

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Agrárias
Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal

Sandro Braga Soares

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO
DO INSETICIDA DINOTEFURAN EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SOLO**

Montes Claros

2023

Sandro Braga Soares

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DO INSETICIDA DINOTEFURAN EM AMOSTRAS DE ÁGUA E
SOLO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Flaviano Oliveira Silvério

Coorientador: Lázaro Chaves Sicupira

Montes Claros

2023

Soares, Sandro Braga.

S676o
2023 Otimização e validação de métodos de extração e quantificação do inseticida dinotefuran em amostras de água e solo [manuscrito]/ Sandro Braga Soares. Montes Claros, 2023.
105 f.: il.

Tese (doutorado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador : Flaviano Oliveira Silvério

Banca examinadora: Gevany Paulino de Pinho, Ivan Pires de Oliveira, Paulo Henrique Fidêncio, Nelson de Abreu Delvaux Júnior .

Inclui referências: 36-44; 74-77; 100-104

1. Extração por solventes -- Teses. 2. Lixiviação -- Teses. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência -- Teses. 4. Neonicotinoide. I. Silvério, Flaviano Oliveira . II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 632.951

ATA DE DEFESA DE TESE

Aos 04 dias do mês de dezembro de 2023, às 13:00 horas, sob a Presidência do Professor Flaviano Oliveira Silvério, D. Sc. (Orientador - UFMG/ICA) e com a participação da Professora Gevany Paulino de Pinho, D. Sc. (UFMG/ICA) e dos Professores Ivan Pires de Oliveira, D. Sc. (UFMG/ICA), Paulo Henrique Fidêncio, D. Sc. (UFVJM/Diamantina), e Nelson de Abreu Delvaux Júnior, D. Sc. (Unimontes/Janaúba), reuniu-se, presencialmente, a Banca de tese de **Sandro Braga Soares**, aluno do Curso de Doutorado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de tese intitulada: **“Otimização e validação de métodos de extração e quantificação do inseticida Dinotefuran em amostras de água e solo”**, sendo o aluno considerado **APROVADO**. E, para constar, eu, Professor Flaviano Oliveira Silvério, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: O aluno somente receberá o título após cumprir as exigências do **ARTIGO 65** do regulamento do Curso de Doutorado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 65 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, 1 (um) exemplar impresso e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 04 de dezembro de 2023.

Documento assinado digitalmente
 **GEVANY PAULINO DE PINHO**
 Data: 05/12/2023 08:52:12-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dra. Gevany Paulino de Pinho
 Membro

Documento assinado digitalmente
 **IVAN PIRES DE OLIVEIRA**
 Data: 05/12/2023 09:46:41-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Ivan Pires de Oliveira
 Membro

Documento assinado digitalmente
 **PAULO HENRIQUE FIDÊNCIO**
 Data: 05/12/2023 12:31:45-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr Paulo Henrique Fidêncio
 Membro

Documento assinado digitalmente
 **NELSON DE ABREU DELVAUX JUNIOR**
 Data: 05/12/2023 13:59:28-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Nelson de Abreu Delvaux Júnior
 Membro

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIANO OLIVEIRA SILVÉRIO**
 Data: 05/12/2023 08:44:49-0300
 Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr Flaviano Oliveira Silvério
 Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, força maior do universo;

Aos meus pais Maria Helena Pires e José da Conceição Soares, pelo exemplo de vida e dedicação,

Aos meus irmãos Samuel Pedro Soares e Sérgio Pires Soares, pelo companheirismo;

À minha tia Maria do Rosário Ferreira e filhas, as quais foram muito importantes na minha criação e para o desenvolvimento nos meus primeiros anos escolares;

À minha tia Maristela Soares Fernandes e família, pelo auxílio durante meu período de graduação e mestrado na cidade de Diamantina.

À minha namorada Queila Cândida Ferreira, pela compreensão, nos muitos e muitos momentos de ausência;

Ao meu orientador, professor Flaviano Oliveira Silvério, pela orientação e paciência durante a execução do trabalho;

Ao meu coorientador professor Lázaro Chaves Sicupira, pelo auxílio na execução dos trabalhos;

À equipe do laboratório de pesquisa agroquímica LPA (alunos técnicos) que me auxiliaram durante a execução da parte experimental;

Ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais pela oportunidade;

Ao Laboratório de Química Instrumental (LQI), pela oportunidade de realização da parte prática;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro;

À Pró-reitora de pesquisa (PRPQ) pelo apoio nas questões financeiras da pesquisa;

Aos amigos da pós-graduação pelo companheirismo e amizade e, em especial, à colega Junaí Lopes, por me auxiliar na utilização e aprendizado do HPLC, além de compartilhar várias noites e fins de semana de análises;

Aos professores e técnicos do curso de Engenharia de Alimentos do ICA-UFMG, pela compreensão e flexibilização dos horários para que eu pudesse desenvolver minhas atividades do doutorado;

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos vocês meus mais sinceros agradecimentos!

“Minha religião consiste em uma humilde admiração ao espírito superior e ilimitado que se revela através dos leves detalhes que somos capazes de perceber com nossa mente frágil e débil.” Albert Einstein

RESUMO

O dinotefuran é um composto pertencente à terceira geração de inseticidas nicotinoides, que tem se mostrado eficaz no combate a pragas resistentes a inseticidas convencionais, como organofosforados, carbamatos e piretróides. Essa molécula apresenta elevada solubilidade em água ($39,830 \text{ g L}^{-1}$ a 25 °C) em relação a outros pesticidas, o que facilita seu arraste e lixiviação para as camadas inferiores do solo. Portanto, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar a extração líquido-líquido com purificação a baixa temperatura (ELL-PBT) e a extração sólido-líquido com purificação a baixa temperatura (ESL-PBT) para determinar resíduos de dinotefuran em amostras de água e solo por cromatografia líquida de alta eficiência com detector por arranjo de diodos (CLAE-DAD). Os resultados revelaram que as porcentagens de recuperação do analito variaram de 85,44 a 92,88 com desvio padrão relativo inferior a 8,50% para ambas matrizes. A ELL-PBT e ESL-PBT foram seletivas, precisas, exatas, lineares nas faixas de $10,0$ a $210 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e $15,0$ a $140 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$ para água e solo, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação foram de $5,00$ e $10,00 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para a água e 10 e $15 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ para o solo. O efeito de matriz foi inferior a 14 e 15% para a água e o solo respectivamente. O estudo de estabilidade do dinotefuran em água revelou significativa persistência desta molécula em ausência de luz (>130 dias), e meia-vida de sete dias em água exposta a luz solar. Não foi possível a detecção de dinotefuran em amostras reais de água e solo coletadas na região sul do estado de Minas Gerais. A ELL-PBT e ESL-PBT acopladas à análise por CLAE-DAD apresentaram-se como método simples, de fácil execução e eficiente para extração e análise do dinotefuran em amostras de água e solo.

Palavras-chave: ELL-PBT; ESL-PBT; CLAE-DAD; inseticidas neonicotinoide.

ABSTRACT

The dinotefuran is a compound belonging to the third generation of nicotinoid insecticides, has been effective in combating pests resistant to conventional insecticides, such as organophosphates, carbamates and pyrethroids. This molecule has high solubility in water (39.830 g L^{-1} at $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$) which facilitates its dragging and leaching to the lower layers of the soil. The present study aimed to improve and validate liquid-liquid extraction with low temperature purification (LLE-LTP) and solid-liquid extraction with low temperature purification (SLE-LTP) to determine dinotefuran residues in water and soil samples, respectively, by high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD). The results revealed that the analyses recovery ranged from 85.44 to 92.88 % with a relative standard deviation less than 8.50 % for both matrices. LLE-LTP and ESL-LTP were selective, precise, accurate, linear in the ranges of 10.0 to $210 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, and 15.0 to $140 \text{ } \mu\text{g Kg}^{-1}$ for water and soil, respectively. The detection and quantification limits were 5.00 and $10.00 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ for water and 10 and $15 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ for soil. The matrix effect was less than 14 and 15% for water and soil respectively. The study of dinotefuran stability in water revealed significant persistence in the absence of light (>130 days), and a half-life of seven days in water exposed to sunlight. It was not possible to detect dinotefuran in real water and soil samples collected in the southern region of the state of Minas Gerais. LLE-LTP and ESL-LTP coupled with HPLC-DAD analysis presented itself as a simple, easy to perform and efficient method for extracting and analyzing dinotefuran both water and soil samples.

Keywords: LLE-LTP; HPLC-DAD; neonicotinoid insecticides; SLE-LTP.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1 - Vendas totais de inseticidas no Brasil (mil toneladas de produto formulado). 18
- Figura 3.2 - Estruturas químicas das diferentes gerações de inseticidas neonicotinoides. 19
- Figura 4.1.1 - Posição geográfica da região de coleta das amostras de água. 56
- Figura 4.1.2 - Espectro de absorção na região ultravioleta da solução padrão de dinotefuran em acetonitrila:água com ácido fórmico 0,1% 50:50 na concentração de 5,0 mg L⁻¹. 57
- Figura 4.1.3 - Cromatogramas do extrato de matriz fortificado na concentração de 90 µg L⁻¹. Condições cromatográficas: fase móvel ACN, fluxo da fase móvel 0,5 mL min⁻¹, λ = 270 nm, volume de injeção = 10 µL, temperatura 30 °C e (a) Coluna Kinetex, (b) Coluna Zorbax e (c) Coluna Poroshell. 58
- Figura 4.1.4 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificado na concentração de 90 µg L⁻¹. Condições cromatográficas: coluna kinetex, volume de injeção = 10 µL, fase móvel ACN, T = 30 °C e λ = 270 nm e fluxo da fase móvel (a) 0,3 mL min⁻¹, (b) 0,5 mL min⁻¹ e (c) 1,0 mL min⁻¹. 59
- Figura 4.1.5 - Cromatogramas do extrato de matriz fortificado na concentração de 90 µg L⁻¹. Condições cromatográficas: coluna kinetex, volume de injeção = 10 µL, fase móvel ACN, fluxo da fase móvel 0,3 mL min⁻¹, λ = 270 nm e temperatura (a) 20 °C, (b) 30 °C e (c) 40 °C. 60
- Figura 4.1.6 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificado na concentração de 90 µg L⁻¹. Condições cromatográficas: coluna kinetex,

volume de injeção = 10 μL , fluxo da fase móvel 0,3 mL min^{-1} , $\lambda = 270 \text{ nm}$, temperatura 20 $^{\circ}\text{C}$ e composição da fase móvel ACN:H₂O (a) 100:0, (b) 90:10, (c) 80:20, (d) 70:30, (e) 60:40 e (f) 50:50.

61

Figura 4.1.7 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de 90 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: coluna Kinetex, volume de injeção = 10 μL , $\lambda = 270 \text{ nm}$, vazão = 0,3 mL min^{-1} , fase móvel ACN:H₂O, T = 20 $^{\circ}\text{C}$ para gradiente 1 (a) e 30 $^{\circ}\text{C}$ para gradiente 2 (b) conforme Tabela 4.1 .2.

62

Figura 4.1.8 - Cromatograma do extrato da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de 90 $\mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: Coluna Kinetex, volume de injeção = 10 μL , $\lambda = 270 \text{ nm}$, T = 20 $^{\circ}\text{C}$, vazão = 0,3 mL min^{-1} , fase móvel ACN:H₂O acidificado com ácido fórmico, gradiente 1 eluição conforme Tabela 4.1.2.

63

Figura 4.1.9 - Taxa de recuperação de dinotefuran usando diferentes fases extratoras em ELL-PBT.

64

Figura 4.1.10 - Cromatogramas do extrato matriz fortificado com dinotefuran na concentração de 90 $\mu\text{g L}^{-1}$, utilizando (a) extrato obtido no ensaio 3; (b) extrato obtido no ensaio 8. Coluna Kinetex C18, 100 A (150 mm x 4,6 mm, 5 μm), fluxo 0,3 mL min^{-1} , temperatura 20 $^{\circ}\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, fase móvel ACN:H₂O acidificado com ácido fórmico, gradiente 1 eluição de acordo com a Tabela 4.1.2.

66

Figura 4.1.11- Cromatogramas do extrato de matriz aquosa isenta de analito (a) e do extrato de matriz aquosa fortificado com dinotefuran na concentração de 90 $\mu\text{g L}^{-1}$ (b).

67

Figura 4.1.12 - Espectros de absorção de dinotefuran (90 $\mu\text{g L}^{-1}$) e do ruído de linha de base no tempo de retenção 4,62 minutos.

67

Figura 4.1.13 - Gráficos obtidos no estudo da linearidade da ELL-PBT.	71
Figura 4.1.14 - Concentração média de dinotefuran em amostras de água subterrânea na presença e ausência de luz solar, durante 130 dias.	73
Figura 4.2.1 - Estrutura química do dinotefuran.	80
Figura 4.2.2 - Cromatograma da matriz não fortificada (a); e da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b). Condições cromatográficas: Kinetex C18 column, 100 A (150 mm x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$); volume de injeção $10,0 \mu\text{L}$; vazão $0,3 \text{ mLmin}^{-1}$; temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$; comprimento de onda 270 nm ; fase móvel: ACN 0,1% de ácido fórmico v/v (A) e Água 0,1% de ácido fórmico v/v (B); em gradiente.	89
Figura 4.2.3 - Áreas cromatográficas do dinotefuran no extrato da matriz fortificado a $90 \mu\text{g L}^{-1}$, empregando os adsorventes sílica, sílica adsorvida com cctadodecila C18) e amina primária e secundária (PSA).	90
Figura 4.2.4 - Cromatogramas do extrato matriz fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (—) e do extrato matriz não fortificado (---).Condições cromatográficas: Kinetex, 100 A (150x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$), vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$; fase móvel: ACN com 0,1% de ácido fórmico (A) e Água com 0,1% de ácido fórmico (B); em gradiente.	91
Figura 4.2.5 - Taxa de recuperação do dinotefuran usando diferentes condições de extração na ESL-PBT.	93
Figura 4.2.6 - Cromatogramas do extrato da matriz solo, livre de dinotefuran (a) e no extrato da matriz do solo fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$.	95
Figura 4.2.7 - Linearidade do método otimizado.	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Relação dos inseticidas neonicotinoides	21
Tabela 3.2 - Fórmula estrutural do dinotefuran e seus metabólitos produzidos pelas plantas	26
Tabela 3.3 - Aplicação do método ELL-PBT para extração de agrotóxicos em matrizes	31
Tabela 3.4 - Métodos de extração e análise do dinotefuran em matrizes naturais	34
Tabela 4.1.1 - Otimização das condições cromatográficas para o dinotefuran	50
Tabela 4.1.2 – Condições cromatográficas otimizadas para o dinotefuran, em modo de eluição gradiente	51
Tabela 4.1.3 - Composição das fases extratoras otimizadas no método	51
Table 4.1.4 - Resultados da validação da metodologia ELL-PBT para a extração de dinotefuran em amostras de água	68
Tabela 4.2.1 - Composição química do solo usado para otimização do método de extração	82
Tabela 4.2.2 – Otimização da etapa de clean up dos extratos de solo	84
Tabela 4.2.3 – Parâmetros otimizados na ESL-PBT para o solo	85
Tabela 4.2.4 - Coordenadas geográficas das amostras de solo coletadas e suas respectivas culturas próximas	88
Tabela 4.2.5 - Resultados dos parâmetros de validação da metodologia ESL-PBT em amostras de solo	96

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	16
2.1	Objetivos Gerais	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Inseticidas	17
3.1.1	Inseticidas neonicotinoides	18
3.1.2	Dinotefuran	24
3.2	Metodologias de preparo de amostras	27
3.2.1	Extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura ELL-PBT	28
3.3	Técnicas de análise	33
3.4	Referências	37
4	ARTIGOS	46
4.1	Método de extração e quantificação de dinotefuran em amostras de água	46
4.1.1	Introdução	47
4.1.2	Material e métodos	49
4.1.3	Resultados e discussão	57
4.1.4	Conclusões	74
4.1.5	Referências	75
4.2	Método de extração e determinação de dinotefuram em amostras de solo	79
4.2.1	Introdução	80
4.2.2	Material e métodos	82
4.2.3	Resultados e discussão	88
4.2.4	Conclusão	101
4.2.5	Referências	101
5	CONCLUSÃO	106

1 INTRODUÇÃO

Os inseticidas têm sido largamente utilizados como estratégia de proteção dos mais diversos tipos de lavoura ao redor do mundo (SANDSTROM *et al.*, 2022; STEHLE *et al.*, 2023; WATANABE, 2021). Juntamente com tecnologias associadas ao intenso uso de maquinário, melhoramento genético das culturas, além da aplicação de demais agroquímicos, tem proporcionado um elevado incremento na produtividade das lavouras. Garantindo o abastecimento de insumos agrícolas a uma população com elevados índices de crescimento e urbanização (FUENTES *et al.*, 2023; HAM *et al.*, 2022; HEO *et al.*, 2022; ZHANG, CHAO *et al.*, 2020).

Por outro lado, o uso intensivo dos inseticidas tem elevado a contaminação dos recursos naturais como água, solo e alimentos, causando problemas ambientais e de saúde pública (FAO, 2022; IBAMA, 2023). Vários estudos apontam contaminação de alimentos e desordens ambientais causadas pelos inseticidas (LI, KAIXIN *et al.*, 2023; LIU, XUE *et al.*, 2021; STEHLE *et al.*, 2023).

O dinotefuran é um composto pertencente à terceira geração de inseticidas neonicotinoides, e é amplamente utilizado para a proteção das lavouras em vários países. A crença em menor toxicidade deste inseticida levou ao uso intensivo e aos problemas de contaminação ambiental e ação em organismos não-alvo. Comprometendo a teia alimentar e suprimindo os serviços ecossistêmicos de polinização e decomposição da matéria orgânica (LIU, XUE *et al.*, 2021; STEHLE *et al.*, 2023).

O limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido para dinotefuran em culturas agrícolas no Brasil foi 10 a 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ANVISA, 2021). Sendo a ingestão máxima diária permitida de 22 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de peso vivo (ANVISA, 2021; APVMA, 2015; EPA, 2021; EUROPEAN COMMISSION, 2021; HEALTH CANADA, 2020).

O dinotefuran apresentou toxicidade em animais causando morbidade, problemas reprodutivos e de crescimento com DL_{50} de 2 a 10 mg kg^{-1} testes realizados em ratos (*Rattus norvegicus*) (EPA, 2006). Esse inseticida foi um dos neonicotinóides mais encontrados na urina de trabalhadores rurais da região seca do Sri Lanka, 17,4% das amostras e teor médio de 0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$ (TAIRA *et al.*, 2021), região leste de Iowa Estado Unidos frequência de 54% das amostras e concentração ajustada para creatina de 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ (THOMPSON *et al.*, 2023) e na região de Kumasi, Ghana com frequência de 12%

das amostras e concentração média de $0,038 \mu\text{g L}^{-1}$ (NIMAKO *et al.*, 2021). A presença de neonicotinóides na urina teve correlação positiva com a incidência de doenças renais crônicas dos trabalhadores rurais na região árida do Sri Lanka (TAIRA *et al.*, 2021).

Os métodos QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* em português: rápido, fácil econômico, efetivo, robusto e seguro) e a extração em fase sólida (SPE- do inglês *solid phase extraction*) têm sido usados para extração de resíduos de dinotefuran em estudo de contaminação em várias matrizes (BERENS; CAPEL; ARNOLD, 2021; LI, KAIXIN *et al.*, 2023; THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021; THOMPSON; KOLPIN; *et al.*, 2021; WATANABE, 2021; WATANABE *et al.*, 2016).

A extração líquido - líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) é um método rápido, versátil, barato e que tem sido usado com eficiência para a extração de resíduos de agrotóxicos em várias matrizes ambientais (FREITAS *et al.*, 2021; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; MORAIS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2022; SILVEIRA *et al.*, 2016). Apesar das vantagens da ELL-PBT, esse método tem sido pouco utilizado para a extração de neonicotinóides (WATANABE, 2021) e não foi encontrado, até o momento, trabalhos usando esse método para extração do dinotefuran.

Por isso, o objetivo deste trabalho foi otimizar e validar as metodologias de extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) para determinar resíduos do dinotefuran nas matrizes água e solo, respectivamente. Usar as metodologias otimizadas e validadas para o monitoramento de resíduos do dinotefuran em amostras de água e solo, assim como fazer o estudo de estabilidade do dinotefuran em água.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo deste estudo foi otimizar e validar a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) e a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) seguidas da análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector em arranjo de diodos (CLAE-DAD) para a determinação de dinotefuran em água e solo.

2.2 Objetivos Específicos

Otimizar as condições cromatográficas para quantificação do dinotefuran;

Otimizar e validar as condições da extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura para extração do dinotefuran em água;

Otimizar e validar a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura para extração do dinotefuran em solo;

Utilizar as metodologias otimizadas para análise de amostras de água e solo coletadas em regiões agrícolas;

Realizar o estudo de estabilidade do dinotefuran em água na presença e ausência de luz solar.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Inseticidas

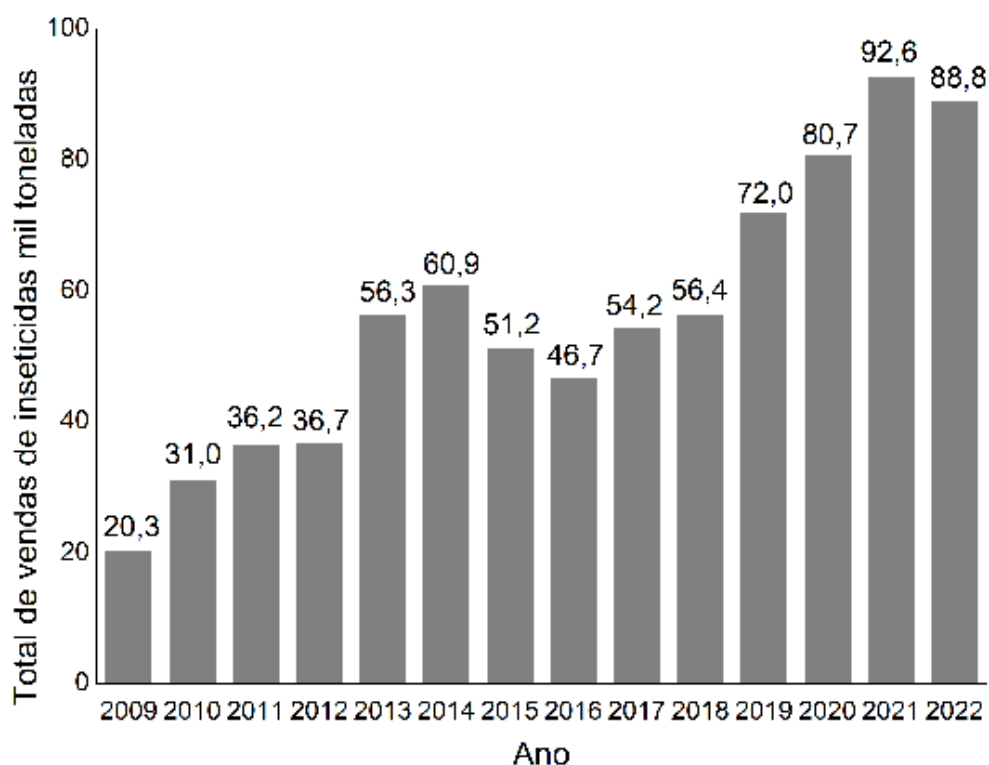
O uso de inseticidas tem se tornado indispensável na agricultura moderna devido a necessidade de elevada produção de recursos agrícolas, como alimentos, madeira, combustível e fibra, para o atendimento a uma população em crescimento (FUENTES *et al.*, 2023; HAM *et al.*, 2022; HEO *et al.*, 2022; SANDSTROM *et al.*, 2022; STEHLE *et al.*, 2023; WATANABE, 2021; ZHANG; CHAO *et al.*, 2020).

Devido ao risco econômico e o volume de recursos investidos na agricultura moderna, assim como o baixo custo comparativo dos inseticidas, os produtores têm usado inseticidas de forma preventiva (TOOKER; PEARSONS, 2021). O que tem causado um excesso desses produtos no ambiente e a atuação em organismos não alvo (BUSCH *et al.*, 2020; LI, KAIXIN *et al.*, 2023; SANDSTROM *et al.*, 2022; TOOKER; PEARSONS, 2021; WANG, JIA *et al.*, 2023; ZHANG, HAIYUN *et al.*, 2021; ZHANG, YUE *et al.*, 2021).

Pesquisas recentes têm mostrado diferentes relatos e investigações sobre contaminação com inseticidas em organismos vivos como minhocas (LIU; TONG *et al.*, 2017), lagartos. (WANG; YINGHUAN *et al.*, 2018), abelhas (ZHANG; YUE *et al.*, 2021), pássaros (ENG; STUTCHBURY; MORRISSEY, 2019; FUENTES *et al.*, 2023), microrganismos do solo (YU, BO *et al.*, 2020), em alimentos como melão (RAHMAN *et al.*, 2013), berinjela (CHEN; XIAOXIN *et al.*, 2017), chá verde (RAHMAN *et al.*, 2015), tomate (CHEN; ZENGLONG *et al.*, 2021), mel (FREITAS *et al.*, 2021; MITCHELL *et al.*, 2017) e em águas superficiais (BERENS; CAPEL; ARNOLD, 2021; CASILLAS *et al.*, 2022; HALLMANN *et al.*, 2014; STEHLE *et al.*, 2023) e subterrâneas (THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021; THOMPSON; KOLPIN; *et al.*, 2021).

Impulsionado pela demanda do mercado agrícola interno e, principalmente, pela liberação de novos princípios químicos nos últimos anos (IBAMA, 2023), o Brasil tem se destacado como um dos principais consumidores mundiais de agrotóxico (FAO, 2023). Neste cenário, os inseticidas têm ocupado a terceira posição entre os agroquímicos mais comercializados no país, tendo mostrado crescente comercialização entre os anos de 2009 e 2021, como pode ser observado na (FIGURA 3.1).

Figura 3.1 - Vendas totais de inseticidas no Brasil (mil toneladas de produto formulado)



Fonte: IBAMA, 2023.

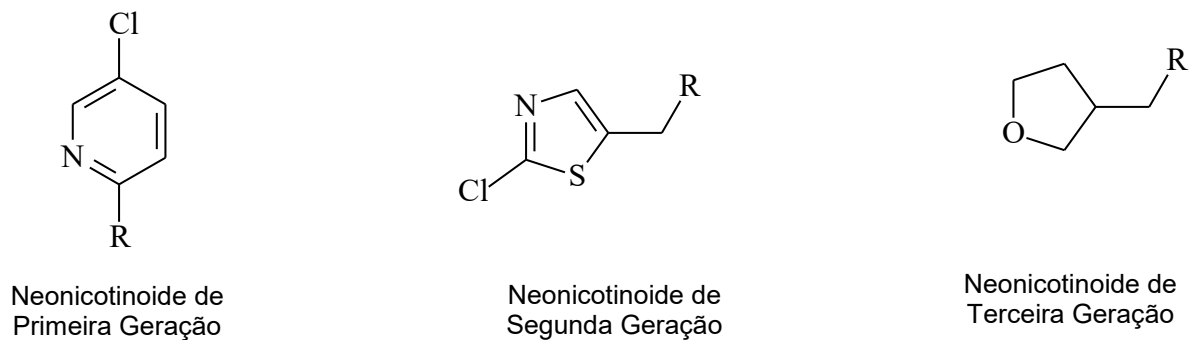
3.1.1 Inseticidas neonicotinoides

Os inseticidas neonicotinoides foram lançados a partir do ano de 1990 (FAROUK *et al.*, 2016; STEHLE *et al.*, 2023; WATANABE, 2021; WOLFRAM *et al.*, 2023). Com grande elevação no comércio mundial entre os anos de 1990 e 2008, se tornando os mais utilizados e comercializados atualmente (CHENG *et al.*, 2023; LI, XIAOQING *et al.*, 2021; WANG, JIA *et al.*, 2023; XIONG *et al.*, 2021; YU, BO *et al.*, 2020; ZHANG, HAIYUN *et al.*, 2021).

Esses inseticidas são derivados da nicotina e classificados conforme a estrutura química em: neonicotinoides de primeira geração que tem um átomo de cloro ligado na posição 3 de um anel piridínico, como Imidacloprido e Acetamiprido; neonicotinoides de segunda geração com átomos de cloro ligado a um anel aromático de cinco membros contendo enxofre e nitrogênio, como Tiametoxam e Clotianidina; e neonicotinoides de terceira geração que tem um éter cíclico de cinco membros, como no caso da molécula do Dinotefuran (WATANABE, 2021). Na década passada, sulfoxaflor e flupyradifurone que atuaram de forma similar, foram lançados como produtos relacionados aos

neonicotinoides (THOMPSON *et al.*, 2020; WATANABE, 2021; WATSON *et al.*, 2021). Os nomes, siglas, geração, estruturas químicas e empresas fabricantes são descritos (FIGURA 3.2 e TABELA 3.1)

Figura 3.2 - Estruturas químicas das diferentes gerações de inseticidas neonicotinoides



Fonte: Adaptado de (WATANABE, 2021).

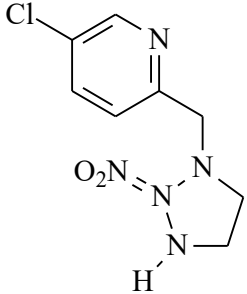
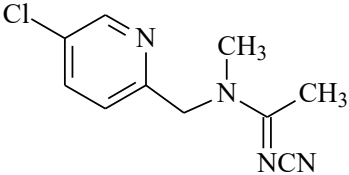
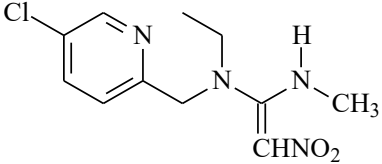
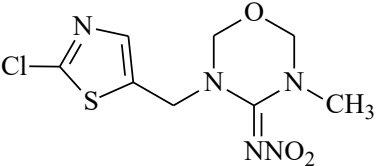
O aumento na comercialização dos inseticidas neonicotinoides pode ser explicado por vários fatores, dentre eles o elevado espectro de atuação e o diferente modo de ação associado a uma baixa toxicidade ao ambiente e aos animais. No entanto, o uso constante destes agrotóxicos tem suplantado a baixa toxicidade e elevado o potencial de contaminação (ZHANG; HAIYUN *et al.*, 2021), causando problemas ambientais (STEHLE *et al.*, 2023; WOLFRAM *et al.*, 2023) e preocupação aos órgãos sanitários (EPA, 2021; EUROPEAN COMMISSION, 2021; HEALTH CANADA, 2020).

Um número crescente de estudos tem levantado preocupações sobre o impacto adverso que os neonicotinoides podem ter em organismos não alvo. Em particular, riscos graves para organismos polinizadores como as abelhas, borboletas, mariposas e invertebrados do solo (LI; XIAOQING *et al.*, 2021; LIU, XUE *et al.*, 2021; MITCHELL *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2020; YU, ZHUYUN *et al.*, 2021). O que tem levado as autoridades mundiais a reavaliar a permissão de uso de vários desses inseticidas (STEHLE *et al.*, 2023).

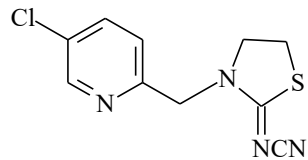
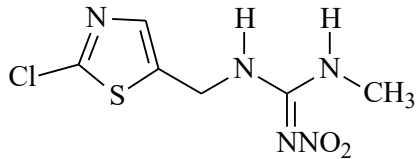
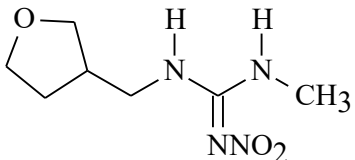
Nesse sentido a união europeia proibiu o uso agrícola, (com exceção de cultivo em estufas), dos neonicotinoides imidacloprido, clotianidina e tiametoxam desde 2018, e rejeitou aprovação do tiacloprido em 2020 (European Commission, 2021). Já nos Estados Unidos e Canadá houve proibição de alguns produtos a base de neonicotinóides e redução das dosagens permitidas para aplicação e limites de resíduos (EPA, 2021;

HEALTH CANADA, 2020).

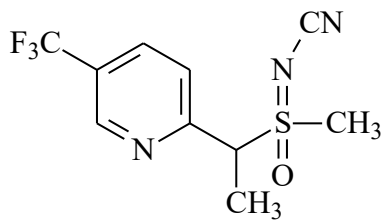
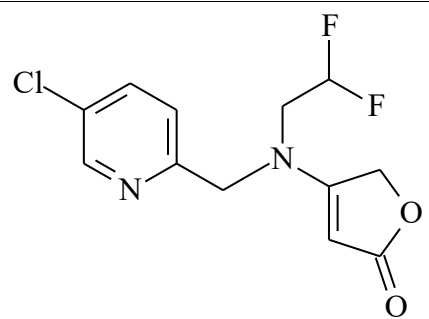
Tabela 3.1 - Relação dos inseticidas neonicotinoides

Inseticida	Sigla	Estrutura química	Ano de lançamento	Geração	Fabricante
Imidaclopride	(IMI)		1990	1	Bayer Crop- Science
Acetamiprid	(ACE)		1995	1	Nippon Soda Co., Ltd.
Nitenpiram	(NIP)		1995	1	Takeda Chemical Industries, Ltd Agora chamada Sumitomo Chemical Company, Ltd.
Tiametoxame	(TMX)		1998	2	Syngenta

Continuação Tabela 3.1

Inseticida	Sigla	Estrutura química	Ano de lançamento	Geração	Fabricante
Tiaclopride	(TCP)		2000	1	Bayer CropScience
Clotianidin	(CLO)		2001	2	Takeda Chemical Industries, Ltd.
Dinotefuran	(DIF)		2002	3	Mitsui Chemicals Agro

Continuação Tabela 3.1

Inseticida	Sigla	Estrutura química	Ano de lançamento	Geração	Fabricante
Sulfoxaflor	(SXF)		2010	-	Dow AgroSciences
Flupyradifurone	(FPF)		2014	-	Bayer CropScience

Fonte: Adaptado de (WATANABE, 2021).

3.1.2 Dinotefuran

O Dinotefuran, 1-metil-2-nitro-3-(tetraidro-3-furilmetil) guanidina, é um composto pertencente à terceira geração de inseticidas neonicotinoides. Foi lançado em 2002 pela Mitsui Chemicals Agro e, desde, então tem sido altamente utilizado para muitas culturas em diversos países (CHEN; XIAOXIN *et al.*, 2018; CHEN; ZENGLONG *et al.*, 2021; HAM *et al.*, 2022; LIU, SIHONG *et al.*, 2019; LIU, TONG *et al.*, 2017; WATANABE; 2021; XU *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2020; YIN *et al.*, 2023). O dinotefuran é um produto eficaz no combate a pragas e ainda não apresenta relato de resistência. Atua como agonista dos receptores nicotínicos da acetilcolina do sistema nervoso central dos insetos. Ligando-se aos receptores pós-sinápticos (nAChRs), e afetando a ligação da acetilcolina nicotínica de um modo que difere de outros inseticidas neonicotinoides (CHEN; XIAOXIN *et al.*, 2018). Mostrando efeito proeminente em insetos pragas resistentes a inseticidas convencionais, como organofosforados, carbamatos e piretroides (WATANABE; BABA; MIYAKE, 2011).

O dinotefuran apresenta elevada captação pelas plantas e eficiência inseticida, relativa estabilidade no solo, com meia vida de 50 a 100 dias e elevada solubilidade em água (39,8 a 89,7 g L⁻¹ de acordo com a temperatura) (HALLMANN *et al.*, 2014; LIU; TONG *et al.*, 2017; LIU, XUE *et al.* 2021). O que facilita o seu arraste e lixiviação para camadas inferiores do solo e pode levar a contaminação de águas superficiais (BERENS; CAPEL; ARNOLD, 2021; CASILLAS *et al.*, 2022; STEHLE *et al.*, 2023) e subterrâneas (KIM; JIWON *et al.*, 2021; THOMPSON *et al.*, 2020; THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021).

Devido a intensidade de utilização, o dinotefuran pode se acumular no solo e nas águas, reduzindo macrofauna do solo e prejudicando a polinização e a ciclagem de nutrientes (LIU; TONG *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2018; YU; ZHUYUN *et al.*, 2021; ZHANG; YUE *et al.*, 2021).

Recentes pesquisas indicaram que o dinotefuran pode induzir a geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS), causando mudanças significativas nas atividades das enzimas antioxidantes e afetando o crescimento de animais (DI *et al.*, 2021; LIU, TONG *et al.*, 2017) e plantas (XIE; HOU, 2021). Nesse sentido foi descrito elevação no nível de (ROS) e variações no teor e atividade das enzimas a

Superoxido desmutase (SOD), a *Catalase* (CAT), no sistema Gutationa (*Glutaciona peroxidase* (GPx), e *Glutaciona redutase* (GSH)) em minhocas expostas a solos contaminados com dinotefuran (LIU; TONG *et al.*, 2017). Variações semelhantes nas concentrações e atividades desses marcadores foram atribuídos a resposta ao estresse oxidativo causado pela exposição ao dinotefuran em peixe zebra (DI *et al.*, 2021). O mecanismo molecular de toxicidade oxidativa do dinotefuran, por análise da *Glutaciona peroxidase* 6 foi estudado e atribuído a menor comprimento de radículas da planta *Arabidopsis thaliana* (XIE; HOU, 2021).

Além disso, esse inseticida é extremamente tóxico para abelhas (CHEN; ZENGLONG *et al.*, 2019; LIU; SIHONG *et al.*, 2019; ZHANG; QUAN *et al.*, 2022), para invertebrados (LIU; TONG *et al.*, 2017; YU; ZIMIN *et al.*, 2021; ZHANG, HAIYUN *et al.*, 2021) e microrganismos do solo (YU; BO *et al.*, 2020; YU; ZHUYUN *et al.*, 2021).

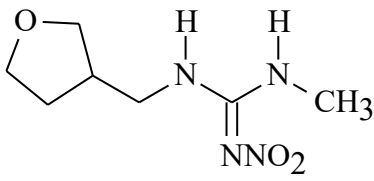
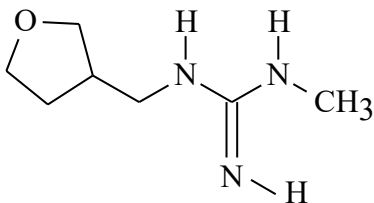
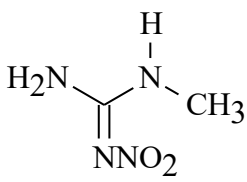
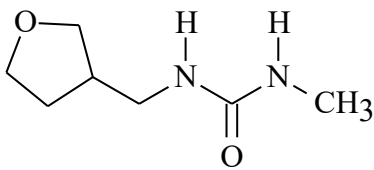
O dinotefuran foi recentemente liberado para o uso agrícola no Brasil, podendo ser empregado em diversas culturas como, algodão, amendoim, arroz, aveia, batata, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, citros, ervilha, feijão, feijões, grão de bico, lentilha, milheto, milho, soja, sorgo, tomate, trigo, triticales, com o limite máximo de resíduo entre 10 a 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e intervalo de segurança entre 1 a 150 dias (ANVISA, 2021). A recomendação de aplicação no Brasil é via foliar para a maioria das culturas, corroborado pela sua alta absorção e translocação pelas plantas (HALLMANN *et al.*, 2014; LIU; TONG *et al.*, 2017).

O dinotefuran é metabolizado em plantas, gerando como principais metabólitos o 1-metil-3-(tetraidro-3-furilmetil) guanidina dihidrogenio (DN), o 1-metil-3-(tetraidro-3-furilmetil) ureia (UF) e o 1-metil-2-nitroguanidina (MNG). As estruturas químicas destas moléculas podem ser observadas na (Tabela 3.2) (CHEN; XIAOXIN *et al.*, 2017; RAHMAN *et al.*, 2013, 2015; WATANABE; BABA; MIYAKE, 2011). A toxicidade dos metabólitos (DN e UF) e do composto original é aproximadamente a mesma; no entanto, os metabólitos são mais móveis e persistentes, apresentando maior capacidade poluente (RAHMAN *et al.*, 2015).

O dinotefuran é um inseticida que apresenta carbono quiral e expressa o par de enantiômeros (S)-dinotefuran e (R)-dinotefuran, ambos com atividade inseticida (veja Tabela 3.2) (CHEN; XIU *et al.*, 2015; CHEN; ZENGLONG *et al.*, 2021; DI *et al.*, 2021; RAN *et al.*, 2021), mas que podem ter diferenças de intensidade metabólica e,

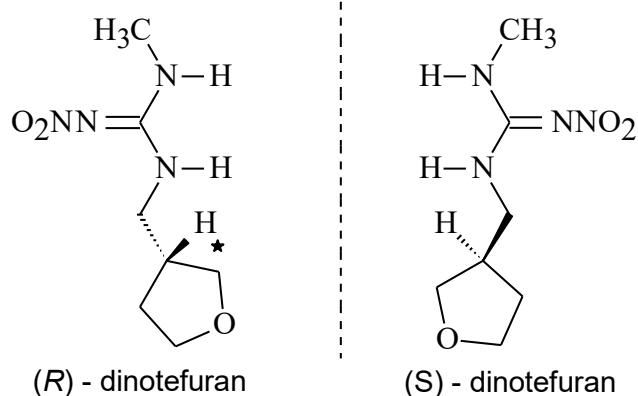
consequentemente, diferentes atividades. Estudo recente encontrou capacidade inseticida, por contato superior, do (S)-dinotefuran em relação ao (R)-dinotefuran, de 128 vezes para abelhas *Apis melífera*, de 2,7 para *Aphis gossypii* e 3,4 vezes para *Apolygus lucorum* (CHEN, ZENGLONG *et al.*, 2019). O enantiômetro-S também teve menor taxa de degradação por bactérias do solo, se acumulando e gerando os produtos DN e UF, também na configuração-S (CHEN; ZENGLONG *et al.*, 2021; CHENG *et al.*, 2023). Os metabólitos e os enantiômetros R e S do dinotefuran são mostrados (TABELA 3.2).

Tabela 3.2 – Fórmula estrutural do dinotefuran e seus metabólitos produzidos pelas plantas

Nome comum	Composto	Estrutura Química
Dinotefuran	1-metil-2-nitro-3-(tetraidro-3-furilmetil)guanidina	
DN	1-metil-3-(tetraidro-3-furilmetil)guanidina di-hidrogenio	
MNG	1-metil-2-nitroguanidina	
UF	1-metil-3-(tetraidro-3-furilmetil) ureia	

Continuação Tabela 3.2

Enantiômeros do dinotefuran



Fonte: Adaptado de (WATANABE, 2021).

3.2 Metodologias de preparo de amostras

A preparação da amostra desempenha um papel fundamental nos procedimentos analíticos (YU, FENGJIE *et al.*, 2021). Esses métodos consistem na extração e limpeza dos extratos, ambas necessárias para a maioria das matrizes analisadas. (DE PINHO *et al.*, 2010; WATANABE *et al.*, 2016, 2021; ZHOU, YING *et al.*, 2018).

Resíduos de pesticidas geralmente exibem níveis de concentração muito baixos e suas matrizes ambientais são geralmente complexas (FAROUK *et al.*, 2016), demandando eficiência dos processos de extração e limpeza. Sendo assim o desempenho do instrumento analítico pode ou não ser totalmente explorado, dependendo do sucesso do método de preparação de amostra utilizado (KIM; SO HEE *et al.*, 2023; WATANABE, 2021; ZHOU, WANLONG; YANG; WANG, 2017).

Em geral os métodos tradicionais de preparação de amostras como a extração líquido-líquido tradicional (ELL) e extração em fase sólida (EFS) empregam elevada quantidade de solventes orgânicos prejudiciais à saúde e ao ambiente (SICUPIRA *et al.*, 2019; WATANABE, 2021). Além disso, o estudo de resíduos inseticidas, em matrizes alimentícias ou ambientais, geralmente envolve um número relativamente elevado de amostras. Logo, o desenvolvimento de métodos de extração e

quantificação rápidos e econômicos são extremamente importantes (ZHOU; YING *et al.*, 2018).

Vários solventes, incluindo metanol, acetonitrila, mistura de acetonitrila com água ou com diclorometano, tem sido usados para extração de neonicotinoides em matrizes biológicas (FAROUK *et al.*, 2016; MA *et al.*, 2019; RAHMAN *et al.*, 2015; THOMPSON *et al.*, 2023; WATANABE; BABA; MIYAKE, 2011; ZHANG; YIPING *et al.*, 2020).

Os adsorventes amina primária e secundária (do inglês, PSA - Primary Secondary Amine), sílica ligada a octadodecila (C₁₈), carbono grafitado (do inglês, CGB - Carbon Graphite Black) têm sido usados para o *clean up* das amostras. E sais como sulfato de magnésio e o cloreto de sódio tem sido utilizados para elevação da força iônica (ZHOU; YING *et al.*, 2018).

Nos últimos anos tem ocorrido grande evolução, simplificação e aprimoramento dos métodos de extração e purificação de amostras. Tendo como principais objetivos minimizar o consumo de solventes e reagentes, otimizar a limpeza e reduzir o tempo de extração (MESQUITA *et al.* 2018; SICUPIRA *et al.*, 2019; YU; FENGJIE *et al.*, 2021). Nesse sentido as derivações do método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* em português: rápido, fácil econômico, efetivo, robusto e seguro), tem sido altamente empregadas em análises de neonicotinoides (ALCÂNTARA *et al.*, 2019; HEO *et al.*, 2022; KIM; KIHWAN *et al.*, 2023) e a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) tem sido empregada para análise de vários resíduos de agrotóxicos (FREITAS; FAÊDA *et al.*, 2023; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; SANTOS *et al.*, 2022; VIEIRA *et al.*, 2022). Porém, até o momento, não foram encontrados relatos na literatura do uso desse método para a extração do dinotefuran.

3.2.1 Extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura ELL-PBT

A ELL-PBT foi desenvolvida por McCulley e McKinley, em 1964, para determinação de pesticidas clorados em gordura. Porém, somente em 2007 essa metodologia foi denominada como extração líquido-líquido com purificação em baixa

temperatura (PEREIRA; VIEIRA *et al.*, 2007). Essa metodologia consiste em extrair um analito de uma determinada matriz aquosa pela adição de um solvente orgânico, seguida pelo abaixamento da temperatura (AMBROSIO *et al.*, 2022; FREITAS; FAËDA *et al.*, 2023; FREITAS, *et al.*, 2021; SILVEIRA *et al.*, 2016). A extração ocorre porque as moléculas do analito são transferidas para o solvente orgânico, quando a matriz aquosa se solidifica (AMBROSIO *et al.*, 2022; FREITAS, FAËDA *et al.*, 2023; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; SILVA *et al.*, 2023; VIEIRA *et al.*, 2022).

Para a análise em amostras sólidas, essa técnica é denominada extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT), sendo comum a adição de água as amostras para facilitar as interações químicas entre os analitos e a fase extratora (FREITAS; FAËDA *et al.*, 2023; FREITAS *et al.*, 2021; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; SILVA *et al.*, 2023). Esse método se destaca pela capacidade de extração de analitos tanto para cromatografia em fase gasosa (CG) como para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (FREITAS; FAËDA *et al.*, 2023; DE PINHO *et al.*, 2010; MESQUITA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2023).

A taxa de recuperação dos analitos nesse método pode ser influenciada pela adição de sais inorgânicos, o controle do pH, a composição da fase extratora e a proporção da fase extratora: amostra (FREITAS; FAËDA *et al.*, 2023; SICUPIRA *et al.*, 2019).

A adição de sais inorgânicos pode elevar o nível de extração do analito, devido a maior afinidade da água pelos íons dos sais, sendo assim os íons salinos são solvatados pelas moléculas de água, e o analito pode mais facilmente ser transferido para a fase extratora. Por outro lado, a adição de sal ao sistema aquoso pode comprometer o congelamento da água e dificultar ou elevar o tempo de congelamento necessário para extração do analito (FREITAS *et al.*, 2021).

O controle do pH influencia na extração de compostos orgânicos ionizáveis, pois a taxa de dissociação de um composto ionizável pode elevar ou reduzir sua afinidade pela matriz ou pela fase extratora (CUNHA *et al.*, 2021; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023).

Mistura de solventes podem causar mudanças na polaridade da fase extratora. Este procedimento pode dificultar o congelamento e, conseqüentemente, diminuir a eficiência da extração (VIEIRA *et al.*, 2007). Porém, a eficiência da extração em mistura de solventes é dependente do analito, pois essa prática melhorou a extração de alguns agrotóxicos apolares, em mel como Aldrim e Mirex (SANTOS *et al.*, 2022) e clorpirifós, α -cialotrina, cipermetrina e deltametrina (PINHO *et al.*, 2010).

O aumento na proporção de solvente orgânico na ELL-PBT pode contribuir para a migração dos compostos alvos para a fase orgânica, melhorando a recuperação dos analitos (MESQUITA *et al.*, 2018). Por outro lado, o aumento da proporção de solvente orgânico diluiria o analito, sendo necessário maior investimento numa etapa de concentração. Além do maior gasto de solvente, relações 2:1 solvente / amostra têm proporcionado recuperações próximas a 100% (FREITAS, FAÊDA *et al.*, 2023; FREITAS *et al.*, 2021; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; MORAIS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2022; SICUPIRA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2023).

A recuperação dos analitos neste método é influenciada fortemente pelas características químicas como a polaridade e a solubilidade em água do analito alvo e da composição química da matriz. Sendo quase sempre necessário otimizar os parâmetros supracitados para obtenção da melhor condição de extração (AMBROSIO *et al.*, 2022; DE FREITAS, FAÊDA *et al.*, 2023; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; SANTOS *et al.*, 2022; VIEIRA *et al.*, 2022).

A ELL-PBT tem se mostrado como um método que extrai os analitos com menor teor de interferentes, uma vez que grande parte dos contaminantes fica aprisionada a porção aquosa congelada (FREITAS *et al.*, 2021; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; MORAIS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2022). Entretanto, até o momento, este método tem sido pouco utilizado para a extração de neonicotinoides (WATANABE, 2021) e não foi encontrado trabalhos usando esse método para extração do dinotefuran.

Vários autores têm recorrido a esse método para extração de resíduos de agrotóxicos em matrizes biológicas. Demonstrando a versatilidade do método, os diferentes volumes de amostra e tempos de congelamento. Taxas de recuperação entre 82 e 110%; podendo ser empregado tanto para cromatografia em fase líquida quanto em fase gasosa, como pode ser observado (TABELA 3.3).

Tabela 3.3 - Aplicação do método ELL-PBT para extração de agrotóxicos em diferentes matrizes

Analito alvo	Classe do Agrotóxico	Matriz	Tempo Congelamento	Técnica	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Autores
Clorpirifós		6 mL de Água	3 horas	CG-DCE	-	-	(SILVEIRA <i>et al.</i> , 2016)
Azoxistrobina, difenoconazol e clorotalonil	Fungicida	4 mL de Água	3 horas	CG-DCE	2,33 a 13,98	89,3 a 109,8	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2017)
Organoclorados	Inseticida	4 mL de Água	1 hora	CG-EM	500	91 a 108	(MESQUITA <i>et al.</i> , 2018)
Azoxystrobin, chlorothalonil, e difenoconazole	Fungicida	4mL de Água	3 horas	CG-DCE	2,33 a 13,9	89,34 a 109,81	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2019)
		4 gramas de poupa tomates	6 horas		1,33 a 8,32	87,64 a 103,50	
2.4 D	Herbicida	4 mL de Água	1 hora	CLAE-DAD	2,0	97,9 a 100,4	(FREITAS, 2021)
Zoxystrobin, chlorothalonil, e difenoconazole.	Fungicida	4 mL Água 4 gramas de poupa de pimentão	3 horas	CG-DCE	2,33 a 13,98	89,34 a 103,80	(RODRIGUES <i>et al.</i> , 2021)
			6 horas		3,67 a 11,65	82,37 a 107,01	
Aldrin e Mirex	Formicida	Mel	1 hora	CG-EM	2,0 a 4,0 e 1,0 a 2,0	107,9 a 111,7 e 84,1 a 97,5	(SANTOS <i>et al.</i> , 2022)
fipronil	Inseticida	275 mg Casca de ovo de tartaruga	4,5 horas	CLAE-DAD	8,37	100,7	(AMBROSIO <i>et al.</i> , 2022)

Continuação Tabela 3.3

Analito alvo	Classe do Agrotóxico	Matriz	Tempo Congelamento	Técnica	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Autores
Imazalil	Fungicida	4 gramas Sementes, poupa e casca de mamão	6 horas	CG-EM	25	92,26 a 107,19	(DE FREITAS FAÊDA <i>et al.</i> , 2023)
Florpyrauxifen-benzyl	Herbicida	4 gramas Solo	1 hora	CLAE-DAD	20	108,8	(LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023)

LQ: limite de quantificação; CG-DCE: cromatografia em fase gasosa com detecção por captura de elétrons; CG-EM: cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas. CLAE-DAD: cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a detector diodo.

3.3 Técnicas de análise

Análises de resíduos de agrotóxicos em matrizes orgânicas são complexas de serem executadas, uma vez que esses compostos possuem diferentes propriedades físico-químicas e ocorrem em concentrações em níveis de traços e na presença de compostos interferentes (CALDAS *et al.*, 2011; WATANABE, 2021; YU, FENGJIE *et al.*, 2021; ZHOU, YING *et al.*, 2018).

A determinação de resíduos de agrotóxicos tem sido tradicionalmente realizada por técnicas cromatográficas, como CG e CLAE, em função de suas elevadas capacidades de separação, identificação e quantificação dos compostos (CALDAS *et al.*, 2011; FAROUK *et al.*, 2016; STEHLE *et al.*, 2023; THOMPSON *et al.*, 2020; WATANABE, 2021; WOLFRAM *et al.*, 2023). É importante relatar o aprimoramento dos instrumentos de detecção utilizados nas análises cromatográficas nos últimos anos, que tem permitido a detecção de agrotóxicos em concentrações cada vez menores e nas mais diversas matrizes (HEO *et al.*, 2022; MOU *et al.*, 2023; NIMAKO *et al.*, 2022; TAIRA *et al.*, 2021; TU *et al.*, 2023; WATANABE *et al.*, 2016).

O Dinotefuran assim como a maioria dos inseticidas neonicotinoides não é volátil, tem estabilidade térmica e elevada polaridade, ($\log K_{ow} = -0,549$), sendo predominante o uso de cromatografia em fase líquida acoplada espectrometria de massas (do inglês, MS - Mass Spectrometry) ou cromatografia em fase líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD) em suas análises (SANDSTROM *et al.*, 2022; THOMPSON *et al.*, 2020; WATANABE, 2021; WATANABE *et al.*, 2016; ZHOU, YING *et al.*, 2018).

Nos últimos 10 anos, vários estudos envolvendo métodos de extração e análise de dinotefuran foram conduzidos, mostrando uma predominância do uso do método QuEChERS com adaptações; uso de cromatografia líquida, e detectores DAD e MS; limites de quantificação entre 0,1 e 160 ($\mu\text{g L}^{-1} / \mu\text{g kg}^{-1}$), como pode ser observado na (TABELA 3.4).

Tabela 3.4 - Métodos de extração e análise do dinotefuran e respectivos limites de detecção e quantificação em matrizes naturais

Matriz	Método de extração	Método de análise*	Autores	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$ / $\mu\text{g kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$ / $\mu\text{g kg}^{-1}$)
Melão	QuEChERS	LC-UVD	(RAHMAN <i>et al.</i> , 2013)	50	160
Chá (folhas secas e infusão)	QuEChERS	LC-MS/MS	(RAHMAN <i>et al.</i> , 2015)	-	10
Pepino, solo	QuEChERS	CLAE- DAD	(FAROUK <i>et al.</i> , 2016)	3 - 10	10– 30
Mix de vegetais	QuEChERS	CLAE-DAD	(WATANABE <i>et al.</i> , 2016)	1,1	3,2
beringela	QuEChERS	(RRLC-QqQ-MS/MS)	(CHEN, XIAOXIN <i>et al.</i> , 2018)	-	0,2
Tecido animal (lagarto)	QuEChERS modificado	CLAE--MS	(WANG, YINGHUAN <i>et al.</i> , 2018)	3	10
Minhocas	QuEChERS	CLAE--MS	(ZHANG, YIPING <i>et al.</i> , 2020)	-	-
Solo	QuEChERS modificado	LC-MS/MS	(YU, BO <i>et al.</i> , 2020b)	-	0,11

Continuação Tabela 3.4

Matriz	Método de extração	Método de análise*	Autores	LD ($\mu\text{g L}^{-1} / \mu\text{g kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1} / \mu\text{g kg}^{-1}$)
Chá	QuEChERS	CLAE- MS /MS	(ZHANG, YIPING <i>et al.</i> , 2020)	-	0,81
Solução aquosa de Mel	-	Detecção por Inflorescência	(YANG <i>et al.</i> , 2020)	-	-
Abelhas		CLAE--MS	(ZHANG, YUE <i>et al.</i> , 2021)	-	-
Mostarda	QuEChERS modificado	CLAE- -DAD	(LI, XIAOQING <i>et al.</i> , 2021)	10	40,0
Solução (TBA)***	-	UPLC- MS	(LIU, XUE <i>et al.</i> , 2021)	-	-
Poupa de tomate	QuEChERS	UHPSFC–MS/MS	(CHEN, ZENGLONG <i>et al.</i> , 2021)	-	1,0 - 5,0
Tecidos de Peixe Zebra	-	SFC-MS/MS	(DI <i>et al.</i> , 2021)		-

Continuação Tabela 3.4

Matriz	Método de extração	Método de análise*	Autores	LD ($\mu\text{g L}^{-1} / \mu\text{g kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1} / \mu\text{g kg}^{-1}$)
Mix de vegetais	-	UHPLC- MS	(LIU, JIN <i>et al.</i> , 2021)	-	100**
Água	SPE	LC MS/ MS	(THOMPSON; KOLPIN; <i>et al.</i> , 2021)	-	-
Água	SPE	CLAE- MS /MS	(XIONG <i>et al.</i> , 2021)	0,036	0,122

*(UHPSFC–MS/MS) ultra cromatografia de fluido supercrítico de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas; SFC-MS/MS cromatografia de fluido supercrítico acoplado espectrometria de massas com triplo quadrupolo com ionização por electrospray; CLAE-MS cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas; CLAE MS MS cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas com triplo quadrupolo com ionização por electrospray; CLAE–DAD cromatografia em fase líquida de alta eficiência acoplada a detector diodo; LC-MS/MS cromatografia em fase líquida acoplada a espectrometria de massas com triplo quadrupolo com ionização por electrospray; LC-UVD cromatografia em fase líquida acoplada a detector ultra violeta; (RRLC-QqQ-MS/MS) cromatografia líquida espectrometria de massa em tandem de triplo quadrupolo; SPE extração em fase sólida; QuEChERS Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (rápido, fácil econômico, efetivo, robusto e seguro) **Na matriz alface; ***TBA Tert-butyl alcohol.

Apesar dos vários estudos de investigação sobre a presença de resíduos de dinotefuram em várias matrizes alimentícias e ambientais, não foi encontrado trabalhos usando a metodologia extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT). Sendo assim, esse trabalho procurou testar essa metodologia como uma possível forma de extração de dinotefuram para amostras orgânicas. Uma vez que não existe uma recomendação oficial para extração desse inseticida no Brasil.

3.4 Referências

ALCÂNTARA, Daniel B. *et al.* Diagnostic detection systems and QuEChERS methods for multiclass pesticide analyses in different types of fruits: An overview from the last decade. **Food Chemistry**, v. 298, 15 nov. 2019.

AMBROSIO, Isabela S. *et al.* Development and validation of a solid–liquid extraction with low-temperature partitioning method for the determination of fipronil in turtle eggshell. **Microchemical Journal**, v. 178, n. December 2021, p. 107393, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107393>>.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2021). *Monografias de agrotóxicos autorizadas D55 Dinotefuran*. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pbr/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/d/4307json-file-1/view>>. Acesso: 26 nov. 2022.

APVMA Product Starkle 200 SG Insecticide. 2015, KINGSTON ACT 2604 Australia: [s.n.], 2015. p. 47. Disponível em: <www.apvma.gov.au>.

BERENS, Matthew J.; CAPEL, Paul D.; ARNOLD, William A. Neonicotinoid Insecticides in Surface Water, Groundwater, and Wastewater Across Land-Use Gradients and Potential Effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 4, p. 1017–1033, 2021.

BUSCH, Anna K. *et al.* A high-diversity/IPM cropping system fosters beneficial arthropod populations, limits invertebrate pests, and produces competitive maize yields. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 292, p. 106812, 15 abr. 2020.

CALDAS, Sergiane S. *et al.* Principais Técnicas De Preparo De Amostra Para A Determinação De Resíduos De Agrotóxicos Em Água Por Cromatografia Líquida Com Detecção Por Arranjo De Diodos E Por Espectrometria De Massas. **Química Nova**, p. 1, 2011. Disponível em: <<https://byjus.com/biology/sowing/>>.

CASILLAS, Alba *et al.* Environmental risk assessment of neonicotinoids in surface water. **Science of the Total Environment**, v. 809, 25 fev. 2022.

CHEN, Xiaoxin *et al.* Simultaneous determination of pyridaben, dinotefuran, DN and UF in eggplant ecosystem under open-field conditions: Dissipation behaviour and residue distribution. **Chemosphere**, v. 195, p. 245–251, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.011>>. Acesso: 31 maio 2021.

CHEN, Xiu *et al.* Enantioselective degradation of chiral insecticide dinotefuran in greenhouse cucumber and soil. **Chirality**, v. 27, n. 2, p. 137–141, 2015.

CHEN, Zenglong *et al.* Ecological toxicity reduction of dinotefuran to honeybee: New perspective from an enantiomeric level. **Environment International**, v. 130, p. 104854, 1 set. 2019.

CHEN, Zenglong *et al.* Enantioselective fate of dinotefuran from tomato cultivation to home canning for refining dietary exposure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 405, p. 124254, 5 mar. 2021.

CHENG, Yadong *et al.* Wheat straw pyrochar more efficiently decreased enantioselective uptake of dinotefuran by lettuce and dissemination of antibiotic resistance genes than pyrochar in an agricultural soil. **Science of the Total Environment**, v. 880, 1 jul. 2023.

DA CUNHA, Camila Cristina Rodrigues Ferreira *et al.* Low-temperature partitioning extraction followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of multiclass antibiotics in solid and soluble wastewater fractions. **Journal of Chromatography A**, v. 1650, 2 ago. 2021.

DI, Shanshan *et al.* Low-dose cadmium stress increases the bioaccumulation and toxicity of dinotefuran enantiomers in zebrafish (*Danio rerio*) **Environmental Pollution**, v. 269, p. 116191, 15 jan. 2021.

ENG, Margaret L; STUTCHBURY, Bridget J M; MORRISSEY, Christy A. *A neonicotinoid insecticide reduces fueling and delays migration in songbirds.* . [S.l: s.n.], 2019. Disponível em: <<https://www.science.org>>.

EPA,US; 2004, OCSPP; OPP. *US EPA - ECM for Dinotefuran & Degradates in Soil/Water - MRID 48548801.* . [S.l: s.n.], [S.d.]. 2004.

EPA,US; 2006, OF PESTICIDE PROGRAMS, Office. *US EPA - Pesticides - Fact Sheet for Benthiavalicarb-isopropyl.* . Washington, DC: 2004. , 2006

EPA,US; 2011, CENTER FOR ENVIRONMENTAL ASSESSMENT, National. *Update for Chapter 5 of the Exposure Factors Handbook Soil and Dust Ingestion.* . [S.l: s.n.], 2011.

EPA,US; 2021 SCHEDULE FOR REVIEW OF NEONICOTINOID PESTICIDES <https://www.epa.gov/pollinator-protection/schedule-review-neonicotinoid-pesticides> Acesso: 30 jun. 2023.

European Commission, 2021. Some facts about neonicotinoids. Disponível em :

https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en Acesso: 30 jun. 2023.

European Food Safety Authority (EFSA). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864543005637>>. Acesso: 18 mar. 2022.

FAO Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. FAO STAT Uso de pesticidas. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/?#data/RP/visualize> Acesso: 30 jun. 2023.

FAO; WHO. *Pesticide residues in food 2012 The annual Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues*. [S.l.: s.n.], 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report12/JMPR_2012_Report.pdf>.

FAROUK, Maha *et al.* Simultaneous determination of three neonicotinoid insecticide residues and their metabolite in cucumbers and soil by QuEChERS clean up and liquid chromatography with diode-array detection . 2016. Disponível em: <www.rsc.org/methods>.

FREITAS, Jéssika Faêda De *et al.* Evaluation of imazalil dissipation/migration in postharvest papaya using low-temperature partition extraction and GC–MS analysis. **Food Chemistry**, v. 418, n. March, 2023.

FREITAS, Lucas Victor Pereira De *et al.* Determination of DDT in honey samples by liquid-liquid extraction with low-temperature purification (LLE-LTP) combined to HPLC-DAD. **Analytical Methods**, v. 13, n. 16, p. 1955–1964, 28 abr. 2021.

FREITAS, V. L. P.; **Metodologias para determinação e avaliação da estabilidade do 2,4-D em amostras de água**. 2020. 70 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2020.

FUENTES, Elva *et al.* Neonicotinoids: Still present in farmland birds despite their ban. **Chemosphere**, v. 321, 1 abr. 2023.

HALLMANN, Caspar A. *et al.* Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 341–343, 2014.

HAM, Hun Ju *et al.* Residues and Uptake of Soil-Applied Dinotefuran by Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Celery (*Apium graveolens* L.). **Agriculture (Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 1–20, 2022.

HEALTH CANADA. Pest Management Regulatory Agency Re-evaluation and Special Re-view Work Plan 2022-2027. 2022. Disponível em: <https://pest-control.canada.ca/pesticide-registry/en/disclaimer-page.html> Acessado em 30/06/2023

HEO, Hyo Min *et al.* Development of Simultaneous Analytical Method for Imidazolinone

Herbicides from Livestock Products by UHPLC-MSMS. **Foods**, v. 11, n. 12, 1 jun. 2022.

IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - Painéis de informações de agrotóxicos, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos#Painel-comercializacao>. Acesso: 30 jun. 2023.

KIM, Jiwon *et al.* Concentrations and distributions of neonicotinoids in drinking water treatment plants in South Korea. **Environmental Pollution**, p. 117767, 9 jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026974912101349X>>. Acesso: 15 jul. 2021.

KIM, Kihwan *et al.* Optimization of the QuEChERS method for multi-residue analysis of pharmaceuticals and pesticides in aquaculture products. **Food Chemistry**, v. 399, 15 jan. 2023.

KIM, So Hee *et al.* LC-MS/MS Method Minimizing Matrix Effect for the Analysis of Bifenthrin and Butachlor in Chinese Chives and Its Application for Residual Study. **Foods**, v. 12, n. 8, 2023.

LI, Kaixin *et al.* Resistance to dinotefuran in Bemisia tabaci in China: status and characteristics. **Pest Management Science**, v. 79, n. 2, p. 833–844, 1 fev. 2023.

LI, Xiaoqing *et al.* Effect of neonicotinoid dinotefuran on root exudates of Brassica rapa var. chinensis. **Chemosphere**, v. 266, p. 129020, 1 mar. 2021.

LIU, Jin *et al.* Fe₃O₄ nanoparticles as matrix solid-phase dispersion extraction adsorbents for the analysis of thirty pesticides in vegetables by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1165, p. 122532, 15 fev. 2021.

LIU, Sihong *et al.* Enantioselective Olfactory Effects of the Neonicotinoid Dinotefuran on Honey Bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 43, p. 12105–12116, 10 out. 2019.

LIU, Tong *et al.* Biochemical and genetic toxicity of dinotefuran on earthworms (*Eisenia fetida*). **Chemosphere**, v. 176, p. 156–164, 1 jun. 2017.

LIU, Xue *et al.* Photocatalytic degradation of dinotefuran by layered phosphorus-doped carbon nitride and its mechanism. **JOIN: Chemistry**, v. 414, p. 113287, 1 jun. 2021.

LOPES, Junai C.S.; SILVÉRIO, Flaviano O.; SICUPIRA, Lázaro C. Extraction Method for Determining Florpyrauxifen-benzyl Herbicide in Soil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 2, p. 302–308, 2023.

MESQUITA, Tayane C.R. *et al.* Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low

temperature. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 53, n. 3, p. 199–206, 4 mar. 2018.

MITCHELL, E. A. D. *et al.* A worldwide survey of neonicotinoids in honey. **Science**, v. 358, n. 6359, p. 109–111, 6 out. 2017.

MORAIS, Elisa Helena da Costa *et al.* Determination of thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin in pineapple using SLE-LTP extraction and gas chromatography. **Food Control**, v. 42, p. 9–17, 1 ago. 2014.

MOU, Binglin *et al.* On-site Simultaneous Determination of Neonicotinoids, Carbamates, and Phenyl Pyrazole Insecticides in Vegetables by QuEChERS Extraction on Nitrogen and Sulfur co-doped Carbon Dots and Portable Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1689, 25 jan. 2023.

NETO, F. C. Sinapse: local de encontro dos neurônios. **Correio Popular**. mar. 2022. <https://correio.rac.com.br/sinapse-local-de-encontro-dos-neuronios-1.814873>. Acesso: 25 maio 2023.

NIMAKO, Collins *et al.* Assessment of ameliorative effects of organic dietary interventions on neonicotinoid exposure rates in a Japanese population. **Environment International**, v. 162, p. 107169, 1 abr. 2022.

NIMAKO, Collins *et al.* Human Exposures to Neonicotinoids in Kumasi, Ghana. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 8, p. 2306–2318, 2021.

PEREIRA VIEIRA, Heulla *et al.* Otimização E Validação Da Técnica De Extração Líquido-Líquido Com Partição Em Baixa Temperatura (ELL-PBT) Para Piretróides Em Água E Análise Por Cg. **Quim. Nova.**, São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2007.

PINHO, Gevany Paulino De *et al.* Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. **Food Control**, v. 21, n. 10, p. 1307–1311, 1 out. 2010.

RAHMAN, Md Musfiqur *et al.* Consequences of the matrix effect on recovery of dinotefuran and its metabolites in green tea during tandem mass spectrometry analysis. **Food Chemistry**, v. 168, p. 445–453, 1 fev. 2015.

RAHMAN, Md Musfiqur *et al.* Feasibility and application of an HPLC/UVD to determine dinotefuran and its shorter wavelength metabolites residues in melon with tandem mass confirmation. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 1038–1046, 15 jan.

RAN, Lulu *et al.* The enantioselective toxicity and oxidative stress of dinotefuran on zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 226, p. 112809, 15 dez. 2021.

RODRIGUES, Alessandra A Z *et al.* Pesticide residue removal in classic domestic processing of tomato and its effects on product quality. **Journal of Environmental**

Science and Health, v. 52, p. 850–857, 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=lesb20>>.

RODRIGUES, Alessandra Aparecida Zinato *et al.* The efficacy of washing strategies in the elimination of fungicide residues and the alterations on the quality of bell peppers. **Food Research International**, v. 147, p. 110579, 1 set. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996921004786>>. Acesso em: 15 jul. 2021.

RODRIGUES, Alessandra Aparecida Zinato *et al.* Use of ozone and detergent for removal of pesticides and improving storage quality of tomato. **Food Research International**, v. 125, p. 108626, 1 nov. 2019.

SANDSTROM, Mark W. *et al.* New-generation pesticides are prevalent in California's Central Coast streams. **Science of The Total Environment**, v. 806, p. 150683, 1 fev. 2022.

SANTOS, Silas de Souza *et al.* Simultaneous Determination of Aldrin and Mirex in Honey by Liquid–Liquid Extraction with Low-Temperature Purification combined with GC–MS. **Food Analytical Methods**, p. 2744–2755, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12161-021-02163-5>>.

SICUPIRA, Lázaro *et al.* Simultaneous Determination of 2,3,7,8-TCDD and 2,3,7,8-TCDF in Water Samples by LLE-LTP and HPLC-DAD. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 1284–1292, 23 maio 2019. Disponível em: <http://jbcs.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=5522&nomeArquivo=2018-0530AR.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2021.

SILVA, G.L.O.; *et al.* Optimization and Validation of the Miniaturized Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Purification (SLE-LTP) Method for Determining Fluopyram in Sandy, Clayey and Medium-Textured Soil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 4, p. 582–589, 2023.

SILVEIRA, M D. T.; *et al.* Study of Analytical Techniques to Determine Chlorpyrifos in the Surface Waterways of the Rural Zone of Ouro Branco, Brazil: A Case Study. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 17, p. 227;335, 2016.

STEHLE, Sebastian *et al.* Neonicotinoid insecticides in global agricultural surface waters – Exposure, risks and regulatory challenges. **Science of the Total Environment**, v. 867, 1 abr. 2023.

STEHLE, Sebastian; SCHULZ, Ralf. Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 18, p. 5750–5755, 5 maio 2015.

TAIRA, Kumiko *et al.* Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides were related to renal tubular dysfunction and neuropsychological complaints in Dry-zone of Sri Lanka. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

THOMPSON, D. A. *et al.* Prevalence of neonicotinoid insecticides in paired private-well tap water and human urine samples in a region of intense agriculture overlying vulnerable aquifers in eastern Iowa. **Chemosphere**, v. 319, 1 abr. 2023.

THOMPSON, Darrin A. *et al.* A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: Current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. **Environmental Science: Processes and Impacts**, v. 22, n. 6, p. 1315–1346, 1 jun. 2020.

THOMPSON, Darrin A.; HRUBY, Claire E.; *et al.* Occurrence of neonicotinoids and sulfoxaflor in major aquifer groups in Iowa. **Chemosphere**, v. 281, p. 130856, 1 out. 2021.

THOMPSON, Darrin A.; KOLPIN, Dana W.; *et al.* Prevalence of neonicotinoids and sulfoxaflor in alluvial aquifers in a high corn and soybean producing region of the Midwestern United States. **Science of The Total Environment**, v. 782, p. 146762, 15 ago. 2021.

TOOKER, John F; PEARSONS, Kirsten A. Newer characters, same story: neonicotinoid insecticides disrupt food webs through direct and indirect effects. **Insect Science (Current Opinion 2021)**, 1 ago. 2021, p. 50–56.

TU, Haixin *et al.* Neonicotinoid insecticides and their metabolites: Specimens tested, analytical methods and exposure characteristics in humans. **Journal of Hazardous Materials**, v. 457, n. February, p. 131728, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131728>>.

VIEIRA, Luís H.S. *et al.* Optimization and validation of LLE-LTP to determine flupyrauxifen-benzyl herbicide in water samples by HPLC-DAD. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 57, n. 9, p. 697–709, 2022.

WANG, Jia *et al.* Photolysis mechanism of eleven insecticides under simulated sunlight irradiation: Kinetics, pathway and QSAR. **Chemosphere**, v. 334, n. May, p. 138968, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138968>>.

WANG, Yinghuan *et al.* The metabolism distribution and effect of dinotefuran in Chinese lizards (*Eremias argus*). **Chemosphere**, v. 211, p. 591–599, 1 nov. 2018.

WATANABE, Eiki. Review of sample preparation methods for chromatographic analysis of neonicotinoids in agricultural and environmental matrices: From classical to state-of-the-art methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1643, p. 462042, 26 abr. 2021.

WATANABE, Eiki; BABA, Koji; MIYAKE, Shiro. Analytical evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for neonicotinoid dinotefuran for potential application to quick and simple screening method in rice samples. **Talanta**, v. 84, n. 4, p. 1107–1111, 30 maio 2011.

WATANABE, Eiki; IWAFUNE, Takashi; BABA, Koji; KOBARA, Yuso. Organic Solvent-Saving Sample Preparation for Systematic Residue Analysis of Neonicotinoid Insecticides in Agricultural Products Using Liquid Chromatography–Diode Array Detection. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 245–254, 1 jan. 2016.

WATSON, Gerald B. *et al.* Sulfoxaflor – A sulfoximine insecticide: Review and analysis of mode of action, resistance and cross-resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, p. 104924, 15 jul. 2021.

WOLFRAM, Jakob *et al.* Pesticide occurrence in protected surface waters in nature conservation areas of Germany. **Science of the Total Environment**, v. 858, 1 fev. 2023.

WU, Changcai *et al.* Residue status and risk assessment of neonicotinoids under real field conditions: Based on a two-year survey of cotton fields throughout China. **Environmental Technology & Innovation**, v. 28, p. 102689, 1 nov. 2022.

XIE, Yanhua; HOU, Xiaomin. Molecular Assessment of the Toxic Mechanism of the Latest Neonicotinoid Dinotefuran with Glutathione Peroxidase 6 from *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 638–645, 5 jan. 2021.

XIONG, Jingjing *et al.* Tracing neonicotinoid insecticides and their transformation products from paddy field to receiving waters using polar organic chemical integrative samplers. **Journal of Hazardous Materials**, v. 413, p. 125421, 5 jul. 2021.

XU, Shiliang *et al.* Biochemical toxicity and transcriptome aberration induced by dinotefuran in *Bombyx mori*. **Environmental Pollution**, v. 307, p. 119562, 2022a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026974912200776X>>.

YANG, Yue *et al.* Dual-emission ratiometric fluorescent detection of dinotefuran based on sulfur-doped carbon quantum dots and copper nanocluster hybrid. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 321, 15 out. 2020.

YIN, Jijie *et al.* The fate, acute, and subchronic risks of dinotefuran in the water-sediment system: A systematic analysis at the enantiomer level. **Journal of Hazardous Materials**, v. 443, 5 fev. 2023.

YU, Bo *et al.* Effects on soil microbial community after exposure to neonicotinoid insecticides thiamethoxam and dinotefuran. **Science of the Total Environment**, v. 725, 2020.

YU, Fengjie *et al.* High-throughput subzero-temperature assisted homogenous liquid-liquid extraction for the fast sample preparation of multiple phenolic compounds in propolis. **Journal of Chromatography B**, v. 1179, p. 122823, 1 ago. 2021.

YU, Zhuyun *et al.* Dinotefuran alters Collembola-fungi-bacteria interactions that control mineralization of maize and soil organic carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v.

418, p. 126391, 15 set. 2021.

YU, Zimin *et al.* The human and ecological risks of neonicotinoid insecticides in soils of an agricultural zone within the Pearl River Delta, South China. **Environmental Pollution**, v. 284, 1 set. 2021.

ZHANG, Chao *et al.* Contamination of neonicotinoid insecticides in soil-water-sediment systems of the urban and rural areas in a rapidly developing region: Guangzhou, South China. **Environment International**, v. 139, p. 105719, 1 jun. 2020.

ZHANG, Haiyun *et al.* Differences in kinetic metabolomics in *Eisenia fetida* under single and dual exposure of imidacloprid and dinotefuran at environmentally relevant concentrations. **Journal of Hazardous Materials**, v. 417, p. 126001, 5 set. 2021.

ZHANG, Quan *et al.* Toxicological Effect and Molecular Mechanism of the Chiral Neonicotinoid Dinotefuran in Honeybees. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 2, p. 1104–1112, 30 dez. 2022.

ZHANG, Yiping *et al.* Simultaneous determination of neonicotinoids and fipronils in tea using a modified QuEChERS method and liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 329, p. 127159, 1 nov. 2020.

ZHANG, Yue *et al.* Insights into the degradation and toxicity difference mechanism of neonicotinoid pesticides in honeybees by mass spectrometry imaging. **Science of the Total Environment**, v. 774, p. 145170, 20 jun. 2021.

ZHOU, Wanlong; YANG, Shuang; WANG, Perry G. Matrix effects and application of matrix effect factor. **Bioanalysis**, v. 9, n. 23, p. 1839–1844, 2017.

ZHOU, Ying *et al.* Development of a fast and sensitive method for measuring multiple neonicotinoid insecticide residues in soil and the application in parks and residential areas. **Analytica Chimica Acta**, v. 1016, p. 19–28, 3 ago. 2018.

4 ARTIGOS

4.1 Método de extração e quantificação de dinotefuran em amostras de água

Resumo: O dinotefuran é um composto pertencente à terceira geração de inseticidas nicotinoides, que tem se mostrado eficaz no combate a pragas resistentes a inseticidas convencionais, como organofosforados, carbamatos e piretróides. Essa molécula apresenta elevada solubilidade em água ($39,830 \text{ g L}^{-1}$ a 25 °C) em relação a outros pesticidas, o que facilita seu arraste e lixiviação para as camadas inferiores do solo. Portanto, o presente estudo teve como objetivo otimizar e validar a extração líquido-líquido com purificação a baixa temperatura (ELL-PBT) para determinar resíduos de dinotefuran em água por cromatografia líquida de alta eficiência com detector por arranjo de diodos (CLAE-DAD). Os resultados revelaram que as porcentagens de recuperação do analito variaram de 85,44 a 89,72% com desvio padrão relativo inferior a 5,8%. A ELL-PBT foi seletiva, precisa, exata, linear na faixa de 10,0 a $210 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e os limites de detecção e quantificação foram de 5,00 e $10,00 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O efeito de matriz foi inferior a 14%. O estudo de estabilidade deste composto em água revelou significativa persistência desta molécula em água na ausência de luz (>130 dias), e meia-vida de sete dias em água exposta a luz solar. Não foi possível a detecção de dinotefuran em amostras reais de água coletadas na região sul do Estado de Minas Gerais. A ELL-PBT acoplada à análise por CLAE-DAD apresentou-se como um método simples, de fácil execução e eficiente para extração e análise do dinotefuran em amostras de água.

Palavras-chave: ELL-PBT, CLAE-DAD, Metodologia de extração, inseticidas neonicotinoide.

Extraction method for determining dinotefuran insecticide in water samples

Abstract: The dinotefuran is a compound belonging to the third generation of nicotinoid insecticides, and has been effective in combating pests which are resistant to conventional insecticides such as organophosphates, carbamates and pyrethroids. This molecule presents high-water solubility ($39,830 \text{ mg L}^{-1}$ at 25 °C) compared to other pesticides, which facilitates its drag and leaching to lower soil layers. Therefore,

the present study aimed to optimize and validate liquid–liquid extraction with low temperature purification (LLE–LTP) to determine dinotefuran residues in water by high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC–DAD). The results revealed that the analyte recovery ranged from 85.44 to 89.72% with a relative standard deviation less than 5.8. LLE–LTP was selective, precise, accurate, and linear in the range from 10.0 to 210 $\mu\text{g L}^{-1}$, and presented limits of detection and quantification of 5.00 and 10.00 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The matrix effect was < 14%. The stability study of dinotefuran in water revealed significant stability of this molecule in water in the absence of light (>130 days), and a half-life of 7 days in water with sunlight. LLE–LTP coupled to HPLC–DAD was a simple, easy and efficient method for extracting and analyzing dinotefuran in water samples.

Keywords: LLE–LTP, HPLC–DAD, extraction methodology, neonicotinoid insecticide.

4.1.1 Introdução

O uso de inseticidas tornou-se indispensável na agricultura moderna devido à necessidade de alta produção de recursos agrícolas para atender uma população em rápido crescimento. Atualmente, o Brasil é o 3º maior consumidor de agrotóxicos do mundo, atrás dos Estados Unidos e da China (MORAES, 2019). No mercado nacional de agrotóxicos, em 2020, foram comercializadas 80 mil toneladas de inseticidas, correspondendo a 12% do total de agrotóxicos comercializados no país.

Nesse cenário, podemos destacar o dinotefuran, 1-metil-2-nitro-3-(tetrahydro-3-furilmetil) guanidina, um composto pertencente à terceira geração de inseticidas nicotínicos. Foi lançado em 2002 pela Mitsui Chemicals Agro e desde então tem sido altamente utilizado para muitas culturas em muitos países (CHEN, XIAOXIN *et al.*, 2018; LIU, TONG *et al.*, 2017; WATANABE, 2021; XU *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2020; YU, BO *et al.*, 2020; ZHANG, QUAN *et al.*, 2022).

O dinotefuran tem sido eficaz no combate a pragas resistentes a inseticidas convencionais, como organofosforados, carbamatos e piretroides (WATANABE; BABA; MIYAKE, 2011). Atua ligando-se aos receptores pós-sinápticos (nAChR) do sistema nervoso central dos insetos, afetando a ligação da acetilcolina nicotínica (LIU,

TONG *et al.*, 2017; WATANABE, 2021; XU *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2020; YU, BO *et al.*, 2020; ZHANG, QUAN *et al.*, 2022). Essas características o tornaram autorizado para uso agrícola no Brasil em 2019, podendo ser aplicado em diversas culturas como algodão, arroz, cereais diversos, batata, café, cana-de-açúcar, frutas cítricas, feijão, grão-de-bico, milho, soja, sorgo, tomate, trigo, entre outros com limite máximo de resíduo (LMR) variando de 10 a 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2021).

Essa molécula apresenta alta absorção pelas plantas, alta eficiência inseticida e baixa toxicidade ao meio ambiente e ao homem (HALLMANN *et al.*, 2014; LIU, TONG *et al.*, 2017). Possui relativa estabilidade no solo, com meia-vida de 80 a 100 dias (MORRISSEY *et al.*, 2015; RAN *et al.*, 2021). Contudo, sua elevada solubilidade em água (39 a 89,7 g L^{-1}) (LIU, X. *et al.*, 2021; RAMOS-PERALONSO, 2014), facilita seu arraste e lixiviação para camadas mais profundas do solo e pode levar à contaminação de águas superficiais (STEHLE; SCHULZ, 2015) e subterrâneas (BERENS; CAPEL; ARNOLD, 2021; THOMPSON; KOLPIN; *et al.*, 2021).

Até o momento, os métodos QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* ou rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro), e a extração em fase sólida tem sido usados para extrair dinotefuran de amostras de água (CHEN, XIAOXIN *et al.*, 2018; CHEN, ZENGLONG *et al.*, 2021; FAROUK *et al.*, 2016; LI, XIAOQING *et al.*, 2021; WATANABE *et al.*, 2016). Esses métodos têm apresentado altas taxas de recuperação, porém, até o momento, a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura (ELL-PBT) não foi utilizada para esse inseticida.

O ELL-PBT é um método de preparo de amostras que consiste na extração de um analito de uma matriz aquosa por meio da adição de um solvente orgânico e redução da temperatura (SILVEIRA *et al.*, 2016). A extração ocorre porque as moléculas do analito são transferidas para o solvente orgânico, enquanto a matriz aquosa solidifica (MESQUITA *et al.*, 2018). De maneira geral, esse método tem se destacado por extrair os analitos com menor teor de interferentes, pois a maior parte dos contaminantes congela junto com a fase aquosa (MORAIS *et al.*, 2014), eliminando assim a etapa de clean up.

O objetivo deste estudo foi otimizar e validar a extração ELL-PBT seguida da análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) para a determinação de dinotefuran em água.

4.1.2 Material e métodos

4.1.2.1 Reagentes e soluções

O padrão de dinotefuran, 99,9% pureza (m/m), foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). O solvente de grau HPLC, acetonitrila (ACN) foi adquirido da J.T. Baker (Phillipsburg, EUA). Os solventes P.A, incluindo acetato de etila (AC), acetato de sódio e ácido acético glacial foram adquiridos da Dinâmica (Diadema, Brasil), acetonitrila (ACN) da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil), ácido fórmico (FA) da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA) e ácido clorídrico 37% da Anidrol (Diadema, Brasil) e cloreto de sódio da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Todos os solventes foram filtrados em membrana de PTFE de 0,22 µm de poro que foi adquirida da Filtrilo (Colombo, Brasil).

Foram preparadas soluções estoque padrão na concentração de 20 mg L⁻¹ e soluções de trabalho na concentração de 5 mg L⁻¹, ambas em acetonitrila. Todas as soluções foram armazenadas em frasco âmbar a -20° C.

4.1.2.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados neste estudo foram: balança analítica da Shimadzu (São Paulo, Brasil), pHmetro digital Quimis (São Paulo, Brasil), bomba de vácuo da Primatec (Itu, Brasil), vortex da Scilogex (Rocky Hill, EUA), espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) Cary 60 da Agilent Technologies (St. Clair, EUA). As micropipetas utilizadas foram Labmate Pro 20 – 200 ± 0,1 µL, 100 – 1000 ± 1 µL e 1000 – 5000 ± 5 µL da HTL (Warszawa, Polónia).

4.1.2.3 Análises cromatográficas

Para determinar o comprimento de onda de máxima absorção, soluções padrão de dinotefuran a 5 mg L^{-1} foram preparadas e submetidas ao processo de varredura de 190 a 500 nm em espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, St. Clair, EUA) utilizando acetonitrila como solvente.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD, modelo 1290, Agilent Technologies, St. Clair, EUA). O volume de injeção foi de $10 \mu\text{L}$, e as condições cromatográficas otimizadas podem ser vistas nas (TABELAS 4.1.1 e 4.1.2).

Tabela 4.1.1 - Otimização das condições cromatográficas para o dinotefuran.

Parâmetros	
Colunas cromatográficas	Kinetex (C18) (100A, 150 mm x 4.60 mm, 5 μm , Phenomenex) Poroshell 120 EC-C18 (50 mm x 4.60 mm, 2.7 μm , Agilent) ZORBAX Eclipse C18 column (50 mm x 2.1, 1.8 μm , Agilent)
Fluxo da fase móvel	0,3 mL min^{-1}
	0,5 mL min^{-1}
	1,0 mL min^{-1}
Temperatura da coluna	20 °C
	30 °C
	40 °C
Composição da fase móvel no modo isocrático	ACN:H ₂ O 100:0; 90:10; 80:20; 70:30; 60:40 e 50:50 (v/v)

ACN: acetonitrila.

Tabela 4.1.2 – Condições cromatográficas otimizadas para o dinotefuran, em modo de eluição gradiente.

	Tempo minutos	ACN (A*) (v:v)	H ₂ O (B) (v:v)
Gradiente 1	0,0	50,00	50,00
	7,00	100,00	0,00
	8,50	100,00	0,00
	8,60	50,00	50,00
	11,00	50,00	50,00
Gradiente 2	0,0	10,00	90,00
	7,00	100,00	0,00
	8,50	100,00	0,00
	8,60	10,00	90,00
	11,00	10,00	90,00

*Condições cromatográficas: fluxo 0,3 mL min⁻¹; T = 20 °C para o gradiente 1 e 30° C para o gradiente 2; volume injeção 10 µL, coluna kinetex.

4.1.2.4 Otimização da ELL-PBT

Para otimizar o método, 4 mL de água Mili-Q, livre de inseticida foram adicionados a um frasco de vidro de 22 mL e, em seguida, fortificados com 73 µL da solução de trabalho contendo dinotefuran na concentração de 5 mg L⁻¹ e adicionados 8 mL de solução extratora. Essa mistura foi agitada em vórtex por 30 segundos e colocada no freezer a -20 °C por 1 ou 2 horas, até o congelamento completo da fase aquosa. Em seguida, 5 mL da fase orgânica líquida foram completamente evaporados e ressuspensos em 400 µL da fase móvel usada para a análise cromatográfica. Por fim, as amostras foram filtradas em filtro de náilon de 0,22 µm e armazenadas em frasco de 2 mL a -20 °C, até análise por CLAE-DAD.

A ELL-PBT foi otimizada avaliando nove composições de fase de extração conforme a Tabela 4.1.3. As médias das porcentagens de extração foram comparadas pela análise de variância e teste de tukey ($P < 0,05$).

Tabela 4.1.3 - Composição das fases extratoras otimizadas no método

Ensaio	Solução de extração	Sal	Acidificação	Tampão	Tempo (h)
1	8 mL ACN	-	-	-	1
2	6,5mL de ACN + 1,5mL EtOAc	-	-	-	1
3	8 mL ACN	-	0,1% AF (v/v)	-	1
4	8 mL ACN	-	0,2% AF (v/v)	-	1
5	8 mL ACN	-	0,1% HCl (v/v)	-	1
6	8 mL ACN	0,2 g NaCl	-	-	2
7	8 mL ACN	0,2 g NaCl	0,1% AF (v/v)	-	2
8	8 mL ACN	-	-	Tampão Ac.	2
9	8 mL ACN	-	0,1% AF (v/v)	-	2

ACN = Acetonitrila; EtOAc = Acetato de etila; AF = Solução de ácido fórmico 0,1 % (v/v); HCl = Solução de ácido clorídrico 0,1 % (v/v), Solução tampão com 20 mL de ácido acético e 150 g de acetato de sódio).

4.1.2.5 Validação

A validação da metodologia foi realizada por meio da seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão, faixa de linearidade e efeito de matriz, conforme recomendado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade (INMETRO, 2016) e protocolo SANTE (PIHLSTROM *et al.*, 2018). Água mili-Q livre do inseticida foi usada como branco em todas as etapas da validação.

A seletividade foi investigada comparando-se os cromatogramas dos extratos da matriz aquosa fortificada e do branco (extrato da matriz livre de dinotefuran), em seis repetições independentes.

O LD foi determinado comparando-se a menor concentração de fortificação da matriz que forneceu um cromatograma com área de pico três vezes maior que o ruído no mesmo tempo de retenção do dinotefuran. O LQ foi determinado comparando-se a menor concentração de fortificação da matriz que forneceu um cromatograma com área de pico dez vezes maior que o ruído no mesmo tempo de retenção do dinotefuran. Sendo o ruído avaliado a partir da análise da matriz não fortificada ou branco.

A exatidão foi determinada através de experimentos de recuperação do analito da matriz fortificada usando três níveis de concentração de 10,0, 90,0 e 170,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, com três repetições cada, sendo aceitos valores de recuperação entre 70 e 120%. A precisão foi determinada através de experimentos de recuperação do analito na matriz fortificada na concentração de 90,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, com sete repetições e foi avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR) das repetições, sendo valores DPR inferiores a 20% considerados aceitos.

A linearidade foi avaliada por meio de uma curva analítica da matriz fortificada em seis níveis de concentração 10, 50, 90, 130, 170 e 210 $\mu\text{g L}^{-1}$, com três repetições independentes para cada nível. O método dos mínimos quadrados ordinários foi utilizado para estimar os parâmetros de regressão linear. O teste de Jackknife foi empregado para detectar e excluir *outliers* em até 22,2% dos dados originais. A regressão foi avaliada quanto a normalidade (teste de Ryan e Joiner), independência (teste de Durbin e Watson) e homocedasticidade (teste de Brown e Forsythe) dos resíduos. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada às curvas analíticas para testar os desvios de linearidade e significância da regressão.

O efeito matriz (EM) foi avaliado comparando-se dois coeficientes angulares de curvas analíticas, sendo uma preparada no solvente (acetonitrila) e outro no extrato de matriz aquosa (modo de calibração *matrix-matched*), ambos contendo o dinotefuran nas concentrações de 10, 50, 90, 130, 170 e 210 $\mu\text{g L}^{-1}$, em triplicata. As duas curvas analíticas foram avaliadas de acordo com o procedimento de linearidade,

conforme descrito anteriormente. O efeito de matriz foi determinado pela (EQUAÇÃO 1).

$$EM(\%) = 100 * \left(\frac{\alpha_{matrix}}{\alpha_{solvent}} - 1 \right) \quad (1)$$

Onde: EM = efeito de matriz; α_{matrix} = coeficiente angular da curva analítica no extrato da matriz;

$\alpha_{solvent}$ = coeficiente angular da curva analítica no solvente (ACN).

Para a interpretação do resultado, considerou-se que valores próximos a zero indicam ausência de efeito de matriz. Se o valor for maior que zero, significa aumento da área do analito, promovido pela matriz. Se o resultado for menor que zero, indica redução da resposta do analito, causada por componentes da matriz (INMETRO, 2016).

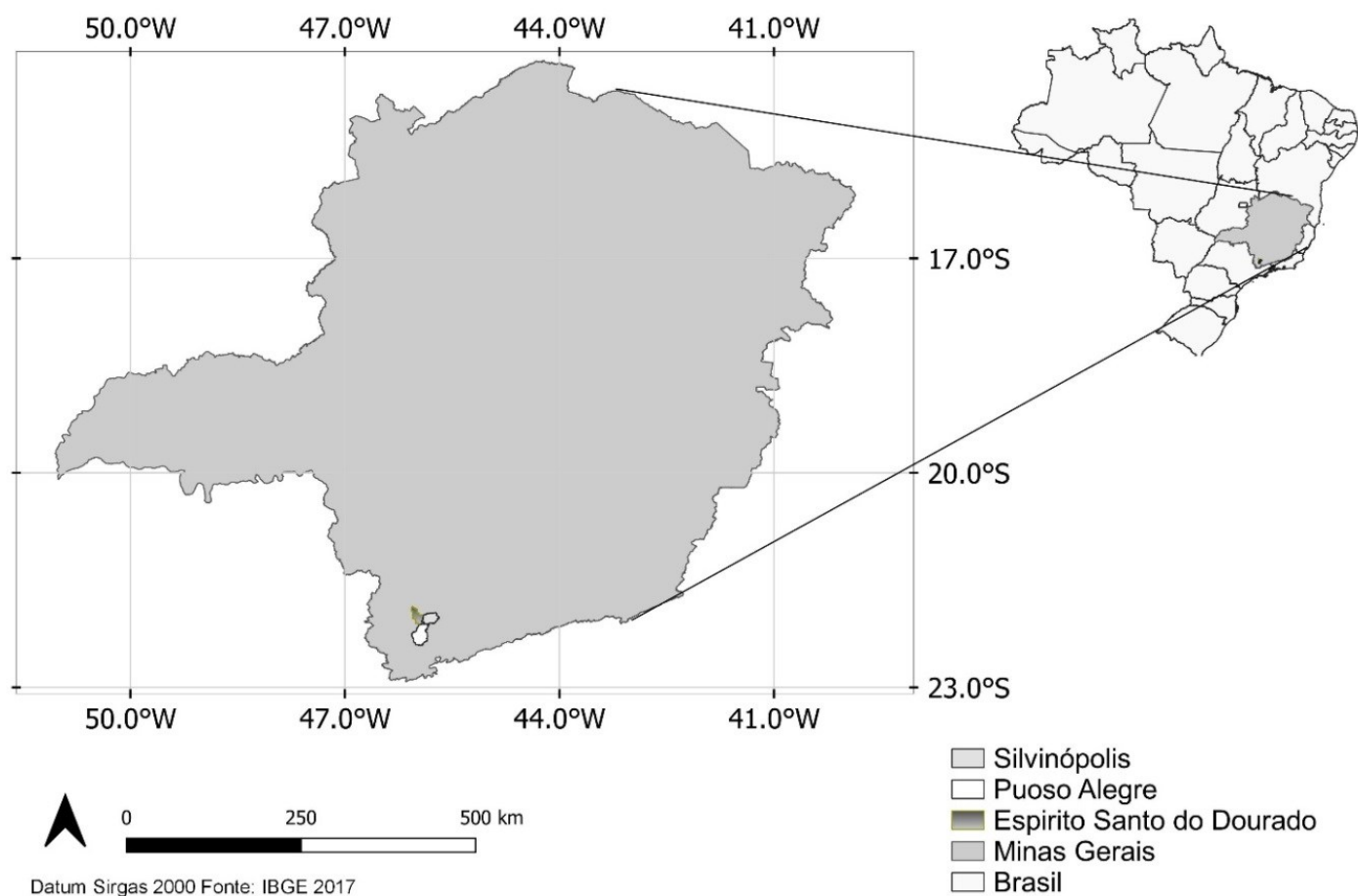
4.1.2.6 Estudo de estabilidade

Um experimento foi conduzido para avaliar a estabilidade do dinotefuran em água, simulando condições ambientais. O estudo foi realizado no período de abril a junho de 2022. Para tanto, seis frascos de vidro de 100 mL foram preenchidos com 60 mL de água subterrânea (pH = 7,20) e fortificada para obtenção de uma solução com concentração de 210 $\mu\text{g L}^{-1}$ do inseticida. Três garrafas foram expostas à luz em local que recebesse irradiação solar direta durante a metade do dia e três garrafas foram armazenadas em local sombreado e protegidas da luz com papel alumínio. As extrações e análises cromatográficas foram realizadas a cada dez dias. As garrafas foram pesadas antes e após a extração, a fim de verificar e repor a possível perda de água por evaporação.

4.1.2.7 Análises de amostras reais

Foram coletadas 12 amostras de água, sendo 4 pertencentes a poços artesianos e 8 amostras de águas superficiais na região sul de Minas Gerais (cidades Espírito Santo do Dourado, Pouso Alegre e Silvinópolis) conforme mostra a Figura 4.1.1. Foram coletados 300 mL de água, acondicionados em frascos e armazenados em temperatura ambiente até a análise.

Figura 4.1.1 - Posição geográfica da região de coleta das amostras de água

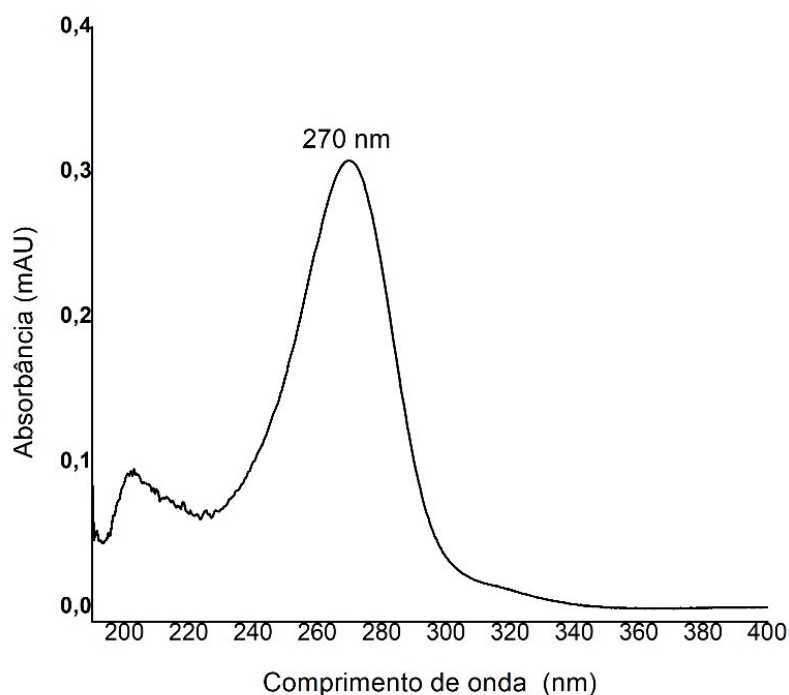


4.1.3 Resultados e discussão

4.1.3.1 Otimização das condições cromatográficas

O primeiro parâmetro avaliado na otimização das condições cromatográficas foi o comprimento de onda para determinação do dinotefuran. O espectro de absorção na região do ultravioleta do dinotefuran pode ser visto na (FIGURA 4.1. 2).

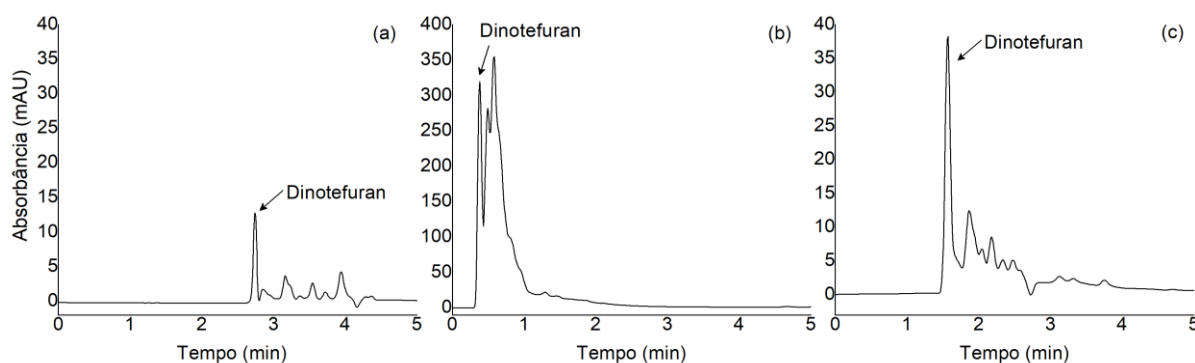
Figura 4.1.2 - Espectro de absorção na região ultravioleta da solução padrão de dinotefuran em acetonitrila:água com ácido fórmico 0,1% 50:50 na concentração de 5,0 mg L⁻¹.



O espectro obtido revelou maior absorbância no comprimento de onda de 270 nm. Portanto, 270 nm foi definido como um comprimento de onda adequado para a determinação do dinotefuran em amostras de água. Esse resultado está de acordo com estudos anteriores que usaram esse comprimento de onda em CLAE-DAD (FAROUK *et al.*, 2016; LI, XIAOQING *et al.*, 2021; WATANABE *et al.*, 2016).

Após a determinação do comprimento de onda, três colunas cromatográficas foram avaliadas para determinação desse inseticida em amostras de água, conforme pode ser observado na Tabela 1. Os cromatogramas obtidos em cada coluna são apresentados na (FIGURA 4.1.3).

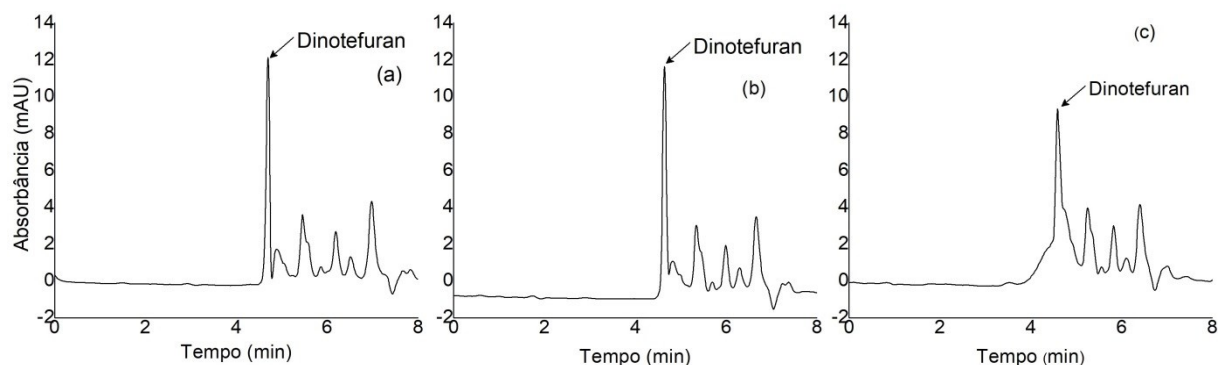
Figura 4.1.3 - Cromatogramas do extrato de matriz fortificado na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: fase móvel ACN, fluxo da fase móvel $0,5 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e (a) Coluna Kinetex, (b) Coluna Zorbax e (c) Coluna Poroshell.



Os resultados mostraram que o sinal cromatográfico do dinotefuran em 270 nm não foi adequadamente separado, e sinais interferentes foram observados próximos ao tempo de retenção do dinotefuran em todos os três cromatogramas. No entanto, o cromatograma obtido com a coluna Kinetex mostrou o pico atribuído ao dinotefuran com sinais interferentes mais separados, pois esta coluna é mais longa (15 cm) em relação às outras duas colunas (5 cm). O cromatograma obtido na análise pela coluna Zorbax mostrou o pico do dinotefuran coeluído com os interferentes. O cromatograma obtido usando a coluna Poroshell mostrou muito semelhante à coluna Kinetex, mas os picos de interferência estavam mais próximos do pico do dinotefuran. Portanto, a coluna Kinetex foi selecionada para as próximas etapas deste estudo.

Em seguida, foi avaliado o fluxo da fase móvel em três níveis, conforme pode ser observado na Tabela 4.1.1. Os cromatogramas obtidos são mostrados na (FIGURA 4.1.4).

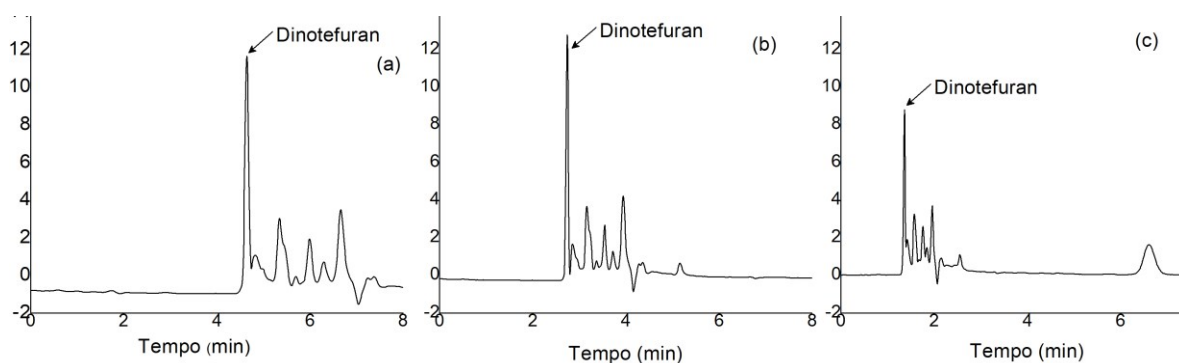
Figura 4.1.4 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificado na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ Condições cromatográficas: coluna kinetex, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, fase móvel ACN, $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\lambda = 270 \text{ nm}$ e fluxo da fase móvel (a) $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, (b) $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ e (c) $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.



Os resultados obtidos revelaram que a redução do fluxo para $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ da fase móvel melhorou a separação cromatográfica e resultou em aumento da área cromatográfica do pico atribuído ao dinotefuran. Portanto, essa taxa de fluxo foi usada para a próxima etapa de otimização.

O terceiro parâmetro avaliado foi a temperatura da coluna cromatográfica. Este parâmetro também foi avaliado em três níveis, conforme pode ser observado na Tabela 1. O cromatograma obtido em cada temperatura é mostrado na (FIGURA 4.1.5).

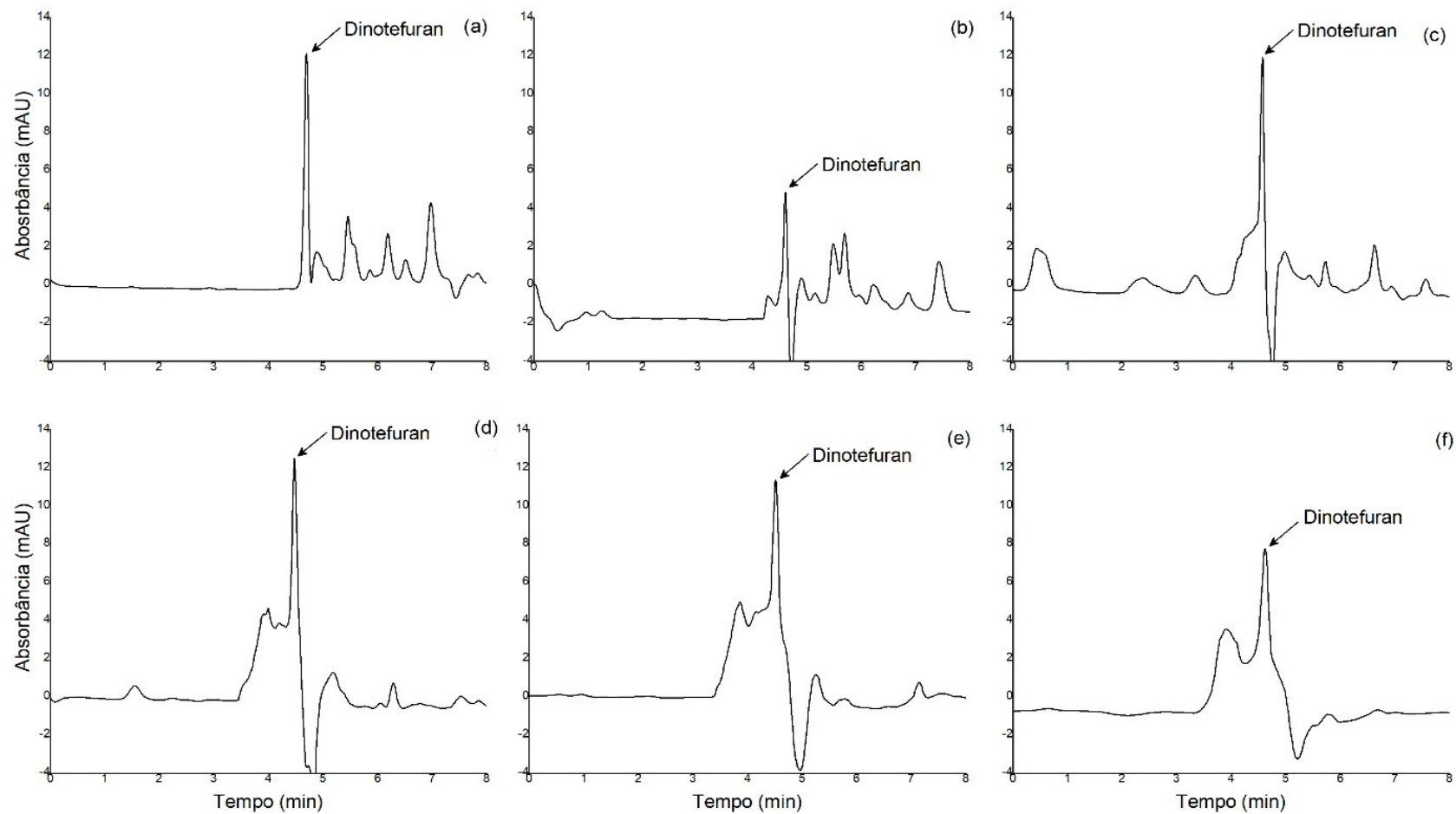
Figura 4.1.5 - Cromatogramas do extrato de matriz fortificado na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: coluna kinetex, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, fase móvel ACN, fluxo da fase móvel $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$ e temperatura (a) $20 \text{ }^\circ\text{C}$, (b) $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e (c) $40 \text{ }^\circ\text{C}$.



Os cromatogramas mostraram que a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, o pico atribuído ao dinotefuran foi menor do que no cromatograma obtido a $20 \text{ }^\circ\text{C}$, e na temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$, observou-se uma coeluição do pico do dinotefuran com um pico interferente. Portanto, a temperatura de $20 \text{ }^\circ\text{C}$ foi selecionada para este estudo.

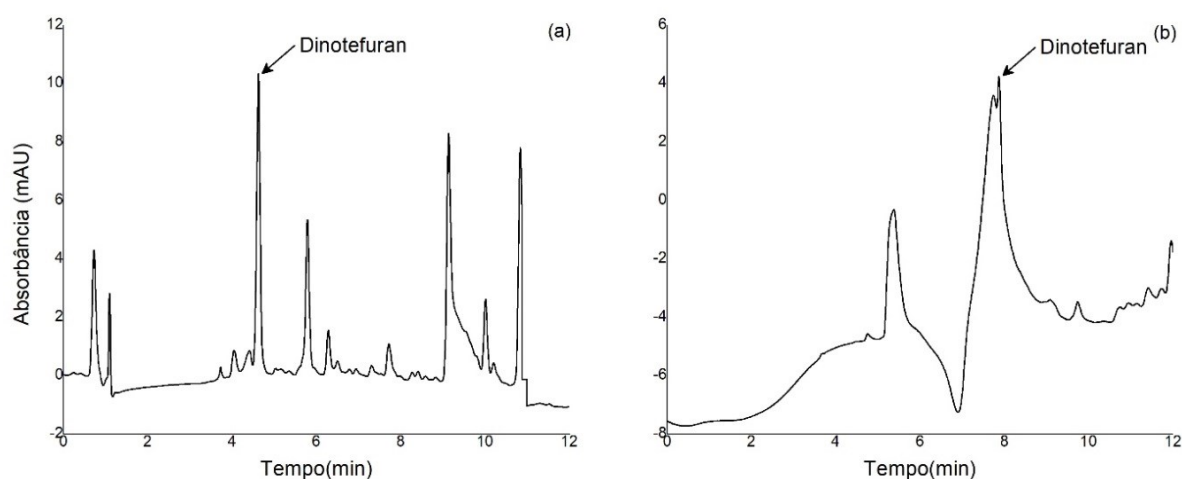
A seguir, foi avaliado as composições de seis fases móveis, conforme pode ser visto na Tabela 4.1.1. Os cromatogramas obtidos em cada fase móvel podem ser vistos na (FIGURA 4.1.6).

Figura 4.1.6 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificado na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: coluna kinetex, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, fluxo da fase móvel $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$ e composição da fase móvel ACN:H₂O (a) 100:0, (b) 90:10, (c) 80:20, (d) 70:30, (e) 60:40 e (f) 50:50.



Os resultados revelaram que as fases móveis avaliadas não foram capazes de separar os picos. Portanto, foram avaliados dois tipos de modo de eluição em gradiente, conforme pode ser observado na Tabela 4.1.2. O cromatograma obtido em cada gradiente pode ser observado na (FIGURA 4.1.7).

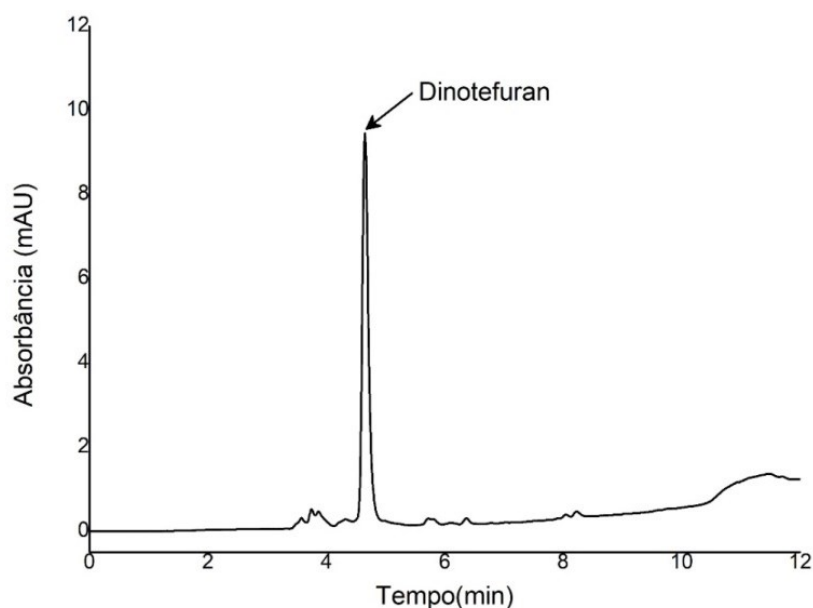
Figura 4.1. 7 - Cromatogramas do extrato da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: coluna Kinetex, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, vazão = $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, fase móvel ACN:H₂O, T = $20 \text{ }^\circ\text{C}$ para gradiente 1 (a) e $30 \text{ }^\circ\text{C}$ para gradiente 2 (b) conforme Tabela 4.1. 2.



Os resultados obtidos revelaram um avanço na separação de sinais cromatográficos com o uso de gradientes. Trabalhos anteriores realizados com dinotefuran fizeram uso de ácido fórmico na fase móvel (NIMAKO *et al.*, 2022; WU *et al.*, 2022; XIONG *et al.*, 2021; ZHANG, HAIYUN *et al.*, 2021).

Portanto, a fase móvel foi acidificada com ácido fórmico na concentração de 0,1% (v/v). O cromatograma obtido é mostrado na (FIGURA 4.1.8).

Figura 4.1.8 - Cromatograma do extrato da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$. Condições cromatográficas: Coluna Kinetex, volume de injeção = $10 \mu\text{L}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão = $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, fase móvel ACN:H₂O acidificado com ácido fórmico, gradiente 1 eluição conforme Tabela 4.1. 2



A adição de ácido fórmico na fase móvel no modo gradiente 1 promoveu cromatogramas com picos mais intensos e com maior área cromatográfica. Portanto, esta condição cromatográfica foi utilizada para determinação de dinotefuran em amostras de água. Estudos anteriores também usaram ácido fórmico na fase móvel para melhorar o sinal do pico cromatográfico do dinotefuran por CLAE (NIMAKO *et al.*, 2022; WANG, YINGHUAN *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2022; XIONG *et al.*, 2021; ZHANG, HAIYUN *et al.*, 2021; ZHANG, YIPING *et al.*, 2020).

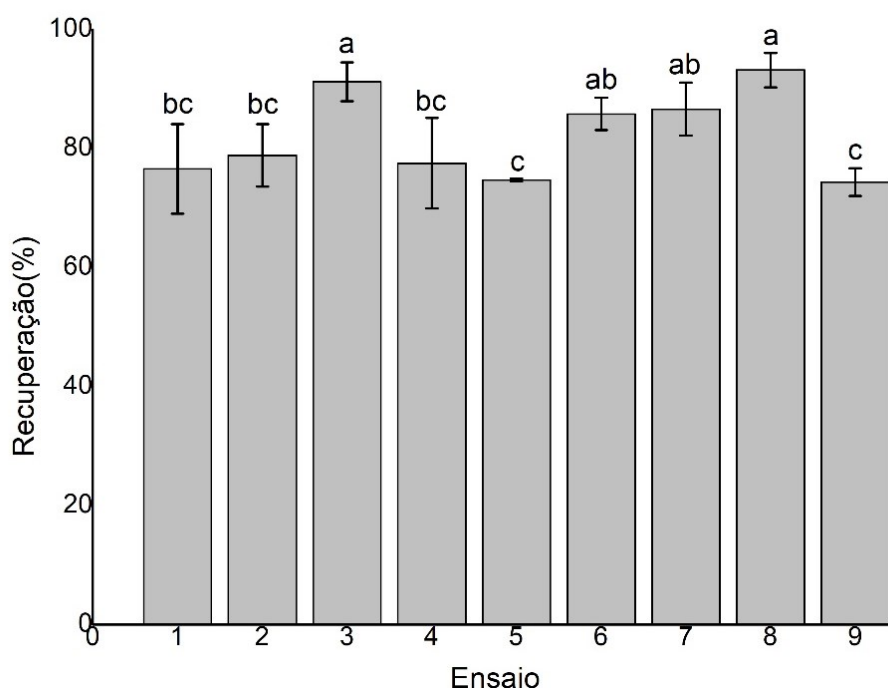
Após encontrar as melhores condições cromatográficas, foi possível obter tempos de retenção (T_r) de 4,62 min e um sinal cromatográfico estreito e nítido.

4.1.3.2 Otimização da ELL- PBT

ELL-PBT é um método de preparação de amostra que promove a extração de analitos em amostras aquosas adicionando um solvente orgânico e congelando o

sistema. Geralmente, o analito alvo é transferido para o solvente quando a fase aquosa solidifica. Os principais parâmetros que influenciaram o desempenho do ELL-LBT são a composição da fase de extração, a força iônica e o tempo de congelamento. Esses parâmetros foram estudados em nove condições de extração. A porcentagem da taxa de recuperação do analito em cada teste é mostrada na (FIGURA 4.1.9).

Figura 4.1.9 - Taxa de recuperação de dinotefuran usando diferentes fases extratoras em ELL-PBT. Letras diferentes significam médias de recuperação diferentes pelo teste de tukey ao nível de significância de 5%. Ensaios descritos na bela Tabela 4.1.3



O dinotefuran teve recuperação estatisticamente superior quando se utilizaram fases extratoras com aumento da força iônica, (presença de sal, ácido ou tampão), ensaios (3, 6, 7 e 8). A presença de sais geralmente melhora a extração em fases aquosas, uma vez que a afinidade da água pelos íons dos sais é geralmente maior que a afinidade pelo composto orgânico que se deseja extrair. Assim, nos ensaios acima a maior força iônica pode ter contribuído para taxa de recuperação do dinotefuran.

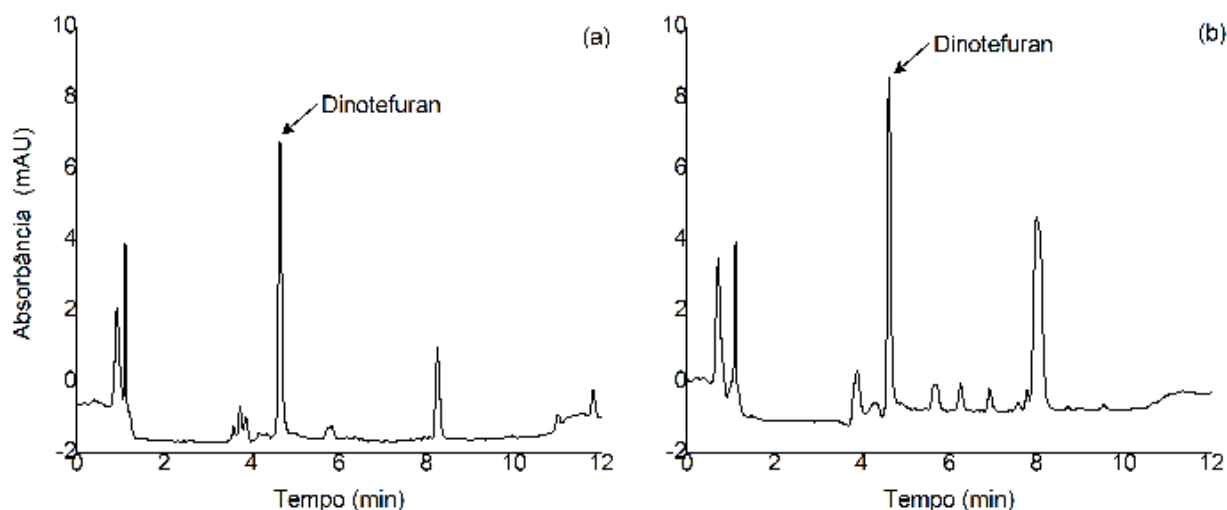
A utilização de fases extratoras com misturas de solventes orgânicos é uma

prática comum na ELL-PBT, e pode melhorar a extração do analito (DE PINHO *et al.*, 2010; MORAIS *et al.*, 2014). Nesse estudo, a adição de 1,5 mL de Acetato de Etila à 6,5 mL de Acetonitrila na fase extratora, (ensaio 2), não melhorou a porcentagem de recuperação do analito. Provavelmente devido ao caráter polar do dinotefuran e a sua elevada solubilidade em Acetonitrila.

A fase extratora com acetonitrila acrescida de ácido clorídrico 0,1%, ensaio 5, apresentou a menor taxa de recuperação (FIGURA 4.1.9). A adição de ácido clorídrico na fase extratora, devido à elevada força ácida, adiciona hidrogênios na porção nitrogenada da molécula de dinotefuran, tornando-a ainda mais polar e mais solúvel em água o que pode influenciar negativamente na sua extração.

Os ensaios 3 e 8 apresentaram maiores taxas de recuperação 91,2 e 93,2 respectivamente, mas o ensaio 3 foi escolhido para este estudo, pois nestas condições os cromatogramas apresentaram menor ruído, como pode ser observado na (FIGURA 10).

Figura 4.1.10 - Cromatogramas do extrato matriz fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando (a) extrato obtido no ensaio 3; (b) extrato obtido no ensaio 8. Coluna Kinetex C18, 100 A (150 mm x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$), fluxo $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, fase móvel ACN:H₂O acidificado com ácido fórmico, gradiente 1 eluição de acordo com a Tabela 4.1.2.



Após definir as melhores condições cromatográficas e as melhores condições de extração, foi realizada a validação do método de extração por meio das principais figuras de mérito, conforme (INMETRO, 2016 e SANTE, 2019).

4.1.3.3 Validação

4.1.3.3.1 Seletividade

Nenhum pico interferente foi observado no mesmo tempo de retenção do dinotefuran, portanto, a metodologia otimizada neste estudo foi considerada seletiva (FIGURA 4.1.11). E o espectro de absorção do dinotefuran e do ruído da linha de base no tempo de retenção 4,62 minutos é mostrado na (FIGURA 4.1.12).

Figura 4.1.11- Cromatogramas do extrato de matriz aquosa isenta de analito (a) e do extrato de matriz aquosa fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b).

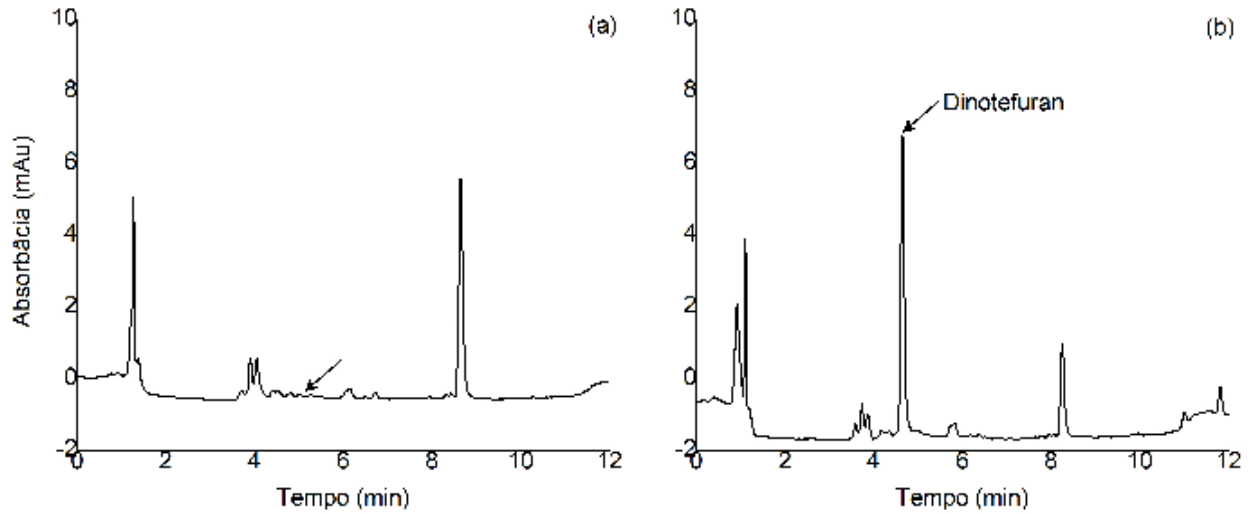
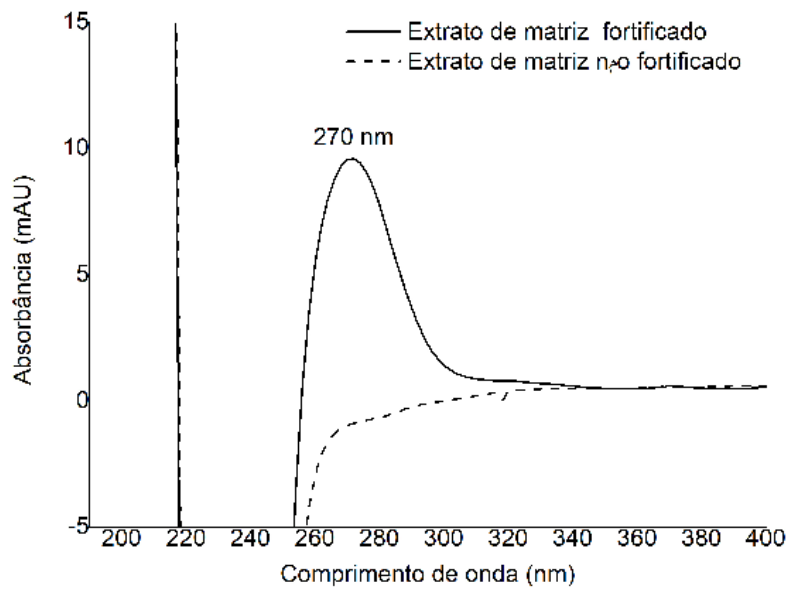


Figura 4.1.12 - Espectros de absorção de dinotefuran ($90 \mu\text{g L}^{-1}$) e do ruído de linha de base no tempo de retenção 4,62 minutos



4.1.3.3.2 LD e LQ

Os valores de LD e LQ alcançados neste estudo são apresentados na (TABELA 4.1.4).

Table 4.1.4 - Resultados da validação da metodologia ELL-PBT para a extração de dinotefuran em amostras de água

Linearidade ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	Recuperação Média \pm DPR (%)			LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
		10,0 $\mu\text{g L}^{-1a}$	90,0 $\mu\text{g L}^{-1b}$	170 $\mu\text{g L}^{-1a}$		
10,0 – 210,0	0,9974	85,44 \pm 5,8	87,06 \pm 3,6	89,72 \pm 1,84	5,00	10,0

^a Média de três repetições; ^b Média de sete repetições; R^2 : coeficiente de determinação; DPR: desvio padrão relativo; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação.

O valor de LQ alcançado neste estudo foi menor ou igual aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs) permitidos para dinotefuran em culturas agrícolas definidos pela legislação brasileira (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), 2021). Portanto, este método pode ser utilizado para a análise de dinotefuran em águas destinadas ao uso agrícola.

Estudos anteriores revelaram valores semelhantes na determinação de dinotefuran em melão por CLAE-UV, que atingiram LD e LQ de 50 e 160 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente (RAHMAN *et al.*, 2013). Da mesma forma, este inseticida também foi monitorado em amostras de infusão e folhas de chá usando LC-MS/MS e os valores de LQ alcançados foram de 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (RAHMAN *et al.*, 2015). Usando CLAE-DAD para monitorar dinotefuran em solo e pepino foram encontrados LD de 3 e 10 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente, e LQ de 10 e 30 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, respectivamente (FAROUK *et al.*, 2016). Em extrato de tomate, usando ultracromatografia com fluido supercrítico de alta performance acoplada à espectrometria de massa UHPSFC-MS/MS, foi alcançado LQ de 5 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (CHEN, ZENGLONG *et al.*, 2021).

Os valores de ingestão diária aceitável (IDA) de dinotefuran têm sido semelhantes entre diferentes órgãos reguladores, sendo de 20 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ para a

legislação internacional (EPA 2004 e FAO WHO, 2012), e de $22 \mu\text{g Kg}^{-1}$ aceito pela legislação brasileira (ANVISA, 2021; APVMA, 2015 e EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2014). Da mesma forma, essas instituições concordam que o limite máximo de dinotefuran permitido para água potável deve ser de 132 mg L^{-1} , valor superior ao LQ encontrado no presente estudo. O que credenciaria o método para a investigação da potabilidade da água quanto à presença do dinotefuran.

4.1.3.3.3 Precisão e exatidão

A precisão e a exatidão foram avaliadas simultaneamente e os resultados obtidos estão apresentados como porcentagens médias de recuperação de dinotefuran e desvio padrão relativo na Tabela 4. Como os valores de DPR ficaram abaixo de 20% a metodologia foi considerada precisa. Como as taxas de recuperação ficaram entre 70 a 120%, foi confirmada a exatidão da metodologia proposta.

4.1.3.3.4 Linearidade

A linearidade foi avaliada através da curva analítica das amostras de água fortificadas em seis níveis equidistantes, com três repetições independentes para cada nível, sendo o primeiro nível o valor do LQ (FIGURA 4.1.13).

Os parâmetros da regressão linear foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ordinários, obtendo-se os valores de inclinação, interseção e coeficiente de determinação (R^2), conforme pode ser observado na (FIGURA 4.1.13 (a)). Os valores *outliers* foram confirmados e tratados pelo teste de Jackknife, no qual apenas quatro *outliers* foram excluídos (FIGURA 4.1.13 (b)).

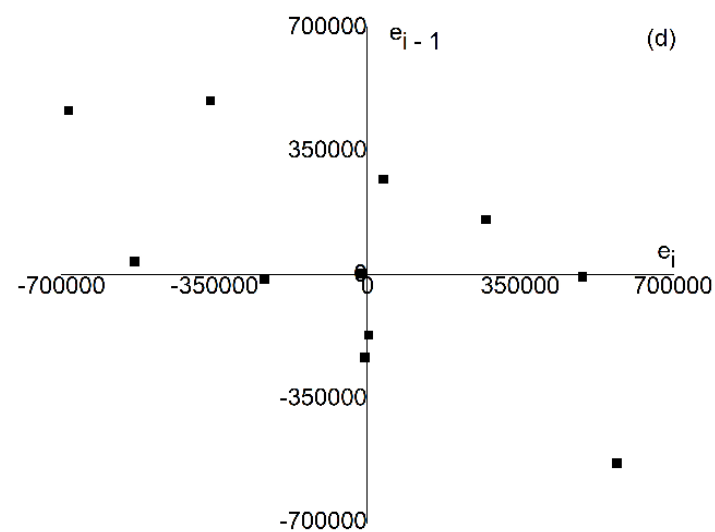
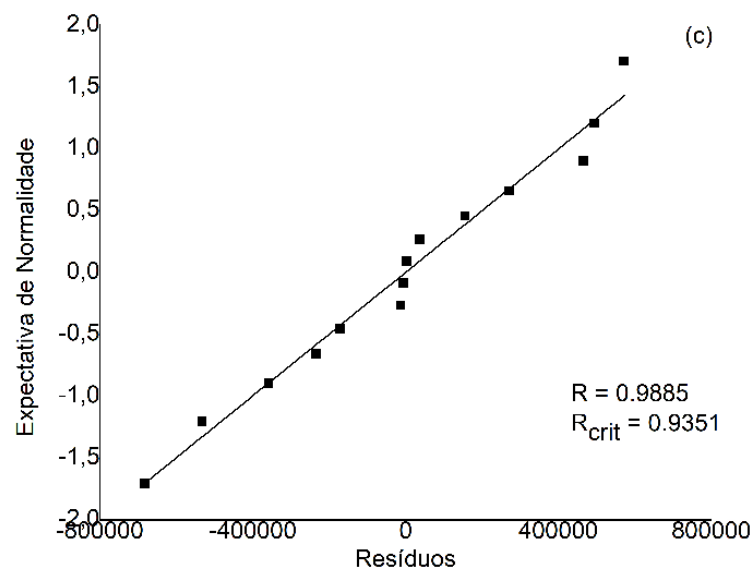
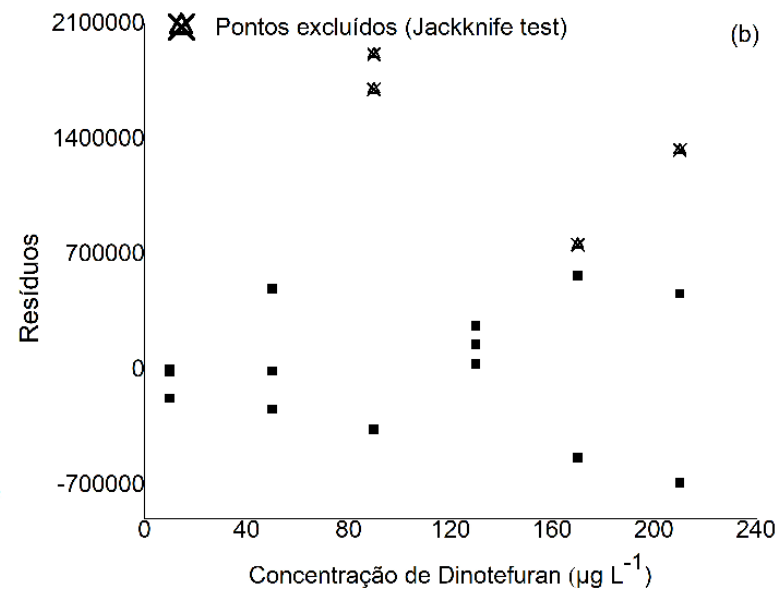
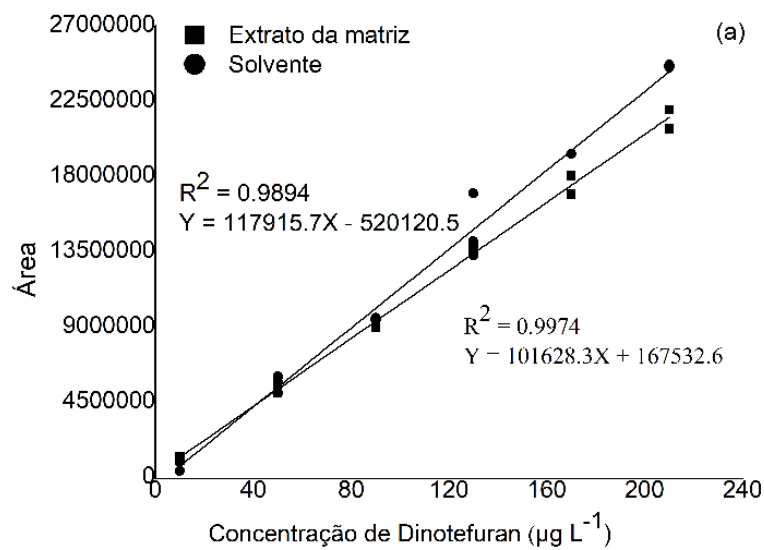
A distribuição normal dos resíduos da regressão foi confirmada pelo teste de Ryan-Joiner, com um coeficiente de correlação do teste de Ryan-Joiner (0,9885) maior que o coeficiente de correlação crítica (0,9351) (FIGURA 4.1.13(c)).

A homocedasticidade dos resíduos da regressão foi confirmada pelo teste de Brown-Forsythe, com valor de t_L (-1,262) menor que o valor $t_{crítico}$ (2,179). O teste de Durbin-Watson demonstrou a independência dos resíduos da regressão que estão distribuídos aleatoriamente nos quatro quadrantes (FIGURA 4.1.13 (d)).

A regressão foi significativa e não houve desvio de linearidade na faixa de concentração entre 10,0 e 210 $\mu\text{g L}^{-1}$, indicando que a metodologia ELL-PBT acoplada a CLAE-DAD foi linear para a determinação de dinotefuran em amostras de água.

Todas as avaliações de linearidade seguiram os procedimentos propostos por (BAZILIO *et al.*, 2012; DE SOUZA; JUNQUEIRA, 2005).

Figura 4.1.13 - Gráficos obtidos no estudo da linearidade da ELL-PBT. Curvas analíticas de dinotefuran em solvente e extratos da matriz (a). Resíduos da regressão linear após a exclusão dos *outliers* (teste de Jackknife) (b). Probabilidade normal dos resíduos de regressão para o dinotefuran (c). Autocorrelação dos resíduos de regressão para o dinotefuran (d). e_i : resíduo; R^2 : coeficiente de determinação; R : coeficiente de correlação do teste de Ryan-Joiner; d : Estatísticas de Durbin-Watson.



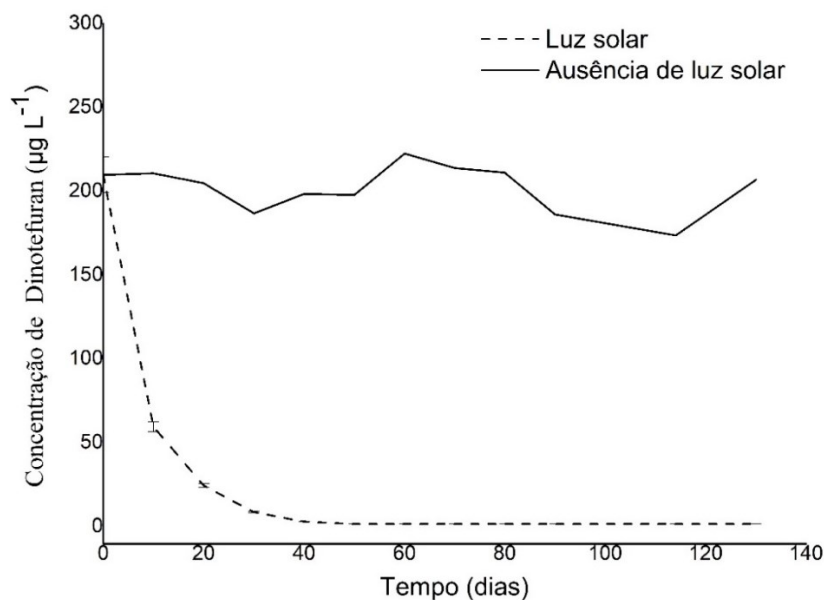
4.1.3.3.5 Efeito de matriz

O efeito da matriz foi analisado comparando as curvas analíticas do dinotefuran preparado em acetonitrila e em extratos da matriz (FIGURA 4.1.13 (a)). O efeito de matriz calculado foi de -13,81%, indicando uma redução na área cromatográfica do dinotefuran causada pela matriz aquosa. Este resultado está de acordo com trabalhos anteriores, pois a água é uma matriz com poucos interferentes e conseqüentemente apresentou menor variação na resposta cromatográfica quando comparada a outras matrizes como solo e lodo de esgoto. Diferentes estudos determinaram a presença de dinotefuran em amostras de água e também relataram a ausência ou um baixo efeito de matriz para a água, ou ainda utilizaram calibração na matriz como realizada em nosso estudo (BERENS; CAPEL; ARNOLD, 2021; KIM, JIWON *et al.*, 2021; THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021).

4.1.3.4 Ensaios de estabilidade do dinotefuran

A estabilidade do dinotefuran em água foi monitorada por 130 dias, na luz solar e na ausência de luz solar. Os resultados obtidos para o monitoramento da estabilidade do dinotefuran em água podem ser vistos na (FIGURA 4.1.14).

Figura 4.1.14 - Concentração média de dinotefuran em amostras de água subterrânea na presença e ausência de luz solar, durante 130 dias.



Os resultados revelaram que, sob condições de exposição à luz solar, a meia-vida do dinotefuran foi de aproximadamente 7 dias. Por outro lado, na ausência de luz solar, há pouca variação na concentração desse inseticida, indicando que a molécula de dinotefuran sofre uma degradação mais acentuada na presença de luz solar (THOMPSON; KOLPIN; *et al.*, 2021). Este resultado está de acordo com estudos anteriores que determinaram valores de meia-vida variando de 1 a 8 dias e 7 a 8 dias a 40 °C para diferentes estações (APVMA, 2015). Os resultados também indicam que nas águas subterrâneas, os resíduos de dinotefuran podem permanecer por períodos prolongados, pois não houve redução significativa na concentração de dinotefuran em 130 dias sob condições de proteção da luz.

Estudo anterior encontrou maior prevalência de neonicotinóides usados em tratamento de sementes que não recebem incidência de luz solar no campo, em águas subterrâneas. (THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021).

Uma consideração importante deve ser feita para áreas com cultura de café, única das culturas que tem indicação de aplicação de dinotefuran via solo no Brasil (ANVISA, 2021). Pois neste tipo de aplicação pode ocorrer maior infiltração e persistência do dinotefuran, devido ao menor contato com a luz solar.

4.1.3.5 Monitoramento de amostras reais

Na análise das amostras reais pelo método otimizado e validado neste estudo não foram detectados resíduos de dinotefuran. Indicando a não ocorrência do inseticida ou a ocorrência em concentrações abaixo da concentração detectável pelo método analítico proposto neste estudo. Devido à recente autorização para uso no Brasil ou seu uso limitado, associado ao curto período de estabilidade em condições de campo, também pode ter contribuído para a não detecção em amostras reais.

Estudo anterior revelou que a análise da água dos principais aquíferos de Iowa, Estados Unidos, encontrou uma menor taxa de contaminação por dinotefuran em relação a outros neonicotinóides (1,4 ng L⁻¹, em apenas 0,1% das águas amostradas) (THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021). Em investigação sobre a permanência de neonicotinóides em áreas agrícolas nos Estados Unidos, não foi constatada contaminação por dinotefuran devido ao uso incomum do inseticida nas áreas analisadas (THOMPSON; KOLPIN; *et al.*, 2021). Porém, nas águas do rio Nakdong, na Coreia do Sul, o dinotefuran apresentou a maior concentração (70,8 ng L⁻¹), o que foi atribuído à maior comercialização desse inseticida no país (148 ton por ano) (KIM, JIWON *et al.*, 2021).

4.1.4 Conclusões

A ELL-PBT otimizada e validada seguida da CLAE-DAD foi simples, prática, eficiente, com reduzido número de etapas, consumo de solvente e amostra. A metodologia foi seletiva, precisa e exata, e linear na determinação de dinotefuran em amostras de água. Os limites de quantificação obtidos foram inferiores aos limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação nacional e internacional. Portanto, a ELL-PBT pode ser considerada uma alternativa eficiente para monitoramento de dinotefuran em água. O estudo da estabilidade deste inseticida em água na ausência de luz solar revelou que os resíduos de dinotefuran podem permanecer por períodos prolongados >130 dias. No entanto, na presença da luz solar, essa degradação ocorre

com mais facilidade. Provavelmente, este foi um dos motivos para a não detecção deste inseticida em nenhuma das amostras de água avaliadas.

4.1.5 Referências

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). *Monografias de agrotóxicos autorizadas D55 Dinotefuran.*(2021). Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/d/4307json-file-1/view>>. Acesso em: 26 nov. 2022.

APVMA Product Starkle 200 SG Insecticide. 2015, KINGSTON ACT 2604 Australia: [s.n.], 2015. p. 47. Disponível em: <www.apvma.gov.au>.

BAZILIO, F. S.; BOMFIM, M. V. J.; ALMEIDA, R. J.; ABRANTES, S. M. P. Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. **Revista Analytica**, v. 59, p. 60–67, 2012.

BERENS, Matthew J; CAPEL, Paul D; ARNOLD, William A. Neonicotinoid Insecticides in Surface Water, Groundwater, and Wastewater Across Land-Use Gradients and Potential Effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 4, p. 1017–1033, 2021.

CHEN, Xiaoxin *et al.* Simultaneous determination of pyridaben, dinotefuran, DN and UF in eggplant ecosystem under open-field conditions: Dissipation behaviour and residue distribution. **Chemosphere**, v. 195, p. 245–251, 1 mar. 2018.

CHEN, Zenglong *et al.* Enantioselective fate of dinotefuran from tomato cultivation to home canning for refining dietary exposure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 405, p. 124254, 5 mar. 2021.

DE PINHO, Gevany Paulino *et al.* Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. **Food Control**, v. 21, n. 10, p. 1307–1311, 1 out. 2010.

EPA; OCSP; OPP. *US EPA - ECM for Dinotefuran & Degradates in Soil/Water - MRID 48548801.* . [S.l: s.n.], 2004.

European Food Safety Authority (EFSA). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864543005637>>. Acesso em: 18 mar. 2022.

FAO; WHO. *Pesticide residues in food 2012 The annual Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues.* [S.l: s.n.], 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMP>

R/Report12/JMPR_2012_Report.pdf>.

FAROUK, Maha *et al.* Simultaneous determination of three neonicotinoid insecticide residues and their metabolite in cucumbers and soil by QuEChERS clean up and liquid chromatography with diode-array detection . 2016. Disponível em: <www.rsc.org/methods>.

HALLMANN, Caspar A. *et al.* Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. **Nature**, v. 511, n. 7509, p. 341–343, 2014.

HAM, Hun Ju *et al.* Residues and Uptake of Soil-Applied Dinotefuran by Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Celery (*Apium graveolens* L.). **Agriculture (Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 1–20, 2022.

INMETRO. Guidance in validation of analytical methods. *Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia*, p. 31, 2016. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf>.

KIM, Jiwon *et al.* Concentrations and distributions of neonicotinoids in drinking water treatment plants in South Korea. *Environmental Pollution*, p. 117767, 9 jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026974912101349X>>.

LI, Xiaoqing *et al.* Effect of neonicotinoid dinotefuran on root exudates of *Brassica rapa* var. *chinensis*. **Chemosphere**, v. 266, p. 129020, 1 mar. 2021.

LIU, Tong *et al.* Biochemical and genetic toxicity of dinotefuran on earthworms (*Eisenia fetida*). **Chemosphere**, v. 176, p. 156–164, 1 jun. 2017.

LIU, Xue *et al.* Photocatalytic degradation of dinotefuran by layered phosphorus-doped carbon nitride and its mechanism. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 414, p. 113287, 1 jun. 2021.

MESQUITA, Tayane C.R. *et al.* Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low temperature. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 53, n. 3, p. 199–206, 4 mar. 2018.

MORAES, Rodrigo Fracalossi De. **Agrotóxicos no Brasil : padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. *Ipea*, p. 76, 2019.

MORAIS, Elisa Helena da Costa *et al.* Determination of thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin in pineapple using SLE-LTP extraction and gas chromatography. **Food Control**, v. 42, p. 9–17, 1 ago. 2014.

MORRISSEY, Christy A. *et al.* Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. **Environment International**, v. 74, p. 291–303, 1 jan. 2015.

NIMAKO, Collins *et al.* Assessment of ameliorative effects of organic dietary

interventions on neonicotinoid exposure rates in a Japanese population. **Environment International**, v. 162, p. 107169, 1 abr. 2022.

PIHLSTROM, Tuija *et al.* Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. *Sante/11813/2017*, p. 42, 2018. Disponível em: <https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11813_2017-fin.pdf>.

RAHMAN, Md Musfiqur *et al.* Consequences of the matrix effect on recovery of dinotefuran and its metabolites in green tea during tandem mass spectrometry analysis. **Food Chemistry**, v. 168, p. 445–453, 1 fev. 2015.

RAHMAN, Md Musfiqur *et al.* Feasibility and application of an HPLC/UVD to determine dinotefuran and its shorter wavelength metabolites residues in melon with tandem mass confirmation. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 1038–1046, 15 jan. 2013.

RAMOS-PERALONSO, M. J. European Food Safety Authority (EFSA). *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, p. 554–556, 1 jan. 2014.

RAN, Lulu *et al.* The enantioselective toxicity and oxidative stress of dinotefuran on zebrafish (*Danio rerio*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 226, p. 112809, 15 dez. 2021.

SILVEIRA, Taciana, M.D. *et al.* Study of Analytical Techniques to Determine Chlorpyrifos in the Surface Waterways of the Rural Zone of Ouro Branco, Brazil: A Case Study. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 17, p. 227;335, 2016.

STEHLE, Sebastian; SCHULZ, Ralf. Agricultural insecticides threaten surface waters at the global scale. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 18, p. 5750–5755, 5 maio 2015.

THOMPSON, Darrin A.; HRUBY, Claire E.; *et al.* Occurrence of neonicotinoids and sulfoxaflor in major aquifer groups in Iowa. **Chemosphere**, v. 281, p. 130856, 1 out. 2021.

THOMPSON, Darrin A.; KOLPIN, Dana W.; *et al.* Prevalence of neonicotinoids and sulfoxaflor in alluvial aquifers in a high corn and soybean producing region of the Midwestern United States. **Science of The Total Environment**, v. 782, p. 146762, 15 ago. 2021.

WANG, Jia *et al.* Photolysis mechanism of eleven insecticides under simulated sunlight irradiation: Kinetics, pathway and QSAR. **Chemosphere**, v. 334, n. May, p. 138968, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138968>>.

WANG, Yinghuan *et al.* The metabolism distribution and effect of dinotefuran in Chinese lizards (*Eremias argus*). **Chemosphere**, v. 211, p. 591–599, 1 nov. 2018.

WATANABE, Eiki; IWAFUNE, Takashi; BABA, Koji; KOBARA, Yuso. Organic Solvent-Saving Sample Preparation for Systematic Residue Analysis of Neonicotinoid Insecticides in Agricultural Products Using Liquid Chromatography–Diode Array Detection. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 245–254, 1 jan. 2016.

WATANABE, Eiki. Review of sample preparation methods for chromatographic analysis of neonicotinoids in agricultural and environmental matrices: From classical to state-of-the-art methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1643, p. 462042, 26 abr. 2021.

WATANABE, Eiki; BABA, Koji; MIYAKE, Shiro. Analytical evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for neonicotinoid dinotefuran for potential application to quick and simple screening method in rice samples. **Talanta**, v. 84, n. 4, p. 1107–1111, 30 maio 2011.

WU, Changcai *et al.* Residue status and risk assessment of neonicotinoids under real field conditions: Based on a two-year survey of cotton fields throughout China. **Environmental Technology & Innovation**, v. 28, p. 102689, 1 nov. 2022.

XIONG, Jingjing *et al.* Tracing neonicotinoid insecticides and their transformation products from paddy field to receiving waters using polar organic chemical integrative samplers. **Journal of Hazardous Materials**, v. 413, p. 125421, 5 jul. 2021.

XU, Shiliang *et al.* Biochemical toxicity and transcriptome aberration induced by dinotefuran in *Bombyx mori*. **Environmental Pollution**, v. 307, p. 119562, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026974912200776X>>.

YANG, Yue *et al.* Dual-emission ratiometric fluorescent detection of dinotefuran based on sulfur-doped carbon quantum dots and copper nanocluster hybrid. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 321, 15 out. 2020.

YU, Bo *et al.* Effects on soil microbial community after exposure to neonicotinoid insecticides thiamethoxam and dinotefuran. **Science of the Total Environment**, v. 725, 2020.

ZHANG, Haiyun *et al.* Differences in kinetic metabolomics in *Eisenia fetida* under single and dual exposure of imidacloprid and dinotefuran at environmentally relevant concentrations. **Journal of Hazardous Materials**, v. 417, p. 126001, 5 set. 2021.

ZHANG, Quan *et al.* Toxicological Effect and Molecular Mechanism of the Chiral Neonicotinoid Dinotefuran in Honeybees. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 2, p. 1104–1112, 30 dez. 2022.

ZHANG, Yiping *et al.* Simultaneous determination of neonicotinoids and fipronils in tea using a modified QuEChERS method and liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 329, p. 127159, 1 nov. 2020.

ZHANG, Yue *et al.* Insights into the degradation and toxicity difference mechanism of neonicotinoid pesticides in honeybees by mass spectrometry imaging. **Science of the Total Environment**, v. 774, p. 145170, 20 jun. 2021.

4.2 ARTIGO 2: Método de extração e determinação de dinotefuram em amostras de solo

Resumo: O dinotefuram é um inseticida neonicotinóide de terceira geração que possui amplo espectro de ação em pragas agrícolas. Em 2019, o dinotefuram foi autorizado para uso agrícola no Brasil, sendo classificado como produto muito perigoso para o meio ambiente. Portanto, este estudo teve como objetivo otimizar e validar a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) para determinação de dinotefurano em amostras de solo utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). Os resultados mostraram que a melhor fase extratora foi acetonitrila:água (8:2 v/v) seguida da limpeza com 50 mg de amina primária-secundária (PSA). Nessas condições, o método foi linear de 15,0 a 140 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e atingiu limites de detecção e quantificação de 10,0 e 15,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. A validação revelou que o método foi seletivo, preciso, exato e com efeito de matriz inferior a 15%. Embora o dinotefuram não tenha sido detectado em amostras reais, a ESL-PBT mostrou-se uma alternativa eficiente para monitoramento do dinotefurano em amostras de solo.

Palavras-chave: Inseticida neonicotinóide, inseticida neuronal, neonicotinóides de terceira geração, ESL-PBT.

Extraction method for determining dinotefuram insecticide in soil samples

Abstract: The dinotefuran is a third-generation neonicotinoid insecticide that has a broad-spectrum of action in agriculture pests. In 2019, dinotefuran was authorized in Brazil, being classified as a very dangerous product for the environment. Therefore, this study aimed to optimize and validate the solid-liquid extraction with low temperature purification (SLE-LTP) to determine dinotefuran in soil samples using high-performance liquid chromatography coupled diode array detection (HPLC-DAD). The results showed that the best extracting phase was acetonitrile:water (8:2 v/v) followed by the clean-up with 50 mg of primary-secondary amine. In these conditions, the method was linear of 15.0 to 140 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and reached detection and quantitation

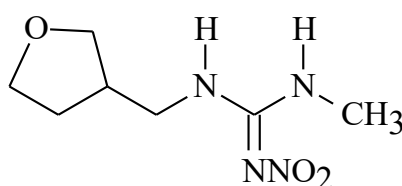
limits of 10.0 and 15.0 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. The validation revealed that the method was selective, precise, accurate, and a matrix effect less than 15%. Although dinotefuran were not detected in real soil samples, SLE-LTP proved to be an efficient alternative for monitoring dinotefuran in soil samples.

Keywords: Neonicotinoid insecticide, neuronal insecticide, third-generation neonicotinoids, SLE-LTP.

4.2.1 Introdução

Os neonicotinóides são inseticidas sistêmicos de amplo espectro de atuação sendo os pesticidas mais desenvolvidos nos últimos anos (ROHRBACHER *et al.*, 2021; XIE; HOU, 2021; XU *et al.*, 2022). Dentre esses compostos podemos destacar o dinotefuran, que pertence a terceira geração desses inseticidas, (FIGURA 4.2.1)

Figura 4.2.1- Estrutura química do dinotefuran



Este inseticida apresenta elevada penetração endosmótica, significativa eficiência inseticida e reduzida toxicidade a pássaros e mamíferos (YIN *et al.*, 2023; ZHANG, QUAN *et al.*, 2022). Sendo eficiente no combate de pragas resistentes a inseticidas convencionais como organofosforados, carbamatos e piretroides (WATANABE; BABA; MIYAKE, 2011). Essas características levaram a uma elevada utilização desse composto em vários países, o que tem resultado em episódios de contaminação de água (KIM, JIWON *et al.*, 2021; THOMPSON; HRUBY; *et al.*, 2021), solo (WU *et al.*, 2022; ZHOU, YING *et al.*, 2018), animais. (FUENTES *et al.*, 2023; WANG, YINGHUAN *et al.*, 2018), plantas (XIE; HOU, 2021) e humanos (NIMAKO *et al.*, 2021; TAIRA *et al.*, 2021).

O dinotefuran foi autorizado para uso agrícola no Brasil em 2019, podendo ser utilizado em diversas culturas como algodão, arroz, cereais, batata, café, cana-de-

açúcar, frutas cítricas, feijão, grão de bico, milho, soja, sorgo, tomate e trigo (entre outras culturas), com limites máximos de resíduos (LMR) variando de 10 a 600 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ANVISA, 2021).

Essa molécula apresenta alta absorção pelas plantas, meia-vida no solo de 80 a 100 dias e solubilidade em água de 39,8 g L^{-1} , o que facilita seu arraste e lixiviação para camadas inferiores do solo e pode levar à contaminação de lençóis freáticos (LIU, XUE *et al.* 2021). Portanto, a legislação brasileira classificou esse inseticida como um produto muito perigoso para o meio ambiente (ANVISA, 2021).

Até o presente momento apenas o método QuEChERS (CHENG *et al.*, 2023; FAROUK *et al.*, 2016; HAM *et al.*, 2022; YU, BO *et al.*, 2020; ZHOU, YING *et al.*, 2018), e extração em fase sólida (SPE) (GU *et al.*, 2023; ZHANG, CHAO *et al.*, 2020) têm sido otimizados e validados com sucesso na extração de dinotefuran no solo. Neste sentido a otimização e validação de novos métodos de extração simples e eficientes é altamente recomendado.

Dessa forma podemos destacar a extração sólido líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) que consiste em extrair um analito de uma matriz sólida pela adição de água, solvente orgânico e abaixando a temperatura -20°C . (AMBROSIO *et al.*, 2022; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; SILVEIRA *et al.*, 2016). A extração ocorre porque as moléculas do analito são transferidas para o solvente orgânico quando a matriz aquosa solidifica (MESQUITA *et al.*, 2018), sendo que vários interferentes da matriz solidificam junto a fase aquosa o que geralmente elimina a etapa de *clean up* dos extratos (AMBROSIO *et al.*, 2022; LOPES; SILVÉRIO; SICUPIRA, 2023; MESQUITA *et al.*, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2016). Este método tem sido otimizado e validado para monitorar vários tipos de pesticidas (AMBROSIO *et al.*, 2022; DE FREITAS, FAÊDA *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2023), porém, até o momento, o método não foi empregado para determinar dinotefuran em amostras de solo.

Por isso, o objetivo deste estudo foi otimizar a extração sólido líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) seguida pela análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) para determinar resíduos de dinotefuran em amostras de solo.

4.2.2 Material e métodos

4.2.2.1 Reagentes e soluções

O padrão de dinotefuran, 99,9% pureza (m/m) foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). Acetonitrila (ACN), grau CLAE, foi adquirido da J.T. Baker (Phillipsburg, EUA). Os adsorventes, amina primária e secundária (PSA) e a sílica adsorvida com octadodecila (C18) foram adquiridas da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil), a sílica foi obtida da Macherey-Nagel (Alemanha). O solvente grau analítico acetato de etila (AC) foi adquirido da Dinâmica (Diadema, Brasil) e o hidróxido de sódio da Alphatec (São José dos Pinhais, Brasil). A acetonitrila (ACN) (PA) foi adquirida da Êxodo Científica (Brasil), o ácido fórmico (FA) da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA) e o cloreto de sódio da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Foram preparadas soluções estoque e de trabalho nas concentrações de 20 mg L⁻¹ e 5 mg L⁻¹, respectivamente, ambas em acetonitrila grau HPLC. Todas as soluções foram armazenadas em frasco âmbar a -20°C.

4.2.2.2 Amostras de Solo

Para otimização do método de extração foi utilizado o solo franco argiloso com a composição química apresentada na (TABELA 4.2.1).

Tabela 4.2.1 - Composição química do solo usado para otimização do método de extração

Parâmetro	pH	Porcentagem			
		MO	Areia	Silte	Argila
	6,3	0,96	64	8	28

MO = matéria orgânica.

4.2.2.3 Equipamentos

O preparo de amostras foi realizado utilizando balança analítica da Shimadzu

(São Paulo, Brasil), pHmetro digital Quimis (São Paulo, Brasil), bomba de vácuo da Primatec (Itu, Brasil), vortex da Scilogex (Rocky Hill, EUA), centrífuga Kc5 Kindly (Guarulhos, Brasil). Micropipetas Labmate Pro 20 – $200 \pm 0,1 \mu\text{L}$, 100 – $1000 \pm 1 \mu\text{L}$ e 1000 – $5000 \pm 5 \mu\text{L}$ da HTL (Warszawa, Polónia), membrana de PTFE de $0,22 \mu\text{m}$ da Filtrilo (Brasil).

4.2.2.4 Análises cromatográficas

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a líquido de alta eficiência acoplado a um detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD, modelo 1290, Agilent Technologies, Sta clair, EUA). As análises dos extratos foram realizadas de acordo com as condições cromatográficas descritas por (SOARES *et al.*, 2023), com volume de injeção de $10 \mu\text{L}$, coluna Kinetex C 18 100 A ($150 \times 4,6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) (Sta clair, EUA). Temperatura da coluna $20 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão de fase móvel = $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, comprimento de onda 270 nm . A composição da fase móvel foi ACN com 0,1% de ácido fórmico (A) e água com 0,1% de ácido fórmico (B); em gradiente: 50% A (0 min), elevação para 100% A (0–7 min), permaneceu em 100% A (7–8,5min), retornando para 50% A (8,5–8,6 min), mantido até o tempo final (11 min).

4.2.2.5 *Clean up* dos extratos

A etapa de *clean up* foi executada junto ao processo de extração, item 4.2.2.6. Prosseguindo seguinte forma: 3 mL do extrato da matriz obtido na ESL-PBT foram coletados em um tubo de centrifuga contendo um 25, 50 ou 100mg de um dos sorventes otimizados, tabela 4.2.2, essa mistura foi homogeneizada em vortex por 30s, e centrifugados 4000 rpm por 8 minutos para remoção dos sorventes, sendo o sobrenadante totalmente recuperado e conduzido para etapa de concentração da ESL-PBT.

Para a etapa de *clean up* dos extratos de solo foram otimizados os sorventes PSA, sílica e C18 conforme a (TABELA 4.2.2).

Tabela 4.2.2 – Otimização da etapa de *clean up* dos extratos de solo empregada na ESL-PBT

Sorventes mg		
PSA mg	C18 mg	Sílica mg
25	25	25
50	50	50
100	100	100

PSA: Amina primária e secundária; C18: sílica ligada a octadodecila.

4.2.2.6 ESL-PBT

Para otimizar o método de extração, 4,00 gramas de solo livre do inseticida foram adicionadas a um frasco de vidro de 22 mL, fortificadas com aproximadamente 73 mL de uma solução de trabalho a 5 mg L⁻¹ de dinotefuran para obter uma concentração de 90 µg Kg⁻¹. O solo fortificado foi mantido em repouso por uma hora. Em seguida, foram adicionados 4 mL de água purificada e 8 mL da solução extratora. Essa mistura foi agitada em vortex por 30 s e colocada no freezer a - 20 °C até o completo congelamento da fase aquosa. Em seguida, 3 mL da fase orgânica líquida foram transferidos para um tubo de centrifuga contendo um dos sorventes testados (TABELA 4.2.2). A mistura foi novamente agitada por 30 segundos, centrifugada a 4000 rpm por 8 minutos, o sobrenadante foi transferido para um tubo de vidro de 5 mL, completamente evaporado e ressuspendido em 400 µL da fase móvel utilizada na análise cromatográfica. A concentração final esperada de dinotefuran no extrato foi de 405 µg L⁻¹. Por fim, as amostras foram filtradas em filtro de nylon de 0,22 µm e armazenadas em frasco de 2 mL a -20 °C até o momento da análise por CLAE-DAD.

A ESL-PBT foi otimizada avaliando os parâmetros apresentados na Tabela 4.2.3. A análise de variância e o teste de Scott-Knott foram utilizados para verificar se há diferenças significativas entre as médias das taxas de recuperação ($P < 0,05$).

Tabela 4.2.3 – Parâmetros otimizados na ESL-PBT para o solo para odinotefuran em solo

Parâmetros							
Ensaio	Fase extratora	Água (mL)	Peso Amostra	Acido	Base	NaCl	Tempo congelamento (horas)
1	8 mL ACN	4	4 g	-	-	-	1
2	8 mL ACN	4	4 g	AF	-	-	1
3	6,5ACN/1,5 EtOAc	4	4 g	-	-	-	1
4	8 mL ACN	4	4 g	AF	-	-	0,5
5	8 mL ACN	4	4 g	-	-	0,2g	2
6	8 mL ACN	4	4 g	AF	-	0,2g	2
7	6,5 ACN/1,5EtOAc	4	4 g	-	-	-	2
8	8 mL ACN	4	4 g	AF	-	-	2
9	8 mL ACN	4	4 g	AF	-	-	3
10	6,5ACN/1,5 EtOAc	4	4 g	-	-	-	3
11	8 mL ACN	2	4 g	-	-	-	1
12	8 mL ACN	4	2 g	-	-	-	1
13	8 mL ACN	4	4 g		NaOH	-	1

ACN = Acetonitrila; EtOAc = Acetato de etila; AF = Solução de ácido fórmico 0,1% (v/v); NaCl = cloreto de sódio; NaOH= solução de hidróxido de sódio à 10^{-6} mol L⁻¹.

4.2.2.7 Validação do método

A validação da metodologia foi realizada conforme recomendado pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade (INMETRO, 2016 e SANTE, 2019). Foram feitos os testes de seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão, linearidade e efeito de matriz.

4.2.2.7.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada pela comparação dos cromatogramas do extrato da matriz fortificada com dinotefuran, e o extrato da matriz não fortificada (branco) em seis repetições independentes.

4.2.2.7.2 LD e LQ

O LD e o LQ foram determinados pela relação sinal /ruído. Onde o LD foi determinado como a menor concentração de fortificação do extrato da matriz que forneceu um sinal três vezes maior que o sinal do ruído no mesmo tempo de retenção do dinotefuran, e o LQ a menor concentração de fortificação da matriz que forneceu um sinal dez vezes maior que o sinal do ruído no mesmo tempo de retenção do dinotefuran.

4.2.2.7.3 Precisão e Exatidão

A exatidão foi avaliada por ensaios de fortificação e recuperação do analito em três concentrações, 15,0, 90,0 e 115,0 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, com três repetições cada. Sendo a metodologia considerada exata se a recuperação do analito apresentasse valores entre 70 e 120%. Já a precisão foi avaliada usando o nível de concentração de 90,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ com sete repetições, sendo o desvio padrão relativo (RSD) das réplicas inferior a 20% o critério de aceitabilidade.

4.2.2.7.4 Linearidade

A linearidade foi avaliada pela plotagem de uma curva analítica das áreas cromatográficas do pico do dinotefuran em função de seis níveis de concentração 15, 40, 65, 90, 115 e 140 $\mu\text{g Kg}^{-1}$, com três repetições independentes para cada nível. Os parâmetros da regressão linear: coeficiente angular, intercepto e coeficiente de determinação R^2 , foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ordinários.

Os *outliers* foram detectados de acordo com o teste de Jacknife, onde foi permitido a exclusão máxima de 22,2% dos dados originais, e não sendo permitia a exclusão de todas as repetições de um mesmo nível de concentração.

A normalidade, homocedasticidade e independência dos resíduos da regressão foram avaliados pelos testes de Ryan e Joiner, Brown e Forsythe e teste de Durbin e Watson, respectivamente.

A análise de variância (ANOVA) foi aplicada aos dados das curvas analíticas para verificar significância da regressão e os desvios de linearidade.

4.2.2.7.5 Efeito de matriz

Para avaliação do efeito de matriz foram construídas duas curvas analíticas das áreas cromatográficas do pico do dinotefuran, em função das concentrações de fortificação 15, 40, 65, 90, 115 e 140 $\mu\text{g kg}^{-1}$, com três repetições independentes para cada nível. Uma curva construída no extrato da matriz e a outra em acetonitrila. Ambas as curvas foram submetidas aos processos de linearidade descritos anteriormente. O efeito de matriz foi determinado pela comparação da inclinação das duas curvas conforme a (EQUAÇÃO 1).

$$\text{EM}(\%) = 100 * \left(\frac{\alpha_{\text{matrix}}}{\alpha_{\text{solvente}}} - 1 \right) \quad (1)$$

Onde: EM = efeito de matriz; α_{matrix} = coeficiente angular da curva analítica no extrato da matriz; α_{solvent} = coeficiente angular da curva analítica no solvente.

4.2.2.8 Determinação do dinotefuran em amostras de solo

Foram coletadas dezenove amostras de solo, no município de Poço Fundo, sul do estado de Minas Gerais conforme mostrado na Tabela 4.2.4. Foram coletados 300 g de solo acondicionados em sacos plásticos e armazenados em temperatura ambiente até a análise. As amostras foram separadas do material orgânico, homogeneizadas, peneiradas 0,6 mm e levadas para análise.

Tabela 4.2.4 - Coordenadas geográficas das amostras de solo coletadas e suas respectivas culturas próximas.

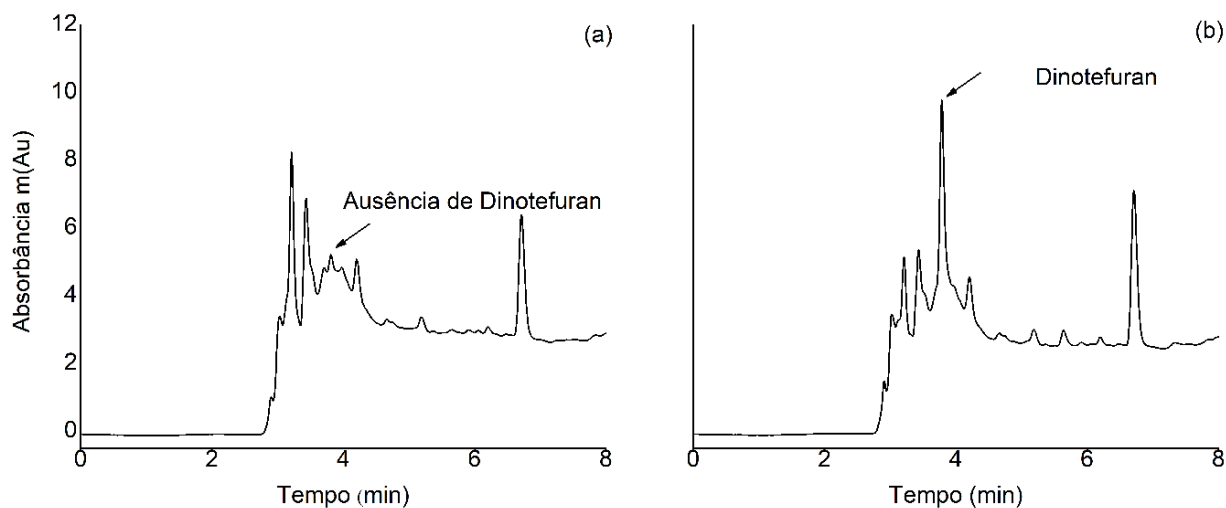
Ponto	Latitude	Longitude	Lavouras próximas
1	21°49'53"	45° 53' 17 "	café
2	21°49' 54"	45°53' 20"	café
3	21°49' 51"	45°53' 19"	café
4	21° 49' 57"	45°52' 43"	café
5	21° 50' 27"	45°52' 52"	café
6	21° 50' 53"	45°53' 52"	café
7	21°51' 4"	45° 53' 8"	café
8	21°51'13"	45°53' 22"	café
9	21°50' 11"	45°53' 29"	café
10	21° 50' 7,1"	45°53'26"	café
11	21,°50' 13"	45° 53'8"	café
12	21°49' 37"	45°53' 18"	café
13	21°49' 19"	45°53'45"	café
14	21°,49' 22"	45°53'57"	café
15	21° 49' 19"	45°54' 35"	café
16	21,°48' 53"	45°54' 57"	café
17	21°40' 27"	45°55' 23"	café
18	21 °48' 12"	45°55'32"	café
19	21° 48' 4"	45°55'49"	café

4.2.3 Resultados e discussão

4.2.3.1 Otimização das condições cromatográficas

Estudo recente revelou as condições cromatográficas para determinar dinotefuran em amostras de água (SOARES *et al.*, 2023). Estas condições cromatográficas foram empregadas para determinar este inseticida em amostras de solo e o cromatograma obtido é apresentado na (FIGURA 4.2.2).

Figura 4.2.2 - Cromatograma da matriz não fortificada (a); e da matriz fortificada com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b). Condições cromatográficas: Kinetex C18 column, 100 A (150 mm x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$); volume de injeção $10,0 \mu\text{L}$; vazão $0,3 \text{ mLmin}^{-1}$; temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$; comprimento de onda 270 nm ; fase móvel: ACN $0,1\%$ de ácido fórmico v/v (A) e água $0,1\%$ de ácido fórmico v/v (B); em gradiente.

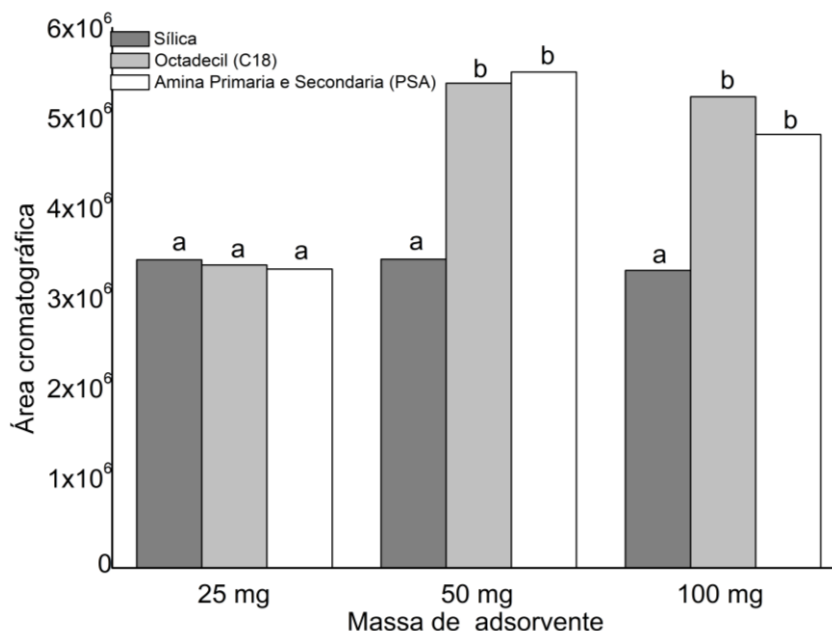


Os resultados revelaram cromatogramas com muitos sinais de interferentes, um pequeno desvio causado no tempo de retenção do dinotefuran, provavelmente causado pela não separação do analito dos interferentes da matriz, além de elevação da linha de base. Por isso, foi necessário adicionar uma etapa de *clean up* dos extratos antes das análises cromatográficas.

4.2.3.2 Etapa de *clean up* dos extratos

Para o estudo do *clean up* dos extratos de solo, foram avaliados três sorventes e em três dosagens (Tabela 4.2.2). Os resultados obtidos são apresentados na (FIGURA 4.2.3).

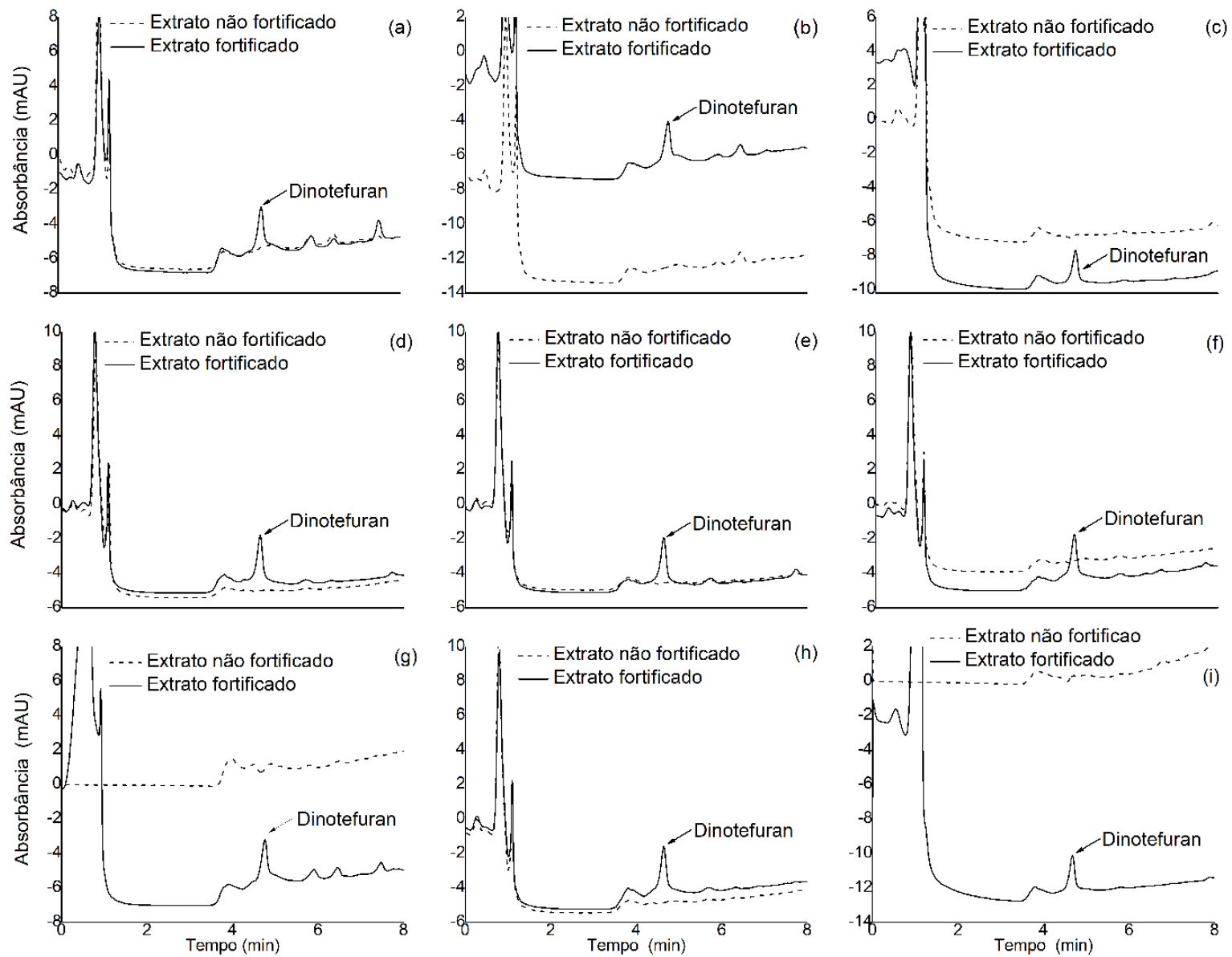
Figura 4.2.3 - Áreas cromatográficas do dinotefuran no extrato da matriz fortificado a $90 \mu\text{g L}^{-1}$, empregando os sorventes sílica, sílica ligada com octadodecila (C18) e amina primária e secundária (PSA)



Condições cromatográficas foram: coluna Kinetex C18, 100 A (150 x 4,6 mm, 5 μm), vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, fase móvel: ACN com 0,1% de ácido fórmico v/v (A) e água com 0,1% de ácido fórmico v/v (B); em gradiente. Letras diferentes significam diferentes medias de recuperação pelo teste de t a 5% de significância.

Os resultados revelaram que as maiores áreas cromatográficas para o sinal de dinotefuran foram obtidas empregando 50 mg de PSA ou 50 mg (C18). Os cromatogramas obtidos em cada um destes experimentos são apresentados na (FIGURA 4.2.4).

Figura 4.2.4 - Cromatogramas do extrato matriz fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (—) e do extrato matriz não fortificado (---). Condições cromatográficas: Kinetex, 100 A (150x 4,6 mm, 5 μm), vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$; fase móvel: ACN com 0,1% de ácido fórmico (A) e Água com 0,1% de ácido fórmico (B); em gradiente. (a) 25 mg de sílica; (b) 50 mg de sílica; (c) 100 mg de sílica; (d) 25 mg de PSA; (e) 50 mg de PSA; (f) 100 mg de PSA; (g) 25 mg de C18; (h) 50 mg de C18; (i) 100 mg de C18.



A adição da sílica, nas três quantidades, promoveu menor área cromatográfica para o pico do dinotefuran, como pode ser observado na Figura 4.2.3

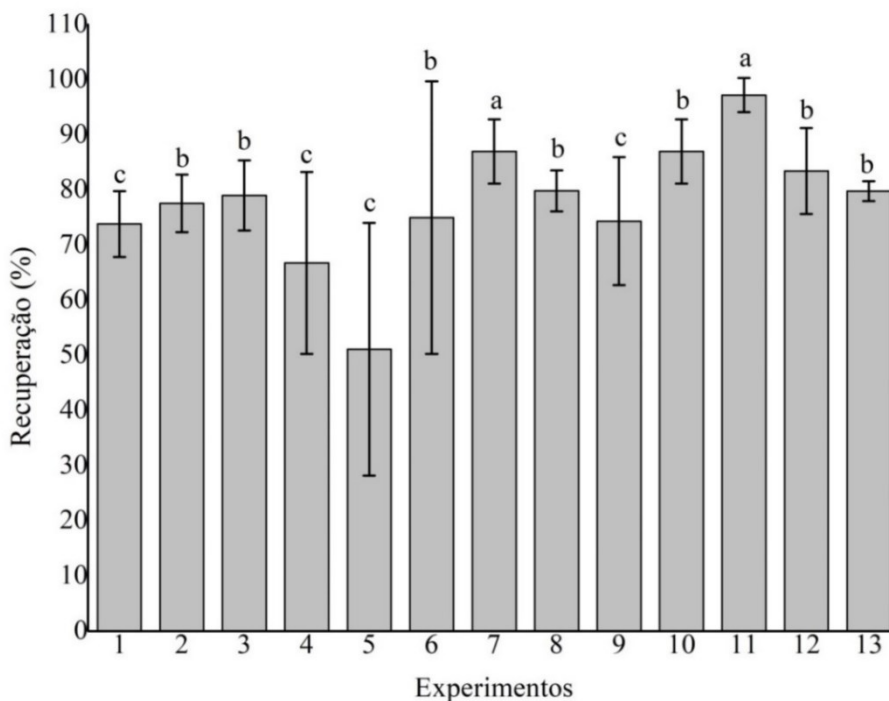
Os *clean up* empregando PSA e C18 apresentaram resultados semelhantes, usando 50 ou 100 mg e resultados inferiores usando 25 mg. Por isso, para as próximas etapas deste estudo foi escolhido 50 mg de PSA por ter apresentado um cromatograma com menor quantidade de interferentes e não reduzir o sinal do dinotefuran (FIGURA 4.2.3 e FIGURA4.2.4(e)).

Estudo anterior revelou que o PSA foi o melhor sorvente para *clean up* em análises de neonicotinoides em solo (ZHOU, YING *et al.*, 2018). Porém, em outro estudo que teve como objetivo determinar o dinotefuran em solo e pepino, o C18 foi escolhido como melhor sorvente para *clean up* (FAROUK *et al.*, 2016).

4.2.3.3 Otimização ESL-PBT

Neste estudo foram otimizados os parâmetros: tempo de congelamento, acidificação da fase extratora, força iônica pela adição de NaCl, massa de amostra e volume de água adicionada à amostra, para extração do dinotefuran no solo (Tabela 3). As porcentagens de recuperação obtidas para o dinotefuran nos 13 ensaios são apresentados na (FIGURA 4.2.5).

Figura 4.2.5 - Taxa de recuperação do dinotefuran usando diferentes condições de extração na ESL-PBT. Letras iguais apresentam médias de recuperação iguais pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Ensaios conforme a Tabela 4.2.3.



O dinotefuran apresentou baixas recuperações e elevados desvios padrão relativos (DPR) nos experimentos 4, 5 e 6 (FIGURA 4.2.5). Isso ocorreu provavelmente devido a problemas no congelamento, ocasionado pelo menor tempo de congelamento no experimento 4 (0,5 horas) e à adição de 0,2 g de cloreto de sódio nos experimentos 5 e 6.

Os resultados mostraram que os ensaios 7 e 11 promoveram maior recuperação de dinotefuran em amostras de solo. Porém, o ensaio 7 demanda maior tempo de congelamento e mais de um reagente. Sendo assim, o ensaio 11 foi escolhido, pois foi mais simples e econômico, utilizando apenas ACN como fase extratora e demandando apenas 1 h para o congelamento completo da matriz.

A solubilidade do dinotefuran em água a 25 °C é 39,8 g L⁻¹, o que contribui para a menor transferência das moléculas deste inseticida da matriz solo para a fase extratora. Por isso, foi observado no ensaio 11 que a redução na quantidade de água adicionada no método (2 mL) melhorou a extração do analito. Além disso, a redução

da água adicionada à amostra elevou a relação entre fase extratora /água, o que também auxiliou no processo de extração.

A maior proporção de solvente orgânico também se mostrou mais eficiente na extração de organoclorados em amostras de água por microextração líquido-líquido dispersiva (AGO *et al.*, 2023), para neonicotinoides, carbamatos e fenil pirazole em extratos vegetais pelo método QuEChERS (MOU *et al.*, 2023), e para fármacos e pesticidas de produtos da aquacultura pelo método QuEChERS (KIM, KIHWAN *et al.*, 2023).

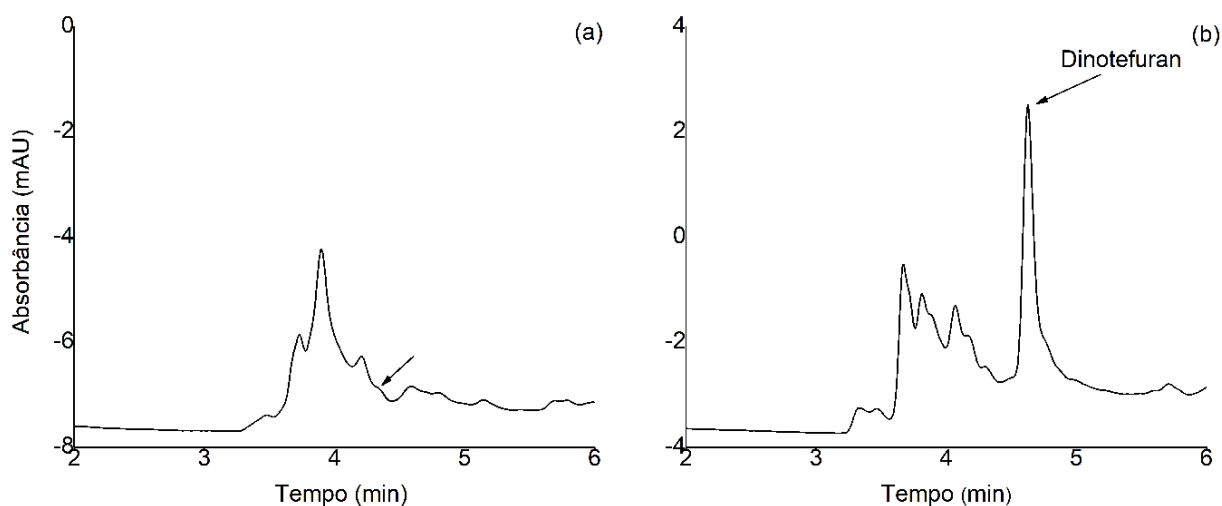
Após a etapa de otimização das condições cromatográficas e de extração, seguiu-se para a etapa de validação seguindo as recomendações do (SANTE, 2019).

4.2.3.4 Validação do Método

4.2.3.4.1 Seletividade

O método foi considerado seletivo, pois não ocorreu a co-eluição do dinotefuran com nenhum pico interferente no tempo de retenção de 4,62 minutos (FIGURA 4.2.6).

Figura 4.2.6 - Cromatogramas do extrato da matriz solo, livre de dinotefuran (a) e no extrato da matriz do solo fortificado com dinotefuran na concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ (b). Condições cromatográficas: Kinetex, 100 A (150x 4,6 mm, $5\mu\text{m}$), vazão $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, temperatura $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $\lambda = 270 \text{ nm}$, fase móvel: ACN 0,1% de ácido fórmico (A) e Água 0,1% de ácido fórmico (B); em gradiente.



4.2.3.4.2 LD e LQ

Os valores de LD e LQ alcançados neste estudo são apresentados na Tabela 4.2.5. O LQ de $15 \mu\text{g kg}^{-1}$ está dentro da faixa dos limites máximos de resíduos (LMRs) permitidos para dinotefuran pela (ANVISA, 2021) com valores de 10 a $600 \mu\text{g kg}^{-1}$ para as culturas de algodão, amendoim, arroz, aveia, batata, café, cana-de-açúcar, centeio, cevada, citros, ervilha, feijões, grão-de-bico, lentilha, milho, soja, sorgo, tomate, trigo e triticales.

As legislações nacionais e internacionais não estabelecem LMR para dinotefuran no solo. Entretanto, a (EPA; CENTER FOR ENVIRONMENTAL ASSESSMENT, 2011) admite a ingestão acidental e involuntária de solo e ou poeira, sendo os valores máximos aceitáveis de 50 e 200 mg por dia, para adultos e crianças, respectivamente. Neste cenário, estudo anterior revelou que a ingestão máxima de dinotefuran via consumo de solo seria de $17,8 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ para crianças e de $4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ para adultos, baseado em máximas dosagens de aplicação sob relva domiciliar (EPA; PESTICIDE PROGRAMS, 2006).

O consumo diário encontrado para neonicotinoides em regiões de elevadas

aplicações agrícolas, incluindo ingestão alimentar, ingestão de partículas de solo e inalação, foi de $1,2 \times 10^{-4}$ mg kg peso vivo⁻¹ dia⁻¹ para adultos e $2,2 \times 10^{-4}$ mg kg peso vivo⁻¹ dia⁻¹ para crianças (GU *et al.*, 2023; YU, ZIMIN *et al.*, 2021).

Para outros inseticidas como o Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT), Dieldrin e Endrin, a legislação brasileira (Resolução CONAMA nº 420 de 2009) tem LMRs no solo na faixa de 200 a 5000 µg kg⁻¹. Portanto, o LQ encontrado para o dinotefuran é inferior ao estabelecido para outros pesticidas. Demonstrando o potencial deste método para monitoramento de dinotefuran no solo.

Tabela 4.2.5 - Resultados dos parâmetros de validação da metodologia ESL-PBT em amostras de solo

Faixa de Linearidade (µg Kg ⁻¹)	R ²	Media recuperação ± DPR (%)			LD (µg Kg ⁻¹)	LQ (µg Kg ⁻¹)
		15,0 µg Kg ^{-1a}	90,0 µg Kg ^{-1b}	115,0 µg Kg ^{-1a}		
15.0 – 140	0,9955	87,84 ± 1,36	92,88 ± 8,44	83,38 ± 1,26	10,00	15,0
Equação		Y = 67980,8X – 132289,8				

^a Media de três repetições; ^b Media de sete repetições; R²: Coeficiente de determinação; DPR: Desvio padrão relativo; LQ: limite de quantificação; LD: limite de detecção; Y= área cromatográfica do pico do dinotefuran; X = Concentração de dinotefuran no extrato da matriz fortificada.

Os valores de LD e LQ encontrados neste estudo são similares aos encontrados em outros trabalhos. Em estudo similar usando QuEChERS no preparo de amostras seguida pela análise por CLAE-DAD para determinação do dinotefuran, foram encontrados LD de 20 µg kg⁻¹ e LQ 80 e 70 µg kg⁻¹ para o solo (CHEN, XIU *et al.*, 2015). Em um experimento conduzido no Egito, usando o método QuEChERS no preparo de amostras e análise por CLAE-DAD para determinar dinotefuran em solo, foram encontrados LD de 10 µg Kg⁻¹ e LQ de 30 µg kg⁻¹ (FAROUK *et al.*, 2016). Por outro lado, estudo anterior atingiu o LD de 0,03 e LQ e 0,11 µg Kg⁻¹ para a determinação de dinotefuran no solo, porém empregado o método QuEChERS seguida pela análise por LC MS/MS (ZHOU, YING *et al.*, 2018).

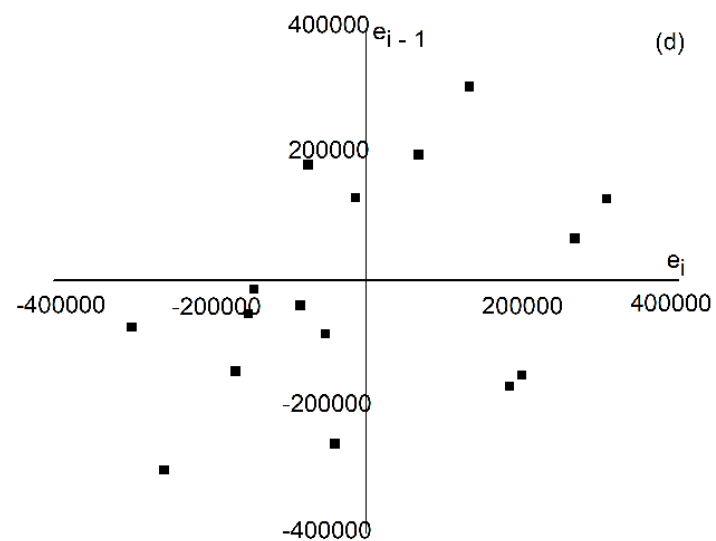
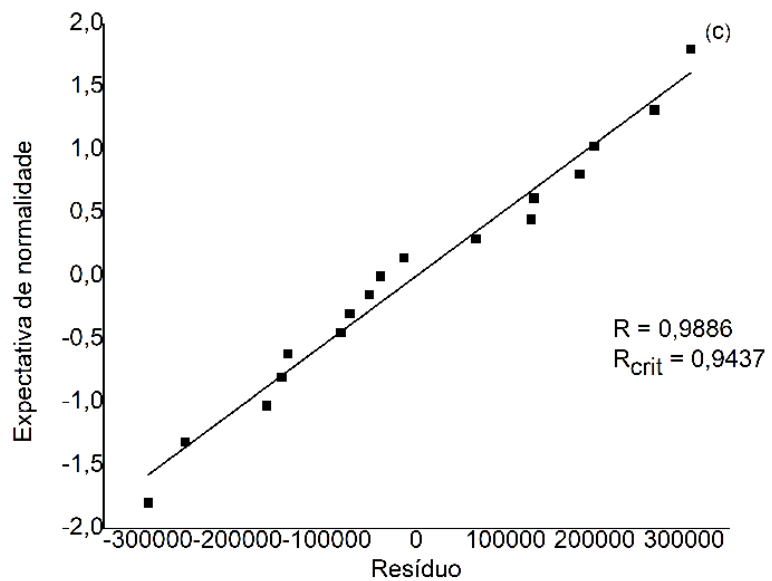
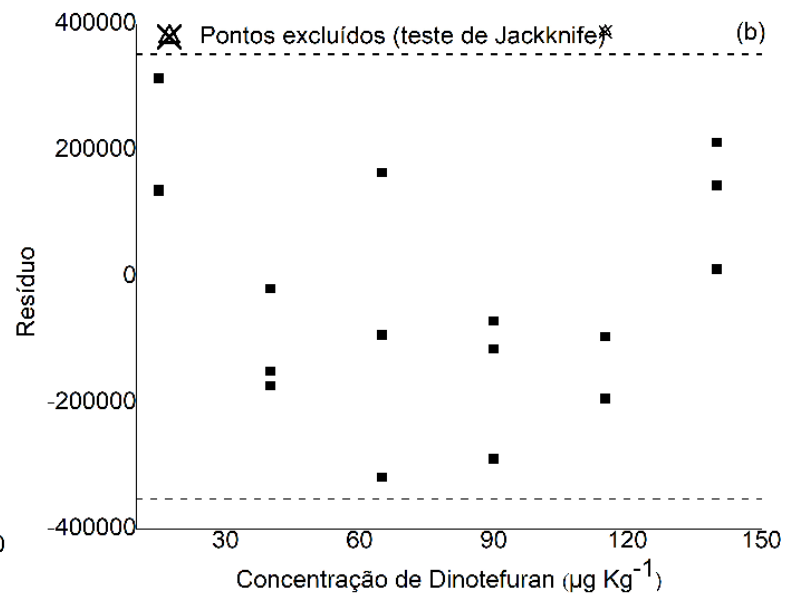
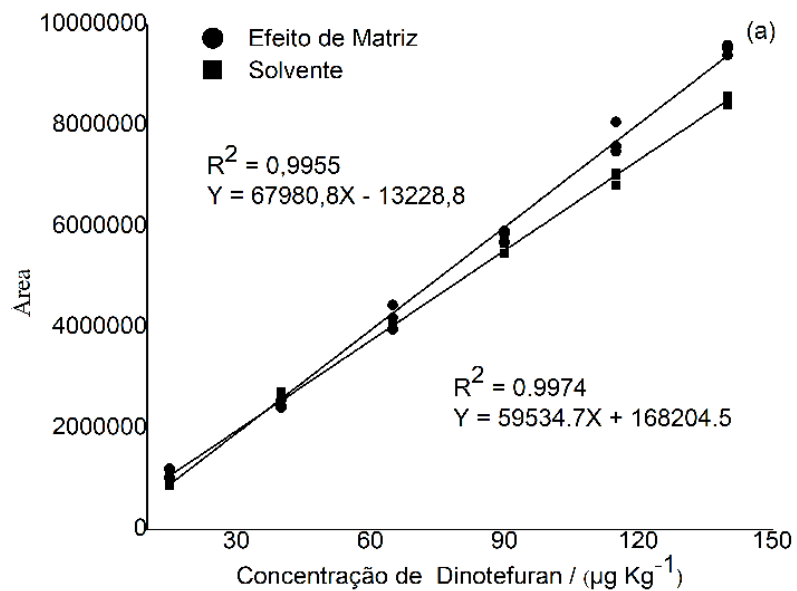
4.2.3.4.3 Precisão e exatidão

Os resultados de precisão e exatidão obtidos são apresentados na Tabela 4.2.5. A precisão foi confirmada por valores de RSD de 3,6% abaixo do valor de aceitabilidade de 20%. Já a exatidão foi confirmada pelos valores de recuperação encontrados entre 85,44 e 89,72%, dentro da faixa aceitável de 70 a 120%, seguindo as recomendações (SANTE, 2019).

4.2.3.4.4 Linearidade

A linearidade foi validada pela plotagem de curva das áreas do pico do dinotefuran em função dos seis níveis de concentração de dinotefuran no extrato da matriz fortificada, com três repetições cada (FIGURA 4.2.7).

Figura 4.2.7 - Linearidade do método otimizado para o solo Curvas analíticas da solução de dinotefuran em solvente e extrato da matriz (a). Resíduos da regressão linear para dinotefuran (b). Normalidade dos resíduos da regressão para dinotefuran (c). Independência dos resíduos da regressão para dinotefuran (d). e_i : resíduo; R^2 : coeficiente de determinação; R: coeficiente de correlação do teste de Ryan-Joiner; d: Estatísticas de Durbin-Watson



Os valores de inclinação, interseção e coeficiente de determinação (R^2) podem ser observados na Tabela 4.2.5 e na Figura 4.2.7 (a). Os valores *outliers* foram analisados pelo teste de Jackknife, sendo necessária a exclusão de um ponto (FIGURA 4.2.7 (b)).

Os resíduos da regressão linear apresentaram distribuição normal pelo teste de Ryan-Joiner, com coeficiente de correlação (0,9886) maior que o coeficiente de correlação crítica (0,9437) (Figura 4.2.7 (c)). Também houve homocedasticidade dos resíduos, confirmada pelo teste de Brown-Forsythe: t_L (0,0693) < $t_{crítico}$ (2,1200). O teste de Durbin-Watson demonstrou a independência dos resíduos da regressão que estão distribuídos aleatoriamente nos quatro quadrantes (Figura 4.2.7 (d)). A análise de variância (ANOVA) demonstrou que a regressão foi significativa (valor-p < 0,01) e o desvio da linearidade foi não significativo (valor-p < 0,05), confirmando que o método dos quadrados mínimos ordinários foi adequado para estimar os coeficientes de inclinação, intercepto e o R^2 . Os procedimentos estatísticos da linearidade seguiram as recomendações de (BAZILIO *et al.*, 2012; DE SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, 2005).

4.2.3.4.5 Efeito de matriz

O efeito de matriz foi calculado comparando as inclinações das curvas analíticas do dinotefuran preparado no extrato do solo e em acetonitrila (Figura 7 (a)). O efeito de matriz calculado foi de 14,18%, indicando um aumento da resposta cromatográfica do dinotefuran causado pelo solo. Trabalhos similares têm mostrado efeitos de matriz do solo para o dinotefuran e outros neonicotnoides próximos aos encontrados neste estudo.

Para determinações de dinotefuran em amostras de solo, foi encontrado efeito de matriz de 9,74% e para outros neonicotnoides o efeito de matriz do solo foi entre 9,81 e 12,29%, utilizando o método QuEChERS (FAROUK *et al.*, 2016). Porém, em estudo realizado na china foi constatada supressão na área de neonicotnoides causados pela matriz solo na faixa de -0,28 a -27,88%, sendo o efeito de matriz do dinotefuran de -9,63% (ZHOU, YING *et al.*, 2018).

O mecanismo exato de redução ou aumento da área cromatográfica do analito, causado pela matriz é desconhecido (RAHMAN *et al.*, 2015). Porém, acredita-se que esse fenômeno esteja associado ao tipo de matriz e à eficiência da etapa de preparação da amostra (FAROUK *et al.*, 2016). Nesse sentido a presença de substâncias endógenas, orgânicas ou inorgânicas presentes na amostra e recuperadas junto ao extrato e a possível contaminação da mostra nas etapas de preparo, são apontadas como causadoras do efeito de matriz (ANTIGNAC *et al.*, 2005).

Para o solo, a textura (teor de Argila, silte e areia) e o teor de matéria orgânica estão intimamente ligados a presença de compostos desconhecidos que poderiam ter grande influência no efeito de matriz (ŁOZOWICKA; RUTKOWSKA; JANKOWSKA, 2017). Dessa foram análises realizadas em solos de diferentes texturas provavelmente apresentaram diferentes efeitos de matriz. Sendo de acréscimo como ocorrido no presente trabalho e em (FAROUK *et al.*, 2016), ou de supressão da área de pico como encontrado por (ZHOU, YING *et al.*, 2018). Sobretudo, os efeitos de matriz encontrados para o solo neste estudo podem ser considerados baixos (ECONOMOU *et al.*, 2009).

4.2.3.5 Determinação do dinotefuran em amostras reais

Dinotefuran não foi encontrado nas 19 amostras de solo coletadas na cidade de Poço Fundo Minas Gerais, indicando a não ocorrência do inseticida ou a ocorrência em concentrações abaixo do LD e LQ. O dinotefuran tem estabilidade média (50 a 100 dias ao abrigo da luz) e elevada foto degradação (7 a 8 dias) APVMA (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority 2015). Além disso, tem reduzida interação com partículas de solo, o que pode ter contribuído para a sua não detecção.

Em investigação sobre vários inseticidas neonicotinoides em solos de áreas urbanas na China, apenas o flonicamide e nitenpyram não foram detectados, e os autores atribuíram esse fato ao não uso desses inseticidas nas áreas de teste e o menor registro desse produto no país (ZHOU, YING *et al.*, 2018).

O dinotefuran foi o neonicotnoide mais detectado nas flores das lavouras de algodão na China nos anos de 2020 e 2021, com frequência de 24,5% das amostras, e concentração média de 25,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ nos estames das flores (WU *et al.*, 2022).

Em um estudo realizado na França, onde o dinotefuran tem permissão para uso apenas em produtos veterinários, foi detectado este inseticida em pássaros na ordem de 2,14 a 9,10 ng L^{-1} no inverno de 2020/2021 e 3,32–16,61 ng L^{-1} no inverno de 2021/2022 (FUENTES *et al.*, 2023).

Para solos em áreas urbanas na China, o dinotefuran foi encontrado em apenas uma amostra coletada em um parque do cinturão verde, na concentração de 1,35 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (ZHOU, YING *et al.*, 2018).

4.2.4 Conclusão

A ESL-PBT seguida pela análise por CLAE-DAD pode ser considerada uma alternativa eficiente para o monitoramento do dinotefuran no solo, pois atendeu todos os parâmetros de validação, além de se mostrar como método de simples execução, eficiente, rápido e econômico. O dinotefuran não foi detectado em amostras de solo colhidas em áreas de produção agrícola, o que pode ser atribuído a recente autorização de uso desse defensivo no Brasil e ao reduzido uso desse produto.

4.2.5 Referências

AGO, K. A. *et al.* Effervescent powder-assisted floating organic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organochlorine pesticides in water by GC–MS. **Heliyon**, v. 9, n. 1, 1 jan. 2023.

AHN, S. *et al.* Development of an isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the accurate determination of neonicotinoid pesticides, imidacloprid, clothianidin, and thiamethoxam in kimchi cabbage reference materials. **Journal of Analytical Science and Technology**, v. 13, n. 1, 1 dez. 2022.

AMBROSIO, I. S. *et al.* Development and validation of a solid–liquid extraction with low-temperature partitioning method for the determination of fipronil in turtle eggshell. **Microchemical Journal**, v. 178, n. December 2021, p. 107393, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107393>>.

ANTIGNAC, J. P. *et al.* The ion suppression phenomenon in liquid chromatography-mass spectrometry and its consequences in the field of residue analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 529, n. 1- 2 SPEC. ISS., p. 129–136, 2005.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). *Monografias de agrotóxicos autorizadas D55 Dinotefuran, 2021.* Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/d/4307json-file-1/view>>. Acesso em: 26 nov. 2022.

APVMA Product Starkle 200 SG Insecticide. 2015, KINGSTON ACT 2604 Australia: [s.n.], 2015. p. 47. Disponível em: <www.apvma.gov.au>.

BAZILIO, F. S.; BOMFIM, M. V. J.; ALMEIDA, R. J.; ABRANTES, S. M. P. Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. **Revista Analytica**, v. 59, p. 60–67, 2012.

CHEN, X. *et al.* Enantioselective degradation of chiral insecticide dinotefuran in greenhouse cucumber and soil. **Chirality**, v. 27, n. 2, p. 137–141, 2015.

CHENG, Y. *et al.* Wheat straw pyrochar more efficiently decreased enantioselective uptake of dinotefuran by lettuce and dissemination of antibiotic resistance genes than pyrochar in an agricultural soil. **Science of the Total Environment**, v. 880, 1 jul. 2023.

DE FREITAS, J. F. *et al.* Evaluation of imazalil dissipation/migration in postharvest papaya using low-temperature partition extraction and GC–MS analysis. **Food Chemistry**, v. 418, n. March, 2023.

DE SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A. . procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, p. 25–35, 2005.

ECONOMOU, A. *et al.* Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5856–5867, 1 ago. 2009.

EPA, US.; CENTER FOR ENVIRONMENTAL ASSESSMENT, N. *Update for Chapter 5 of the Exposure Factors Handbook Soil and Dust Ingestion.* . [S.l: s.n.], 2011.

EPA, US.; OF PESTICIDE PROGRAMS, O. *US EPA - Pesticides - Fact Sheet for Benthialdicarb-isopropyl.* . Washington, DC: 2004. , 2006

FAROUK, M. *et al.* Simultaneous determination of three neonicotinoid insecticide residues and their metabolite in cucumbers and soil by QuEChERS clean up and liquid chromatography with diode-array detection. 2016. Disponível em: <www.rsc.org/methods>.

FREITAS, Lucas Victor Pereira De *et al.* Determination of DDT in honey samples by liquid-liquid extraction with low-temperature purification (LLE-LTP) combined to

HPLC-DAD. **Analytical Methods**, v. 13, n. 16, p. 1955–1964, 28 abr. 2021.

FUENTES, E. *et al.* Neonicotinoids: Still present in farmland birds despite their ban. **Chemosphere**, v. 321, 1 abr. 2023.

GU, S. *et al.* The distribution and human health risk assessment of eight neonicotinoid residues in agricultural soils from four provinces, south China. **Chemosphere**, v. 322, p. 138143, maio 2023. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653523004101>>.

HAM, H. J. *et al.* Residues and Uptake of Soil-Applied Dinotefuran by Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and Celery (*Apium graveolens* L.). **Agriculture (Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 1–20, 2022.

INMETRO. Guidance in validation of analytical methods. *Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia*, p. 31, 2016. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf>.

KIM, J. *et al.* Concentrations and distributions of neonicotinoids in drinking water treatment plants in South Korea. **Environmental Pollution**, p. 117767, 9 jul. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026974912101349X>>. Acesso em: 15 jul. 2021.

LIU, X. *et al.* Photocatalytic degradation of dinotefuran by layered phosphorus-doped carbon nitride and its mechanism. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 414, p. 113287, 1 jun. 2021.

LOPES, J. C. S.; SILVÉRIO, F. O.; SICUPIRA, L. C. Extraction Method for Determining Florpyrauxifen-benzyl Herbicide in Soil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 2, p. 302–308, 2023.

ŁOZOWICKA, B.; RUTKOWSKA, E.; JANKOWSKA, M. Influence of QuEChERS modifications on recovery and matrix effect during the multi-residue pesticide analysis in soil by GC/MS/MS and GC/ECD/NPD. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 8, p. 7124–7138, 1 mar. 2017.

MESQUITA, T. C. R. *et al.* Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low temperature. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 53, n. 3, p. 199–206, 4 mar. 2018.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE –Conselho Nacional do Meio Ambiente(CONAMA). RESOLUÇÃO No 420, DE 28 DE DEZEMBRO DE 2009.

MOU, B. *et al.* On-site Simultaneous Determination of Neonicotinoids, Carbamates, and Phenyl Pyrazole Insecticides in Vegetables by QuEChERS Extraction on Nitrogen and Sulfur co-doped Carbon Dots and Portable Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1689, 25 jan. 2023.

OYA, N. *et al.* Cumulative exposure assessment of neonicotinoids and an investigation into their intake-related factors in young children in Japan. **Science of The Total Environment**, v. 750, p. 141630, 1 jan. 2021.

PIHLSTROM, T. *et al.* Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. *Sante/11813/2017*, p. 42, 2018. Disponível em: <https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11813_2017-fin.pdf>.

RAHMAN, M. M. *et al.* Consequences of the matrix effect on recovery of dinotefuran and its metabolites in green tea during tandem mass spectrometry analysis. **Food Chemistry**, v. 168, p. 445–453, 1 fev. 2015.

ROHRBACHER, A. *et al.* Probing Matrix Effects on the Heterogeneous Photochemistry of Neonicotinoid Pesticides, Dinotefuran and Nitenpyram. **ACS Earth and Space Chemistry**, v. 5, n. 5, p. 1196–1209, 30 abr. 2021.

SILVA, G. L. O. . *et al.* Optimization and Validation of the Miniaturized Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Purification (SLE-LTP) Method for Determining Fluopyram in Sandy, Clayey and Medium-Textured Soil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 34, n. 4, p. 582–589, 2023.

SILVEIRA, T. M. D. *et al.* Study of Analytical Techniques to Determine Chlorpyrifos in the Surface Waterways of the Rural Zone of Ouro Branco, Brazil: A Case Study. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 17, p. 227;335, 2016.

SOARES, S. B. *et al.* Extraction method for determining dinotefuran insecticide in water samples. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 58, n. 5, p. 413–425, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03601234.2023.2220638>>.

TAIRA, K. *et al.* Urinary concentrations of neonicotinoid insecticides were related to renal tubular dysfunction and neuropsychological complaints in Dry-zone of Sri Lanka. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-021-01732-2>>.

THOMPSON, D. A.; HRUBY, C. E.; *et al.* Occurrence of neonicotinoids and sulfoxaflor in major aquifer groups in Iowa. **Chemosphere**, v. 281, p. 130856, 1 out. 2021.

THOMPSON, D. A. *et al.* Prevalence of neonicotinoid insecticides in paired private-well tap water and human urine samples in a region of intense agriculture overlying vulnerable aquifers in eastern Iowa. **Chemosphere**, v. 319, 1 abr. 2023.

THOMPSON, D. A.; KOLPIN, D. W.; *et al.* Prevalence of neonicotinoids and sulfoxaflor in alluvial aquifers in a high corn and soybean producing region of the Midwestern United States. **Science of The Total Environment**, v. 782, p. 146762, 15 ago. 2021.

WATANABE, E. *et al.* Organic Solvent-Saving Sample Preparation for Systematic Residue Analysis of Neonicotinoid Insecticides in Agricultural Products Using Liquid

Chromatography–Diode Array Detection. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 245–254, 1 jan. 2016.

WATANABE, E.; BABA, K.; MIYAKE, S. Analytical evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for neonicotinoid dinotefuran for potential application to quick and simple screening method in rice samples. **Talanta**, v. 84, n. 4, p. 1107–1111, 30 maio 2011.

WU, C. *et al.* Residue status and risk assessment of neonicotinoids under real field conditions: Based on a two-year survey of cotton fields throughout China. **Environmental Technology & Innovation**, v. 28, p. 102689, 1 nov. 2022.

XIE, Y.; HOU, X. Molecular Assessment of the Toxic Mechanism of the Latest Neonicotinoid Dinotefuran with Glutathione Peroxidase 6 from *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 638–645, 5 jan. 2021.

XU, M. *et al.* Profiles of neonicotinoid insecticides and characteristic metabolites in paired urine and blood samples: Partitioning between urine and blood and implications for human exposure. **Science of The Total Environment**, v. 773, p. 145582, 15 jun. 2021.

XU, S. *et al.* Biochemical toxicity and transcriptome aberration induced by dinotefuran in *Bombyx mori*. **Environmental Pollution**, v. 307, p. 119562, 15 ago. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S026974912200776X>>. Acesso em: 9 set. 2022.

YIN, J. *et al.* The fate, acute, and subchronic risks of dinotefuran in the water-sediment system: A systematic analysis at the enantiomer level. **Journal of Hazardous Materials**, v. 443, 5 fev. 2023.

YU, B. *et al.* Effects on soil microbial community after exposure to neonicotinoid insecticides thiamethoxam and dinotefuran. **Science of the Total Environment**, v. 725, 10 jul. 2020.

YU, Z. *et al.* Dinotefuran alters Collembola-fungi-bacteria interactions that control mineralization of maize and soil organic carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v. 418, p. 126391, 15 set. 2021.

ZHANG, C. *et al.* Contamination of neonicotinoid insecticides in soil-water-sediment systems of the urban and rural areas in a rapidly developing region: Guangzhou, South China. **Environment International**, v. 139, p. 105719, 1 jun. 2020.

ZHANG, Q. *et al.* Toxicological Effect and Molecular Mechanism of the Chiral Neonicotinoid Dinotefuran in Honeybees. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 2, p. 1104–1112, 30 dez. 2022.

ZHOU, Y. *et al.* Development of a fast and sensitive method for measuring multiple neonicotinoid insecticide residues in soil and the application in parks and residential areas. **Analytica Chimica Acta**, v. 1016, p. 19–28, 3 ago. 2018.

5 CONCLUSÃO

As condições cromatográficas encontradas neste estudo foram: volume de injeção de 10 μL , coluna Kinetex C 18 100 A (150 x 4,6 mm, 5 μm) (Sta clair, EUA). Temperatura da coluna 20 $^{\circ}\text{C}$, vazão de fase móvel = 0,3 mL min^{-1} , comprimento de onda 270nm. A composição da fase móvel foi ACN com 0,1% de ácido fórmico (A) e Água com 0,1% de ácido fórmico (B); em gradiente: 50% A (0 min), elevação linear de 100% A (0–7 min), permaneceu em 100% A (7–8,5min), retornando para 50% A (8,5–8,6 min), mantido até o tempo final (13 min).

As metodologias de extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura e extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura seguidas por análise em CLAE–DAD foram rápidas e eficientes para análise de resíduos de dinotefuran em amostras de solo e água. Para a matriz solo, foi necessário a inclusão de uma etapa de *clean up* com uso de 50 mg do adsorvente PSA.

O dinotefuran se mostrou persistente em amostras de água mantidas sobre proteção da luz, com meia vida superior a 130 dias. Porém, com meia vida de aproximadamente 7 dias em amostras de água sob incidência solar direta.

Não foi possível detectar contaminação por dinotefuran em amostras de solo ou água coletadas em região de intensa atividade agrícola. O que remete a ausência desse contaminante nas amostras ou a presença em concentrações abaixo dos limites de detecção e quantificação, alcançados nestes métodos.