87,9	92,9	Nuarimol	80	91,8	106,7
Coumafós	96,8	97,4	101,3	Ometoato	83,3	84,4	92
Cresoxim Metílico	71,6	71,6	80,1	Oxadixil	75,6	90,3	96,5
Demeton-S-Metílico	94,8	92,4	90,1	Oxamil	84,3	83,9	92,4
Desmedifan	71,8	81,7	87	Oxamil Oxima	81,2	87,5	86,8
Diafentiuron	sem resposta			Oxicarboxina	87,8	87,8	93,5
Diazinona	91	94,2	117,6	Paclobutrazol	77,2	83,5	90,8
Diclofuanida	20,5	36,3	46,3	Pencicurom	91,4	90,4	92,1
Diclorvós	84,1	89,8	95,3	Penconazol	97,7	96,6	79,5
Dicrotofós	77,4	95,2	98,6	Picoxistrobina	69,1	83,7	88,7
Dietofencarbe	71,8	83,6	92,7	Pimetrozina	67,4	75,9	85,7
Difenoconazol	95,4	94,7	99,2	Piperonil Butóxido	74,1	77,8	81,8
Diflubenzuron	121	88,4	107,8	Piraclostrobina	70,3	69,3	70,9
Dimetoato	84,5	87,6	96,9	Pirazofós	73,1	85,8	91,1
Dimetomorfe	89,3	90,7	97,9	Piridaben	85,2	85,3	83,9
Dimoxistrobina	84,4	89	90,1	Piridafentiona	90,2	95,1	94,5
Diniconazol	85,3	87,7	96,1	Pirifenox	82,1	87,6	86,9
Dissulfotom	72,3	84,1	83,4	Pirimetanil	83,9	83,2	86,9
Diuron	75,3	82,8	84,6	Pirimicarbe	89,5	89,8	92,3
DMSA	110,4	131,4	135,7	Pirimicarbe Desmetil	83,3	89,1	95,9
DMST	93,7	113,1	118,8	Pirimifós Etilico	76,9	81,1	79,5
Dodemorfe	72,1	76,1	76	Pirimifós Metílico	73	79,5	75,2
Epoxiconazol	80,2	89	80,6	Piriproxifem	73,5	78,7	79,6
Espinosade A	75,2	86,7	85,3	Procloraz	72,5	86,9	102,8
Espinosade D	85	85,2	87,6	Profenofós	71,6	80,9	74,1
Espirodiclofen	84,3	87	68,6	Propargito	77,9	79,7	78,7
Espiroxamina	84,9	87,6	91,3	Propiconazol	75,6	78,2	80
Etiofencarbe Sulfona	90,3	92,2	96	Propizamida	86,1	84,4	81,2
Etiofencarbe Sulfóxido	83,3	87,1	92,3	Propoxur	76,8	88,2	84,4
Etiona	86,7	83,9	87,7	Quinalfós	72,1	76,8	77,9

Tabela 8 – (Continuação) Avaliação de exatidão - taxa de recuperação – mistura

Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %			Substância	Exatidão - Recuperação Critério 70 - 120 %		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3		Nível 1	Nível 2	Nível 3
Etiprole	92,9	98,4	94,1	Simazina	81,5	89,2	92,8
Etirimol	75,3	75,2	78,8	Tebuconazol	81,1	76,6	69,1
Etofenproxi	61	89,2	95,5	Tebufenosida	90,1	96,7	104,8
Etoprofós	76,1	79,5	83	Tebufenpirade	88,3	93,4	100,4
Etrinofós	75,4	82,6	80	Terbufós	73,4	90,1	92,8
Famoxadona	91,8	95,1	93,9	Tetraconazol	84,5	90,7	116,9
Fenamidona	97	83,2	76,5	Tiabendazol	77,2	78,5	85,7
Fenamifós	63	81,4	95,1	Tiacloprido	83,3	89,1	90,7
Fenarimol	57,4	67,8	80,4	Tiametoxam	84,7	88,6	89,9
Fenazaquina	89,1	80,6	85,2	Tiobencarbe	9	46,6	70
Fenbuconazol	95,2	101,7	117,5	Tiodicarbe	39,7	44	47,8
Fenhexamida	52,1	68,3	78,4	Tiofanato Metílico	60,1	72,8	77,7
Fenoxicarbe	78,2	84,7	85	Tiofanox Sulfona	78	92,7	92,3
Fenpiroximato	89,2	92,2	94,5	Tiofanox Sulfóxido	82,1	85,6	91,2
Fenpropidina	78,5	87,1	88,4	Tolclofós Metílico	88,9	78,5	80,3
Fenpropimorfe	89,5	91,3	86,2	Tolifluanida	30,3	42,3	41,2
Fentiona	89,9	107,2	111,9	Triadimefon	86,9	88,1	95,6
Fentiona Sulfóxido	71,8	90,9	94,5	Triadimenol	56,5	82	89,3
Fentoato	86,3	90,7	77,1	Triazofós	97	105,7	119,3
Fluazifope-p-butílico	83,9	86,9	82,6	Triciclozol	79	80,6	80,7
Flufenacete	85,3	84,8	82,7	Triclorfon	86,3	90	92,6
Flufenoxuron	92,3	94,8	97,9	Trifloxistrobina	84,2	80,5	81,4
Fluquinconazol	78,2	157	138	Triflumizol	73	73,3	77
Flusilasol	89,9	101,4	117,6	Triticonazol	71,2	89,5	92,8
Flutriafol	75,6	87,9	94,7	Vamidotiona	73,3	74	70,1
Fosalona	68	78	82,2	Vamidotiona Sulfona	86,1	88,6	92,6
Fosfamidona	21,9	74,5	83,6	Zoxamida	72,5	86,8	87,7
Fosmete	71,3	81	87,2	-	-	-	-

Em negrito: agrotóxicos que apresentaram falta de resposta ou taxa de recuperação fora dos critérios indicados de 70 - 120 %.

Considerando os critérios estabelecidos para a precisão, utilizando a mistura, por órgãos internacionais, os resultados foram satisfatórios dentro dos limites permitidos e estabelecidos ($CV \leq 20\%$) para 161 agrotóxicos.

Com relação à exatidão, as taxas de recuperação de 169 substâncias se apresentaram dentro da faixa estabelecida pela legislação de resíduos de agrotóxicos (70 a 120 %). Com os resultados obtidos no processo de validação, o método proposto foi considerado validado para 140 substâncias apresentadas na tabela 9.

Tabela 9 - Substâncias validadas para as matrizes milho e soja utilizando a mistura

Substâncias validadas para as matrizes milho e soja utilizando a mistura			
3-OH-Carbofurano	Dimetoato	Indoxacarbe	Pirazofós
Acefato	Dimetomorfe	Iprovalicarbe	Piridaben
Acetamiprido	Diniconazol	Isoprotiolorona	Piridafentiona
Aldicarbe Sulfona	Dissulfotom	Isoxationa	Pirifenox
Aldicarbe Sulfóxido	Diuron	Linuron	Pirimetanil
Ametrina	DMST	Mandipropamida	Pirimicarbe
Atrazina	Dodemorfe	Mefenacete	Pirimicarbe Desmetil
Azaconazol	Epoxiconazol	Mefosfolan	Pirimifós Etilico
Azametifós	Espiroxamina	Mepronil	Pirimifós Metílico
Azinfós Etilico	Etiofencarbe Sulfona	Metalaxil	Piriproxifem
Azinfós Metílico	Etiofencarbe Sulfóxido	Metalaxil-M	Procloraz
Benalaxil	Etiona	Metamidofós	Profenofós
Benzoato de Emamectina	Etirimol	Metconazol	Propargito
Bromoconazol	Etoprofós	Metidationa	Propiconazol
Buprofezina	Etrinifós	Metiocarbe	Propizamida
Butocarboxim Sulfóxido	Famoxadona	Metiocarbe Sulfona	Propoxur
Cadusafós	Fenamidona	Metiocarbe Sulfóxido	Quinalfós
Carbaril	Fenzaquina	Metobromuron	Simazina
Carbendazim	Fenoxicarbe	Metomil	Tebufenpirade
Carbofurano	Fenpiroximato	Metoxifenosida	Terbufós
Carbossulfano	Fenpropidina	Metoxuron	Tiabendazol
Carpropamida	Fenpropimorfe	Mevinfós	Tiacloprido
Cimoxanil	Fentiona	Miclobutanil	Tiametoxam
Ciproconazol	Fentiona Sulfóxido	Molinato	Tiofanox Sulfona
Clofentezina	Fentoato	Monocrotofós	Tiofanox Sulfóxido
Clomazona	Fluazifope-p-butílico	Monolinuron	Triciclozol
Clorbromuron	Flufenacete	Nitenpiran	Triclorfon
Clofenvinfós	Flufenoxuron	Ometoato	Trifloxistrobina
Clotianidina	Flutriafol	Oxadixil	Triflumizol
Coumafós	Fosmete	Oxamil	Vamidotiona
Demeton-S-Metílico	Fosmete	Oxamil Oxima	Vamidotiona Sulfona
Desmedifan	Furatiocarbe	Oxicarboxina	Zoxamida
Diclorvós	Halofenosídeo	Paclobutrazol	-
Dicrotofós	Hexaconazol	Pencicuron	-

Tabela 9 – (Continuação) Substâncias validadas para as matrizes milho e soja.

Substâncias validadas para a matriz soja			
Dietofencarbe	Imazalil	Penconazol	-
Difenoconazol	Imidacloprido	Piperonil Butóxido	-

Considerando os critérios estabelecidos para a precisão nas matrizes milho e soja por órgãos internacionais, os resultados foram satisfatórios dentro dos limites permitidos e estabelecidos ($CV \leq 20\%$) para 158 agrotóxicos para o milho e 156 para a soja. Com relação à exatidão, as taxas de recuperação de 165 substâncias se apresentaram dentro da faixa estabelecida pela legislação de resíduos de agrotóxicos (70 a 120%) para o milho e 153 para a soja.

Nas tabelas 10 e 11, encontram-se os resultados de precisão (coeficientes de variação) e exatidão (taxas de recuperação) no nível estudado para milho e soja, respectivamente.

Tabela 10 - Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz milho.

Substância	Milho		Substância	Milho	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
3-OH-Carbofurano	92,4	5	Furatiocarbe	93,5	7
Abamectina	96,1	8	Halofenosídeo	98,8	8
Acefato	83,0	3	Hexaconazol	132,0	14
Acetamiprido	93,6	7	Hexitiazoxi	91,7	10
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta		Imazalil	89,5	6
Aldicarbe	105,0	13	Imazapic	47,5	3
Aldicarbe Sulfona	sem resposta		Imazaquim	62,5	7
Aldicarbe Sulfóxido	85,5	5	Imidacloprido	100,0	11
Ametrina	95,0	4	Indoxacarbe	116,0	18
Atrazina	87,7	7	Iprodiona	sem resposta	
Azaconazol	96,9	4	lprovalicarbe	103,7	11
Azametifós	85,8	6	Isoprotiolona	88,8	18
Azinfós Etilico	116,0	11	Isoxaflutol	85,6	9
Azinfós Metílico	92,1	9	Isoxationa	95,0	6
Azoxistrobina	98,7	10	Linurom	89,4	14
Benalaxil	112,3	26	Lufenuron	sem respota	
Benzoato de Emamectina	93,4	10	Malationa	93,2	4

Tabela 10 – (Continuação) Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz milho.

Substância	Milho		Substância	Milho	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
Bitertanol	116,0	22	Mandipropamida	95,0	34
Boscalida	120,0	27	Mefenacete	85,4	10
Bromuconazol	126,0	21	Mefosfolan	94,2	2
Bupirimato	116,0	21	Mepanipirim	sem resposta	
Buprofezina	94,1	2	Mepronil	94,1	10
Butocarboxim Sulfóxido	88,6	4	Metalaxil	92,7	3
Cadusafós	93,0	4	Metalaxil-M	94,9	3
Carbaril	119,2	46	Metamidofós	76,3	4
Carbendazim	94,0	3	Metconazol	80,1	23
Carbofurano	93,6	2	Metidationa	91,8	3
Carbossulfano	78,0	6	Metiocarbe	92,8	6
Carpropaída	90,9	5	Metiocarbe Sulfona	53,4	6
Ciazofamida	sem resposta		Metiocarbe Sulfóxido	86,5	3
Cimoxanil	91,5	9	Metobromuron	92,6	7
Ciproconazol	94,5	7	Metomil	130,3	6
Ciprodinil	89,0	31	Metoxifenosida	86,4	6
Ciromazina	47,1	9	Metoxuron	88,6	7
Clofentezina	95,0	11	Mevinfós	82,8	9
Clomazona	95,7	7	Miclobutanil	84,0	18
Clorbromuron	95,0	5	Molinato	79,6	13
Clorfenvinfós	114,1	16	Monocrotofós	93,3	6
Clorpirifós	92,3	7	Monolinuron	90,6	3
Clorpirifós Metílico	120,0	39	Nitenpiran	85,2	8
Clotianidina	87,8	17	Nuarimol	106,9	19
Coumafós	105,0	34	Ometoato	90,0	12
Cresoxim Metílico	100,0	16	Oxadixil	89,7	5
Demeton-S-Metílico	90,7	2	Oxamil	89,9	5
Desmedifan	95,5	7	Oxamil Oxima	84,3	4
Diafentiuron	sem resposta		Oxicarboxina	94,8	5
Diazinona	63,0	40	Paclobutrazol	92,7	10
Diclofuanida	38,9	21	Pencicuum	92,3	2
Diclorvós	112,8	7	Penconazol	100,0	6
Dicrotofós	91,5	4	Picoxistrobina	92,1	12
Dietofencarbe	94,9	7	Pimetrozina	77,7	7
Difenoconazol	111,0	9	Piperonil Butóxido	96,8	2
Diflubenzuron	11,0	631	Piraclostrobina	91,4	8
Dimetoato	95,0	5	Pirazofós	106,3	20
Dimetomorfe	79,0	17	Piridaben	95,9	6

Tabela 10 – (Continuação) Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz milho.

Substância	Milho		Substância	Milho	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
Dimoxistrobina	122,4	28	Piridafentiona	88,5	12
Diniconazol	89,0	19	PirifenoX	-537,0	-117
Dissulfotom	77,0	14	Pirimetanil	89,0	4
Diuron	99,2	5	Pirimicarbe	99,5	6
DMSA	426,0	8	Pirimicarbe Desmetil	90,8	4
DMST	sem resposta		Pirimifós Etílico	93,9	4
Dodemorfe	95,0	3	Pirimifós Metílico	89,0	18
Epoxiconazol	95,0	15	Piriproximem	91,3	2
Espinosade	114,8	14	Procloraz	92,7	10
Espirodiclofen	105,0	6	Profenofós	78,4	48
Espiroxamina	95,6	8	Propargito	94,8	4
Etiofencarbe Sulfona	90,4	4	Propiconazol	89,0	19
Etiofencarbe Sulfóxido	86,5	3	Propizamida	95,0	7
Etiona	95,0	3	Propoxur	92,9	3
Etiprole	127,4	42	Quinalfós	105,0	10
Etirimol	89,0	8	Simazina	96,1	2
Etopenproxi	91,1	8	Tebuconazol	96,8	10
Etoprofós	94,8	7	Tebufenosida	84,0	21
Etrinifós	91,9	8	Tebufenpirade	96,5	5
Famoxadona	78,0	41	Terbufós	89,6	8
Fenamidona	95,0	17	Tetraconazol	179,0	27
Fenamifós	91,7	7	Tiabendazol	86,0	5
Fenarimol	84,0	34	Tiacloprido	92,7	3
Fenazaquina	100,0	3	Tiametoxam	92,3	5
Fenbuconazol	121,0	20	Tiobencarbe	sem resposta	
Fenhexamida	95,0	16	Tiodicarbe	35,8	15
Fenoxicarbe	79,0	36	Tiofanato Metílico	70,3	11
Fenpiroximato	99,8	4	Tiofanox Sulfona	89,3	5
Fenpropidina	89,2	5	Tiofanox Sulfóxido	95,0	4
Fenpropimorfe	90,1	3	Tolclofós Metílico	116,0	38
Fentiona	9,0	237	Tolifluanida	60,8	10
Fentiona Sulfóxido	94,3	3	Triadimefon	82,0	15
Fentoato	89,0	18	Triadimenol	sem resposta	
Fluazifope-p-butílico	93,2	4	Triazofós	111,0	9
Flufenacete	96,1	8	Triciclozol	84,6	6
Flufenoxuron	94,9	6	Triclorfon	85,1	5
Fluquinconazol	78,9	34	Trifloxistrobina	132,0	21
Flusilasol	89,0	15	Triflumizol	96,7	12

Tabela 10 – (Continuação) Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz milho.

Substância	Milho		Substância	Milho	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
Flutriafol	105,0	4	Triticonazol	79,0	32
Fosalona	121,0	14	Vamidotiona	91,9	3
Fosfamidona	86,7	6	Vamidotiona Sulfona	sem resposta	
Fosmete	79,0	8	Zoxamida	87,9	19

Em negrito: Substâncias que não atenderam aos critérios de validação.

Tabela 11 - Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz soja.

Substância	Soja		Substância	Soja	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
3-OH-Carbofurano	90,0	6	Furatiocarbe	94,9	8
Abamectina	110,0	12	Halofenosídeo	93,5	14
Acefato	82,6	7	Hexaconazol	75,0	22
Acetamiprido	88,4	6	Hexitiazoxi	85,7	13
Acibenzolar-S-Metílico	sem resposta		Imazalil	86,4	8
Aldicarbe	83,8	19	Imazapic	50,0	4
Aldicarbe Sulfona	sem resposta		Imazaquim	64,1	4
Aldicarbe Sulfóxido	84,8	5	Imidacloprido	95,0	15
Ametrina	88,2	4	Indoxacarbe	90,0	16
Atrazina	88,7	9	Iprodiona	sem resposta	
Azaconazol	87,9	9	Iprovalicarbe	94,7	13
Azametifós	51,6	8	Isoprotiolona	105,0	55
Azinfós Etílico	102,4	30	Isoxafutol	80,9	11
Azinfós Metílico	102,1	13	Isoxationa	80,0	22
Azoxistrobina	116,0	11	Linurom	115,0	12
Benalaxil	88,6	10	Lufenuron	sem resposta	
Benzoato de Emamectina	91,1	7	Malationa	109,3	20
Bitertanol	120,0	25	Mandipropamida	89,3	19
Boscalida	120,0	20	Mefenacete	105,0	11
Bromuconazol	85,0	18	Mefosfolan	91,5	7
Bupirimato	92,6	19	Mepanipirim	sem resposta	
Buprofezina	79,1	6	Mepronil	110,0	12
Butocarboxim Sulfóxido	87,8	5	Metalaxil	89,8	6
Cadusafós	108,4	17	Metalaxil-M	89,2	7
Carbaril	87,8	6	Metamidofós	79,0	4
Carbendazim	91,1	10	Metconazol	83,6	12
Carbofurano	91,6	7	Metidationa	91,1	6

Tabela 11 – (Continuação) Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz soja.

Substância	Soja		Substância	Soja	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
Carbossulfano	63,9	10	Metiocarbe	96,1	7
Carpropamida	92,3	12	Metiocarbe Sulfona	19,4	8
Ciazofamida	sem resposta		Metiocarbe Sulfóxido	67,0	7
Cimoxanil	85,6	4	Metobromuron	86,9	9
Ciproconazol	87,0	9	Metomil	147,5	6
Ciprodinil	85,2	10	Metoxifenosida	100,0	12
Ciromazina	51,6	10	Metoxuron	85,7	8
Clofentezina	105,0	35	Mevinfós	72,2	12
Clomazona	92,9	6	Miclobutanil	105,8	10
Clorbromuron	100,0	8	Molinato	60,0	20
Clorfenvinfós	91,7	7	Monocrotofós	87,7	9
Clorpirifós	90,1	13	Monolinuron	90,2	5
Clorpirifós Metílico	135,0	17	Nitenpiran	75,1	8
Clotianidina	85,4	10	Nuarimol	120,0	19
Coumafós	106,0	21	Ometoato	82,8	12
Cresoxim Metílico	105,0	19	Oxadixil	92,8	9
Demeton-S-Metílico	83,3	8	Oxamil	88,7	7
Desmedifan	91,1	5	Oxamil Oxima	89,4	6
Diafenturon	sem resposta		Oxicarboxina	85,5	8
Diazinona	78,0	26	Paclobutrazol	85,3	19
Diclofuanida	35,0	21	Pencicuum	98,8	19
Diclorvós	105,0	18	Penconazol	80,0	17
Dicrotofós	85,0	7	Picoxistrobina	103,6	15
Dietofencarbe	95,4	5	Pimetrozina	73,9	7
Difenoconazol	103,8	11	Piperonil Butóxido	95,0	7
Diflubenzuron	160,0	44	Piraclostrobina	154,3	34
Dimetoato	87,4	7	Pirazofós	80,0	42
Dimetomorfe	97,1	22	Piridaben	68,3	9
Dimoxistrobina	89,2	13	Piridafentiona	84,4	22
Diniconazol	88,9	17	Pirifenox	-518,2	-57
Dissulfotom	85,3	11	Pirimetanil	81,5	7
Diuron	84,3	10	Pirimicarbe	88,7	10
DMSA	580,0	10	Pirimicarbe Desmetil	88,2	8
DMST	sem resposta		Pirimifós Etilico	80,1	7
Dodemorfe	76,3	9	Pirimifós Metílico	84,5	16
Epoxiconazol	99,3	21	Piriproxifem	74,7	5
Espinosade A	94,4	11	Procloraz	89,4	13
Espirodiclofen	74,6	8	Profenofós	85,0	6
Espiroxamina	89,8	7	Propargito	81,0	7
Etiofencarbe Sulfona	80,5	6	Propiconazol	90,0	8

Tabela 11 – (Continuação) Avaliação de taxa de recuperação e coeficiente de variação na matriz soja.

Substância	Soja		Substância	Soja	
	Recuperação (%)	CV (%)		Recuperação (%)	CV (%)
Etiofencarbe Sulfóxido	67,0	7	Propizamida	87,8	21
Etiona	84,7	11	Propoxur	91,2	7
Etiprole	105,0	40	Quinalfós	190,0	52
Etirimol	84,0	7	Simazina	87,5	7
Etofenproxi	54,7	10	Tebuconazol	117,3	47
Etoprofós	84,1	17	Tebufenosida	220,0	12
Etrinfós	85,0	15	Tebufenpirade	83,5	8
Famoxadona	85,0	19	Terbufós	77,3	7
Fenamidona	60,0	15	Tetraconazol	145,0	30
Fenamifós	127,6	54	Tiabendazol	84,7	7
Fenarimol	90,0	33	Tiacloprido	95,0	8
Fenazaquina	71,3	8	Tiametoxam	87,6	8
Fenbuconazol	100,0	11	Tiobencarbe	sem resposta	
Fenhexamida	75,0	11	Tiodicarbe	10,7	13
Fenoxicarbe	89,7	12	Tiofanato Metílico	56,9	9
Fenpiroximato	84,2	9	Tiofanox Sulfona	86,9	11
Fenpropidina	87,2	8	Tiofanox Sulfóxido	93,6	9
Fenpropimorfe	83,6	6	Tolclófós Metílico	85,0	61
Fentiona	75,1	26	Tolifluanida	30,3	28
Fentiona Sulfóxido	90,3	10	Triadimefon	75,0	8
Fentoato	68,8	17	Triadimenol	sem resposta	
Fluazifope-p-butilico	97,1	8	Triazofós	86,7	5
Flufenacete	89,8	9	Triciclozol	91,5	10
Flufenoxuron	84,9	13	Triclorfon	57,5	13
Fluquinconazol	55,0	12	Trifloxistrobina	85,0	18
Flusilasol	80,0	18	Triflumizol	90,0	9
Flutriafol	91,9	10	Triticonazol	110,0	18
Fosalona	91,6	9	Vamidotiona	90,3	7
Fosfamidona	92,3	7	Vamidotiona Sulfona	sem resposta	
Fosmete	sem resposta		Zoxamida	135,0	6

Em negrito: Substâncias que não atenderam aos critérios de validação.

4.2 AVALIAÇÃO DE AMOSTRAS

4.2.1 Amostras

Em 2015 foram analisadas 10 amostras de milho e 14 amostras de soja em grão, e em 2016 foram analisadas 9 amostras de soja com casca.

4.2.2 Análise por UPLC-MS/MS

Na avaliação das amostras por UPLC-MS/MS, para a identificação dos resíduos encontrados foram utilizados os critérios de intensidade relativa dos íons detectados nas amostras avaliadas e no Material de Referência (MR) expressa como porcentagem de intensidade do íon mais abundante com o íon correspondente do MR, medido na mesma concentração e condições analíticas. O critério de tolerância da intensidade relativa da transição de íons foi de até 30 %, além do tempo de retenção obtido nas amostras em relação ao tempo de retenção do MR. O critério de tolerância entre o tempo de retenção (t_R) do MR e da amostra foi de $\pm 2,5$ % (SANTE, 2016).

As tabelas 12, 13 e 14 apresentam os resultados obtidos das amostras analisadas nos anos de 2015 e 2016, no Laboratório de Resíduos de Agrotóxicos do INCQS, avaliadas por UPLC-MS/MS.

Tabela 12 - Avaliação de amostras de soja em grão por UPLC-MS/MS no ano de 2015.

Amostras	Resíduos de Agrotóxicos	Resultado final
2015 A	Pirimifós Metílico ¹	Insatisfatório
2015 B	NE	Satisfatório
2015 C	NE	Satisfatório
2015 D	NE	Satisfatório
2015 E	Trifloxistrobina	Satisfatório
2015 F	NE	Satisfatório
2015 G	Pirimifós Metílico ¹	Insatisfatório
2015 H	NE	Satisfatório

Tabela 12 – (Continuação) Avaliação de amostras de soja em grão por UPLC-MS/MS no ano de 2015.

Amostras	Resíduos de Agrotóxicos	Resultado final
2015 I	Imidacloprido	Satisfatório
2015 J	NE	Satisfatório
2015 K	NE	Satisfatório
2015 L	NE	Satisfatório
2015 M	Carbendazim	Satisfatório
2015 N	Carbendazim, Epoxiconazol e Pirimifós Metílico ¹	Insatisfatório

¹ Agrotóxico não autorizado para a cultura; NE – Resíduos de agrotóxicos não encontrados.

Tabela 13 - Avaliação de amostras de milho por UPLC-MS/MS no ano de 2015.

Amostras	Resíduos de Agrotóxicos	Resultado Final
2015 O	NE	Satisfatório
2015 P	NE	Satisfatório
2015 Q	NE	Satisfatório
2015 R	NE	Satisfatório
2015 S	NE	Satisfatório
2015 T	NE	Satisfatório
2015 U	NE	Satisfatório
2015 V	NE	Satisfatório
2015 X	NE	Satisfatório
2015 Z	NE	Satisfatório

NE – Resíduos de agrotóxicos não encontrados.

Tabela 14 - Avaliação de amostras de soja com casca por UPLC-MS/MS no ano de 2016.

Amostras	Resíduos de Agrotóxicos	Resultado final
2016 A	Atrazina ¹ , Ciproconazol ³ , Clotianidina, Pirifenoxi ² , Tiametoxam, Trifloxistrobina ³	Insatisfatório
2016 B	Acefato ³ , Ciproconazol, Metamidofós, Trifloxistrobina	Insatisfatório
2016 C	Ciproconazol e Trifloxistrobina	Satisfatório
2016 D	Acefato, Atrazina ¹ , Imidacloprido, Piriproximem, Trifloxistrobina	Insatisfatório
2016 E	Ciproconazol	Satisfatório
2016 F	Trifloxistrobina	Satisfatório
2016 G	Atrazina ¹ , Ciproconazol, Epoxiconazol, Trifloxistrobina	Insatisfatório
2016 H	Atrazina ¹ , Carbendazim, Imidacloprido, Pirifenoxi ² , Trifloxistrobina	Insatisfatório
2016 I	Acefato, Ciproconazol, Clomazona, Trifloxistrobina	Satisfatório

¹ Agrotóxico não autorizado para a cultura; ² Monografia excluída; ³ Concentração do agrotóxico acima do LMR.

Não foram encontrados resíduos de agrotóxicos nas amostras de milho avaliadas, apresentando, portanto 100 % de conformidade.

Das amostras de soja analisadas, 65,2 % foram consideradas satisfatórias. Dessas, 57,1 % não apresentaram resíduo de agrotóxico dentre as substâncias avaliadas. Por outro lado, 42,9 % apresentaram de uma a quatro substâncias autorizadas, porém, os valores obtidos estão inferiores aos LMR permitidos ao produto.

Em casos de amostras consideradas insatisfatórias (34,8 % do total analisado), foram feitas análises de confirmação dos resíduos de agrotóxicos encontrados. Para a confirmação dessas substâncias, as amostras foram novamente extraídas e analisadas por método específico de UPLC-MS/MS para cada substância anteriormente identificada. Os critérios utilizados para a confirmação das substâncias no método específico foi a presença de no mínimo, mais duas transições de íons avaliadas, além das inicialmente analisadas, e as já citadas anteriormente (BASTOS, 2013).

Nos métodos específicos, foram verificadas de quatro a sete transições (íon precursor → íon fragmento) para cada substância analisada, no tempo de retenção de cada agrotóxico, confirmando a presença de todos os agrotóxicos encontrados nas amostras apresentadas na tabela 15. As substâncias analisadas e confirmadas e seus respectivos íons precursores, fragmentos e t_R (min) estão descritos na tabela 16.

Tabela 15 - Resultados insatisfatórios das amostras de soja em grão e com casca.

Amostras	Resíduos de agrotóxicos	LQ	Concentração	LMR
		mg/kg		
2015 A	Pirimifós Metílico	0,01565	0,02000	NA
2015 G	Pirimifós Metílico	0,01565	0,07300	NA
2015 N	Pirimifós Metílico	0,01565	< LQ	NA
2016 A	Atrazina	0,02010	< LQ	NA
	Ciproconazol	0,01936	0,07200	0,05000
	Pirifenoxi	0,01936	0,03900	ME
	Trifloxistrobina	0,02098	0,18100	0,05000
2016 B	Acefato	0,01936	3,39000	1,0
2016 D	Atrazina	0,02010	< LQ	NA
2016 G	Atrazina	0,02010	0,02300	NA
2016 H	Atrazina	0,02010	< LQ	NA
	Pirifenoxi	0,01936	0,03500	ME

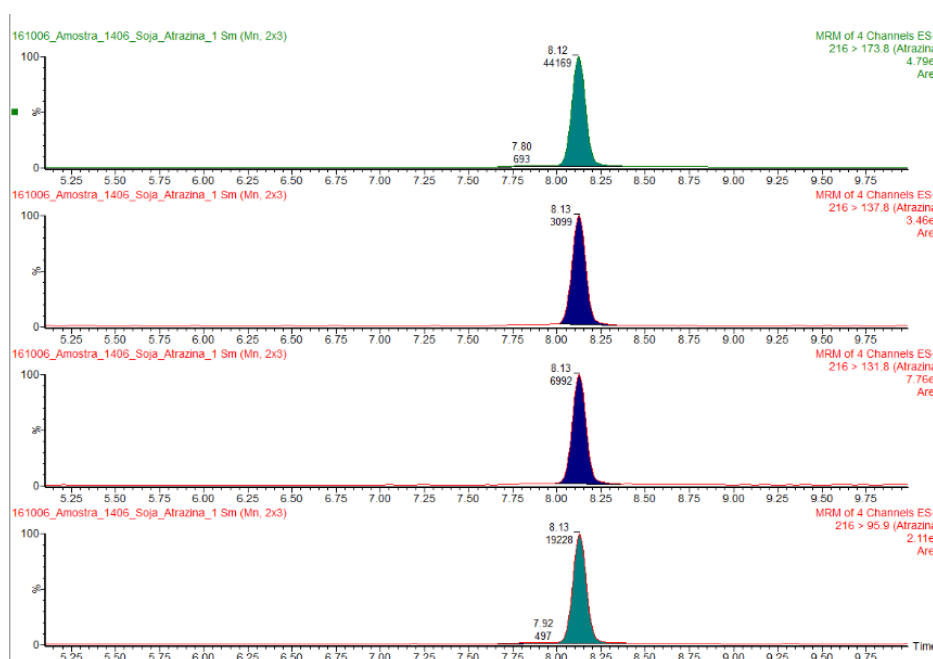
LQ – Limite de Quantificação do método; LMR – Limite Máximo de Resíduos;
 < LQ – Concentração inferior ao LQ, mas superior ao LD; NA – Não autorizado para a cultura;
 ME – Monografia excluída.

Tabela 16 - Agrotóxicos, íons precursores, fragmentos e tempo de retenção, em minutos, dos métodos específicos utilizados para a confirmação da presença das substâncias encontradas.

Substância	Íon precursor [M+H] ⁺ (m/z)	Íons fragmentos (m/z)	tR (min)
Acefato	183,9	64,8; 78,7; 94,6; 110,7; 124,7; 142,7	1,17
Atrazina	216,1	95,9; 131,8; 137,8; 173,8	8,13
Ciproconazol (isômeros)	292,1	70,0; 76,9; 98,9; 102,8; 124,9; 129,0	10,8 e 11,2
Pirimifós Metílico	306	66,7; 94,8; 107,8; 135,8; 163,8; 277,8	12,92
Pirifenoxi	294,8	66,1; 92,9; 117,7; 228,6; 262,7	10,9
Trifloxistrobina	409,2	90,9; 115,9; 131,9; 145; 185,8; 205,9	13,81

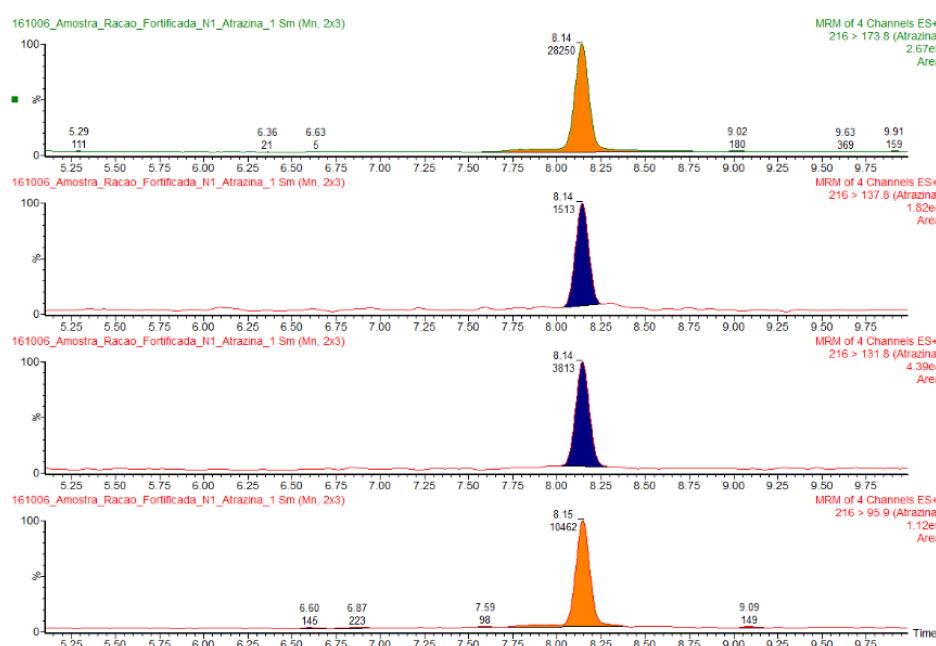
Como exemplo, na figura 3 encontra-se a avaliação da atrazina na amostra de soja (“2016 G”) com a representação de todos os íons avaliados no método específico para este agrotóxico, e na figura 4 encontra-se a representação do MR de atrazina (fortificada no nível 1).

Figura 3 - Representação dos íons da atrazina na amostra de soja 2016 G.



Fonte: MassLynx 4.1 SCN627.

Figura 4 - Representação dos íons do MR de atrazina (fortificada no nível 1).



Fonte: MassLynx 4.1 SCN627.

As transições monitoradas pelo método específico para a atrazina, de acordo com a tabela 16, estão demonstradas nas figuras 3 e 4, nas quais se pode observar a presença das quatro transições monitoradas tanto para a amostra de soja “2016 G”, como para o MR. Além disso, foi atendido o critério do tempo de retenção e do perfil das transições, garantindo a confirmação inequívoca da atrazina. Do mesmo modo, foram confirmados todos os demais agrotóxicos encontrados nas amostras analisadas.

Das amostras de soja insatisfatórias, encontradas na tabela 16, 62,5 % apresentaram resíduos de produtos não autorizados para a cultura; 12,5 % combinando resíduos de produtos não autorizados para essa matriz e não autorizados no Brasil (monografia excluída); 12,5 % de resíduos acima do LMR permitido e 12,5 % combinando resíduos de produtos não autorizados para a soja, não autorizados no Brasil e resíduos acima do LMR permitido.

Foram obtidos resíduos de trifloxistrobina (0,181 mg kg⁻¹) e acefato (3,390 mg kg⁻¹) nas amostras “2016 A” e “2016 B”, respectivamente. A ANVISA estabelece um LMR de 0,050 mg kg⁻¹ para a primeira substância e 1,0 mg kg⁻¹ para a segunda. Considerando estes resultados, as amostras analisadas estão mais de três vezes acima do LMR nacional da soja. Além disso, na amostra “2016 A”, também foram

encontrados resíduos de ciproconazol ($0,072 \text{ mg kg}^{-1}$), os quais não foram compatíveis com o LMR estabelecido para esta substância ($0,050 \text{ mg kg}^{-1}$). Esses resultados indicam desacordo com a legislação, não sendo recomendado o consumo do produto nessas condições.

Resíduos de pirimifós metílico, atrazina e pirifenoxi foram identificados nas amostras “2015 A”, “2015 G”, “2015 N”, “2016 D”, “2016 G” e “2016 H”, em diferentes concentrações. Porém, as duas primeiras substâncias não possuem uso permitido à cultura de soja e o pirifenoxi não é autorizado no Brasil, tendo sua monografia excluída, justificando, portanto, o resultado insatisfatório dessas amostras.

Esses resultados apresentados podem ser explicados por diversas causas que ainda são muito características da agricultura brasileira. Um desses fatores que agrava o problema de aplicação inadequada de agrotóxicos é a falta de informação e orientação técnica aos agricultores e das consequências do uso desses produtos à saúde humana, além da falta de treinamento para o uso correto dos mesmos. Um exemplo deste problema é o descumprimento do intervalo de segurança (período de carência) da substância, que é o número de dias que deve ser respeitado entre a última aplicação do agrotóxico e a colheita. Este intervalo é importante para garantir que o alimento colhido não tenha resíduos acima do permitido. Além disso, há o comércio ilegal e livre das substâncias não permitidas no Brasil, resultantes da falta de fiscalização, principalmente nas fronteiras. Este fator não garante a qualidade do produto, colocando em risco toda a cadeia desde o agricultor até o consumidor final.

Já nos casos de amostras com resíduos de agrotóxicos com concentrações abaixo do LQ do método ($< \text{LQ}$), um dos motivos que pode justificar este resultado é a contaminação ambiental, afetando principalmente, o solo, a água e o ar.

Com relação ao tipo de soja utilizada nas análises, foi obtido um percentual de 21,4 % de amostras insatisfatórias e 78,6 % consideradas satisfatórias para a soja em grão, e 66,7 % de amostras insatisfatórias e 33,3 % satisfatórias para a soja com casca. A diferença nos resultados se deve a soja com casca estar exposta ao ambiente externo, em contato direto com as substâncias aplicadas, proporcionando uma maior contaminação, comparado ao grão, o qual se encontra na parte interna da casca, não tendo tanta exposição aos agrotóxicos utilizados.

5 CONCLUSÃO

O método apresentado foi validado na mistura para 140 substâncias e nas matrizes milho e soja, para 138 e 127 substâncias, respectivamente, de acordo com as normas determinadas para resíduos de agrotóxicos em alimentos. Além disso, o método validado mostrou-se viável para a análise desses resíduos em amostras desses produtos.

A partir dos resultados encontrados, pode-se concluir que as amostras de milho apresentaram 100 % de conformidade e as amostras de soja apresentaram alto nível de insatisfatoriedade, dentre as substâncias analisadas, devido, majoritariamente, à detecção de substâncias não autorizadas para a cultura, como o pirimifós metílico e atrazina. Este panorama reforça a necessidade da elaboração de políticas públicas mais eficientes para o controle e monitoramento do uso de agrotóxicos. Nos casos em que foram encontrados agrotóxicos acima dos limites permitidos pela ANVISA, os órgãos responsáveis pelas áreas de agricultura e meio ambiente devem ser acionados para rastrear e solucionar o problema. Para todos os casos irregulares, é primordial que haja medidas em relação aos produtores, como a orientação para adoção das boas práticas agrícolas, garantindo a todos o acesso ao alimento seguro.

REFERÊNCIAS

ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005. **Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração**. Rio de Janeiro: ABNT, 2005.

ABRASCO. Dossiê ABRASCO – Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. **Parte 1 - Agrotóxicos, Segurança Alimentar e Nutricional e Saúde**. Rio de Janeiro, 2012. 101 f.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografias de Agrotóxicos**. Brasília, 2016a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos>>. Acesso em: 18 jun de 2016.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Brasília, 2016b. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/programa-de-analise-de-registro-de-agrotoxicos-para>> Acesso em: 02 dez 2016.

BASTOS, L. H. P. **Resíduos de agrotóxicos em amostras de leite: uma avaliação visando à vigilância sanitária**. 2013. 269 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária). Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/349509/Consolidado%2Bde%2Bnormas%2BCOBIO.pdf/3122249b-48cb-47aa-be78-76f3129a62ba>>. Acesso em: 09 set 2016.

_____. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 4, n. 2, 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_11_11_14_54_21_boletim_graos_novembro_2016.pdf> Acesso em: 24 nov 2016.

_____. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Aspectos econômicos da produção e utilização do milho. **Circular Técnica 74**. Sete Lagoas, p.1-10, dezembro, 2006.

_____. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Fisiologia do milho. **Circular Técnica 22**. Sete Lagoas, p.1-23, dezembro, 2002a.

_____. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2005. **Sistemas de Produção 6**. Londrina, p.35-38, outubro, 2004.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 42 de 31 de dezembro de 2008. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 de janeiro de 2009. Disponível em: <file:///G:/Resid%C3%Aancia%20INCQS/TCC/introdu%C3%A7%C3%A3o/in%2042%202008%20d0%20mapa.html> Acesso em: 09 set. 2016.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SDA nº 44, de 08 de maio de 2015. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 de maio de 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/CRC/Portaria%20n%20%2044%20de%20Resultados%20PNCRC%20Vegetal%202013-2014.pdf> Acesso em: 09 set. 2016.

_____. Presidência da República – Casa Civil. Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de janeiro de 2002b. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em: 01 ago. 2016.

_____. Presidência da República – Casa Civil. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Publicado no **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 de julho de 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm>. Acesso em: 01 ago. 2016.

CARDOSO, M.H.W.M.; GOUVÊA, A.V.; NOBREGA, A.W.; ABRANTES, S.M.P. Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 30, n. 1, p. 63-72, 2010.

CODEX, Alimentarius Commission. **Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis - CAC/GL 40-1993**. Rev.01. Rome: FAO/WHO Joint Publications, 2003. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/download/standards/378/cxg_040e.pdf>. Acesso em: 03 ago. 2016.

GOUVÊA, A.V.; CARDOSO, M.H.W.M.; BASTOS, L.H.P.; BARATA-SILVA, C.; NOBREGA, A.W.; JACOB, S.C. Avaliação da contaminação de amostras de soja com resíduos de agrotóxicos pelo método QuEChERS acetato com análise por meio de CLAE-EM/EM. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 74, n.3, p. 225-38, 2015.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. **Produção, Importação, Exportação e Vendas de Ingredientes Ativos 2014**. Atualização em 06 abr. 2016. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-qa/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/pagina-3>> Acesso em: 07 nov. 2016.

INCQS. Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde. **PU.3120.098**: Cromatógrafo Líquido de Ultraperformance acoplado a espectrômetro de massas/massas do tipo triploquadropolo (UPLC-MS/MS). Rev.00. Rio de Janeiro, 2009. 7 f. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

_____. Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde. **POP 65.1120.013**: Utilização e verificação de balanças. Rev. 10. Rio de Janeiro, 2014a. 10 f. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

_____. Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde. **POP 65.3120.096**: Especificação, manuseio, armazenamento, preparo e registro de material de referência de agrotóxicos. Rev. 07. Rio de Janeiro, 2014b. 09 f. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

_____. Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde. **POP 65.3120.082**: Parâmetros Estatísticos para Validação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. Rev. 07. Rio de Janeiro, 2015. 31 f. (Manual da Qualidade. Seção 4.3).

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos - DOQ-CGCRE-008**. Rev. 04, jul 2011. 19 f.

JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v.32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

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

KAEWSUYA, P.; BREWER, W.E.; WONG, J.; MORGAN, S.L. Automated QuEChERS Tips for Analysis of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables by GC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 2299-314, 2013.

LANÇAS, F.M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. 6 ed. São Carlos: RiMa, 2004.

LEHOTAY, S.J.; LIGHTFIELD, A.R.; HARMAN-FETCHO, J.A.; DONOGHUE, D.J. Analysis of pesticide residues in eggs by direct sample introduction/gas chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4589, 2001.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, p. 532, 1999.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC)**. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/pncrc>> Acesso em: 24 nov 2016.

MENTEN, J.O. Uso de agrotóxicos, benefícios, riscos e cuidados. CCAS - Conselho Científico para Agricultura Sustentável, São Paulo, 24 mar. 2016. Disponível em: <<http://agriculturasustentavel.org.br/artigos/uso-de-agrotoxicos--beneficios--riscos-e-cuidados>> Acesso: 24 nov. 2016.

MOREIRA, J.S.; JACOB, S.C.; PERES, F.; LIMA, J.S.; MEYER, A.; OLIVEIRA-SILVA, J.J.; SARCINELLI, P.N.; BATISTA, D.F.; EGLER, M.; FARIA, M.V.C.; ARAÚJO, A.J.; KUBOTA, A.M.; SOARES, M.O.; ALVES, S.R.; MOURA, C.M.; CURI, R. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. **Ciência e Saúde Coletiva**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 299-311, 2002.

NAVES, M.M.V.; SILVA, M.S.; CERQUEIRA, F.M.; PAES, M.C.D. Avaliação química e biológica da proteína do grão em cultivares de milho de alta qualidade protéica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 34, n. 1, p. 1-8, 2004.

PASCHOAL, J.A.R.; RATH, S.; AIROLDI, F.P.S.; REYES, F.G.R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1190, 2008.

PIZZUTI, I.R.; KOK, A.; HIEMSTRA, M.; WICKERT, C.; PRESTES, O.D. Method validation and comparison of acetonitrile and acetone extraction for the analysis of 169 pesticides in soya grain by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. Santa Marta, v. 1216, p. 4539-4552, 2009.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 1620-1634, 28 jul. 2009.

QUEIROZ, S.C.N.; FERRACINI, V.L.; ROSA, M.A. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, Jaguariúna, v. 35, n. 1, p. 185-192, 2012.

RAVELO L. P.; HERNÁNDEZ, J.B.; RODRÍGUEZ, M.A.D. Multi-walled carbonnanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices. **Journal of Chromatography A**, v. 33, p. 1211, 2008.

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

RIBAS, P.P.; MATSUMURA, A.T.S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 10, n. 14, p. 149-158, 2009.

SANTE, European Commission. Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed - Document nº SANTE/11945/2053. Europa, 01 jan. 2016. 48 f.

SINDAG. Sindicato Nacional das Indústrias de Defensivos Agrícolas. **Vendas de defensivos agrícolas são recordes e vão a US\$ 8,5 bi em 2011**. Disponível em: <http://www.sindag.org.br/noticia.php?News_ID=2256>. Acesso em 18 out de 2016.

WALORCZYK, S. Development of a multi-residue screening method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, Poznan, n.1165, p. 200-212, 2007.