

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUOS PARA ANÁLISE DE PRAGUICIDAS  
EM MÚSCULO BOVINO POR LC-MS/MS

JENNIFER MATTEDI GOBBI

Belo Horizonte

2016

JENNIFER MATTEDI GOBBI

VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUOS PARA ANÁLISE DE PRAGUICIDAS  
EM MÚSCULO BOVINO POR LC-MS/MS

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Orientador: Profa. Dra. Marília Martins Melo.

Co-Orientador: Prof. Dr. Benito Soto Blanco.

Belo Horizonte

2016





## **DEDICATÓRIA**

*Dedico esse trabalho ao meu marido André e aos meus amados filhos, Maria Thereza e Miguel.*

“A arte de se vencer se aprende nas derrotas”  
*Simón Bolívar*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela fé que me mantém viva e com saúde, perseverança e oportunidade de concluir este trabalho.

Ao meu marido André, pelo apoio, incentivo, compreensão e paciência durante toda a duração deste trabalho.

Aos meus filhos que suportaram bravamente minha ausência física e psicológica e sempre me acolheram com muito amor.

Aos meus pais que mesmo longe me apoiaram na realização desse trabalho.

À professora Marília Martins Melo pela paciência e por ter me conduzido desde o mestrado até o doutorado com a calma necessária para me ajudar a transpor os momentos difíceis; pelo exemplo, excelente orientação, apoio, amizade e compreensão diante de todas as minhas falhas e limitações.

Ao professor Benito Soto Blanco pela co-orientação, disponibilidade e paciência.

À professora Kelly Moura Keller com suas correções sempre pertinentes.

Ao Fabiano Aurélio da Silva Oliveira por toda disponibilidade.

À professora Neide Judith Faria de Oliveira que me auxiliou imensamente com as correções e sugestões.

À Marina Guimarães Ferreira e Lilian de Paula Gonçalves Reis pela grande ajuda na extração das amostras.

À todas as minhas amigas, que acompanharam de perto minha caminhada durante todo esse percurso.

Aos coordenadores do curso de pós-graduação em Ciência Animal, meus sinceros agradecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais (REUNI) pela bolsa de estudos de Doutorado.

A todas as pedras que tropecei, pois fizeram o meu caminhar mais firme.

---

LISTA DE FIGURAS

---

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Fluxograma do método QuEChERS   | 35 |
| Figura 2 - Diagrama ilustrativo das principais partes de um cromatógrafo moderno   | 36 |
| Figura 3 - Componentes do espectrômetro de massas  | 37 |
| Figura 4 - Íons formados no processo ESI conduzidos para o analisador pelo campo elétrico aplicado   | 38 |
| Figura 5 - Analisador do tipo quadrupolo   | 38 |
| Figura 6 - Esquema de um espectrômetro de massas sequencial triplo quadrupolo.   | 38 |
| Figura 7 - Marcha analítica do método QuEChERS modificado para extração de agrotóxicos por LC-MS/MS em músculo bovino                                    | 47 |
| Figura 8 - Amostra pós centrifugação e na centrifuga   | 48 |
| Figura 9 - Equipamento LC-MS/MS  | 48 |
| Figura 10 - Cromatograma obtido a partir de um ensaio de fortificação contendo todos os analitos na concentração de $0,01\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . | 53 |
| Figura 11 - Imagem em <i>print screen</i> da análise da curva de calibração para o primeiro dia de ensaio para o analito aletrina                        | 56 |



---

## LISTA DE TABELAS

---

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Classificação dos países produtores de carne bovina   | 23 |
| Tabela 2 - Classificação dos países consumidores de carne bovina de 2015   | 23 |
| Tabela 3 - Valores absolutos e relativos (%) de animais abatidos em 2014 no Brasil por estados   | 24 |
| Tabela 4 - Distribuição regional do rebanho bovino em Minas Gérias   | 24 |
| Tabela 5 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com os efeitos danosos à saúde humana   | 26 |
| Tabela 6 - Tolerância máximas permitidas para as intensidades relativas de íons utilizando diversas técnicas analíticas de espectrometria de massas  | 36 |
| Tabela 7 - Recomendações de tolerâncias máximas permitidas para intensidades relativas de íons utilizando diversas técnicas espectrométricas   | 41 |
| Tabela 8 - Parâmetros otimizados da fonte de ionização por ESI e do gás de colisão   | 45 |
| Tabela 9 - Agrotóxicos analisados, classes de uso, finalidade e fórmula molecular  | 48 |
| Tabela 10 - Gradiente de eluição para o método multirresíduos  | 51 |
| Tabela 11 - Preparo das amostras fortificadas  | 55 |
| Tabela 12 - Tempos de retenção (TR), condições operacionais do espectrômetro de massas e transições MRM (1 <sup>a</sup> transição/íon precursor e a 2 <sup>a</sup> transição/íon produto) utilizadas | 84 |

---

---

## LISTA DE QUADROS

---

|   |    |
|---|----|
| Quadro 1 - Principais categorias de agrotóxicos quanto à natureza da praga combatida e ao grupo químico a que pertencem   | 26 |
| Quadro 2 - Classe dos piretróides   | 28 |
| Quadro 3 - Plano da cadeia de carnes bovinas seus analitos em músculo e LMR para grupos de Organofosforados, Piretróides, Pirazóis, Neonicotinoides, Carbamatos e Benzimidazóis   | 75 |
| Quadro 4 - Agrotóxicos analisados, classes de uso, finalidade e fórmula molecular   | 77 |
| Quadro 5 - Recuperações médias (% , n=6), coeficientes de variação (CV%), incerteza expandida do método, limites de detecção, limites de quantificação do método, obtidos em leite, e valores de LMR para cada agrotóxico | 58 |
| Quadro 6 - Agrotóxicos não validados pelo método  | 63 |
| Quadro 7 - Agrotóxicos que atenderam aos requisitos para validação em método qualitativo  | 64 |

---

---

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

|               |  |
|---------------|--|
| 2,4 D         | 2,4 Ácido diclorofenoxiacético                                       |
| 2,4,5 T 2,4,5 | Ácido Triclorofenoxiacético  |
| A             | Acaricida  |
| ACh           | Acetilcolina   |
| AChE          | Acetilcolinesterase  |
| ANVISA        | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                             |
| BHC           | Benzeno hexaclorociclo-hexano  |
| BTC           | Barreiras Técnicas Comerciais  |
| CAC/GL        | <i>Codex Alimentarius guidelines</i>                                 |
| CAC/RCP       | <i>Codex Alimentarius</i> código de práticas de higiene para a carne |
| CC            | Corrente continua  |
| CCD           | Cromatografia em camada delgada                                      |
| CPE           | <i>Cloud point extraction</i>  |
| DDP           | Diferença de potencial   |
| DDT           | Diclorodifeniltricloroetano  |
| DL            | Dose letal   |
| DP            | <i>Declustering potential</i>  |
| EMBRAPA       | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária                          |
| EPA           | <i>Environmental Protection Agency</i>                               |
| ESI           | <i>Electrospray</i>  |
| EUA           | Estados Unidos da América  |
| F             | Fungicida  |
| FAO           | <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>       |
| GC            | <i>Gas chromatography</i> )  |
| H             | Herbicida  |
| I             | Inseticida   |
| LC            | <i>Liquid chromatography</i> (Cromatografia líquida)                 |
| LC-MS/MS      | <i>Liquid chromatography mass spectrometry</i>                       |
| LLE           | <i>Liquid-liquid extraction</i>                                      |

|          |  |
|----------|--|
| LLE-LTP  | <i>Liquid liquid extraction with the low temperature partition technique</i>   |
| LMR      | Limite Máximo de Resíduos  |
| LOD      | Limite de detecção   |
| LOQ      | Limite de quantificação  |
| LPME     | <i>Liquid phase microextraction</i>  |
| MAE      | <i>Microwave-assisted extraction</i>   |
| MAPA     | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento                            |
| MERCOSUL | Mercado Comum do Sul   |
| MIP      | <i>Molecularly imprinted polymers</i>  |
| MRC      | Materiais de referência certificados   |
| MRM      | <i>Multiple reaction monitoring</i>  |
| MSPD     | <i>Matrix solid phase dispersion</i>   |
| m/z      | Relação entre massa e carga  |
| OMC      | Organização Mundial do Comércio  |
| OMS      | Organização Mundial de Saúde   |
| OPAS     | Organização Pan-Americana da Saúde   |
| PLE      | <i>Pressurized-liquid extraction</i>   |
| PNCRC    | Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes                         |
| PND      | Plano Nacional de Desenvolvimento  |
| PSA      | <i>Primary secondary amine</i>   |
| QuEChERS | <i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i>                             |
| R        | Reprodutibilidade  |
| RF       | Rádio frequência   |
| S        | Desvio Padrão  |
| SBSE     | <i>Stir bar sorptive extraction</i>  |
| SIF      | Serviço de Inspeção Federal  |
| SISBOV   | Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina |
| SPME     | <i>Solid phase micro-extraction</i>  |
| SPE      | <i>Solid phase extraction</i>  |

|      |  |
|------|--|
| TBT  | Barreiras Técnicas ao Comércio                 |
| TOF  | <i>Time of flight</i>                          |
| TR   | Tempo de retenção                              |
| U    | Incerteza Expandida                            |
| USDA | <i>United States Department of Agriculture</i> |
| USD  | Dólares  |
| V    | Volts  |
| WHO  | <i>World Health Organization</i>               |

---

## RESUMO

O uso inadequado dos agrotóxicos pode causar vários prejuízos diretos no meio ambiente e nos animais, e indiretos, por exemplo na qualidade de produtos cárneos, devido a suas características de bioacumulação, persistência ambiental e toxicidade. O presente trabalho apresenta os dados obtidos no estudo de desenvolvimento de validação de um método multirresíduos para detecção de 188 agrotóxicos em músculo bovino, de diferentes classes de inseticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas e nematicidas. Utilizando o músculo bovino, esta pesquisa teve como objetivo verificar a eficiência e aplicabilidade do método QuEChERS modificado quanto à extração de resíduos de agrotóxicos, desenvolver e validar metodologia de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos por LC-MS/MS e verificar a presença de agrotóxicos em amostras comerciais. A técnica de escolha para extração foi o QuEChERS com modificação e o equipamento para análise, foi o sistema LC-MS/MS. A validação do método multirresíduos atendeu aos critérios de desempenho propostos pelo Guia de Validação do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Após os devidos ensaios e adequações para validação do método multirresíduo realizado para 188 agrotóxicos em 108 amostras advindas do PNCRC, 171 atenderam aos critérios de aceitação, com recuperação de 70 a 120%, CV menor ou igual a 20% e incerteza expandida inferior a 50%. O limite de quantificação do método foi de 0,01 e 0,025 mg.kg<sup>-1</sup> e o limite de detecção foi de 0,005 mg.kg<sup>-1</sup>. A precisão intermediária do método foi avaliada por meio dos resultados obtidos nos ensaios de recuperação conduzidos nos níveis 0,01; 0,025; 0,05 e 0,10 mg.kg<sup>-1</sup>. Foram analisadas 32 amostras de carne bovina comercial da região noroeste de Belo Horizonte e não foram encontrados os agrotóxicos validados pelo método.

Palavras chave: agrotóxicos, músculo bovino, cromatografia líquida, QuEChERS.

## ABSTRACT

The improper use of pesticides can cause various losses that directly affect the environment and animals. It can also indirectly, affect products such as meat, due to its bioaccumulation characteristics, environmental persistence and toxicity. This paper presents the data obtained in the validation study of a development multi-residues method to detect 188 pesticides in bovine muscle, different classes of insecticides, fungicides, herbicides, miticides and nematicides. Using bovine muscle, this study aimed to verify the efficiency and applicability of the QuEChERS method modified with the extraction of pesticide residues, development and validation detection methods and quantification of pesticide residues by LC-MS / MS and verify the presence of pesticides in commercial samples. The choice for extraction technique was the QuEChERS with modification and the equipment used for analysis, was the LC-MS / MS system. The validation of the method multi-residues met the performance criteria proposed by the Ministry of Agriculture of the Validation Guide, Livestock and Supply. After the appropriate tests and adjustments to validate the multi-residue method, tests were performed for 188 pesticides in 108 samples coming from the PNCRC, 171 met the acceptance criteria, with recovery 70-120% CV less than or equal to 20% and expanded uncertainty of less than 50 %. The quantization limit of the method was 0.01 and 0.025 mg.kg-1 and the detection limit was 0,005 mg.kg-1. Intermediate precision of the method was evaluated by the results obtained and the tests conducted with recovery levels 0.01; 0.025; 0.05 and 0.10 mg.kg-1. We analyzed 32 samples of commercial beef from the northwestern region of Belo Horizonte and have not found the pesticides validated by the method.

Key words: pesticides, liquid chromatography, bovine muscle, QuEChERS.

---

## SUMÁRIO

---

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                               | 19 |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                                | 20 |
| 2.1. Objetivo Geral                                | 20 |
| 2.2. Objetivos Específicos                         | 20 |
| <b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>                    | 20 |
| 3.1. Carne Bovina                                  | 20 |
| 3.2. Segurança Alimentar                           | 22 |
| 3.3. Mercado Interno E Externo Da Carne Bovina     | 22 |
| 3.4. Agrotóxicos                                   | 24 |
| 3.4.1. Inseticidas                                 | 27 |
| 3.4.1.1. Piretróides                               | 27 |
| 3.4.1.2. Organofosforados e carbamatos             | 28 |
| 3.4.2. Fungicidas                                  | 28 |
| 3.4.3. Herbicidas                                  | 29 |
| 3.4.3.1. Triazínicos                               | 30 |
| 3.4.3.2. Derivados da ureia                        | 30 |
| 3.4.4. Acaricidas                                  | 30 |
| 3.4.5. Nematicidas                                 | 30 |
| 3.5. Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos          | 31 |
| 3.5.1. Limites máximos de resíduos                 | 32 |
| 3.6. Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Carne   | 32 |
| 3.6.1. Métodos de extração                         | 34 |
| 3.7. Equipamentos para Determinação de Agrotóxicos | 35 |
| 3.7.1. Cromatografia líquida                       | 35 |
| 3.7.2. Espectrômetro de massas                     | 36 |
| 3.7.2.1. Fontes de ionização                       | 37 |
| 3.7.2.2. Analisadores de massas                    | 38 |



|  |           |
|--|-----------|
| 3.7.2.3. Detectores  | 38        |
| 3.7.3. Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC- MS/MS) | 39        |
| 3.8. Validação de Métodos de Análise   | 39        |
| 3.8.1. Seletividade  | 40        |
| 3.8.1.1. Avaliação da intensidade relativa dos íons e relação sinal/ruído    | 40        |
| 3.8.2. Linearidade   | 41        |
| 3.8.3. Efeito matriz   | 42        |
| 3.8.3.1. Ensaio de fortificação  | 42        |
| 3.8.4. Precisão  | 42        |
| 3.8.4.1. Repetitividade  | 43        |
| 3.8.4.2. Precisão intermediária  | 43        |
| 3.8.4.3. Reprodutibilidade   | 43        |
| 3.8.5. Veracidade  | 43        |
| 3.8.6. Robustez  | 44        |
| 3.8.6.1. Sensibilidade   | 44        |
| 3.8.7. Incerteza de medição  | 44        |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>   | <b>45</b> |
| 4.1. Métodos do Ensaio   | 45        |
| 4.1.1. Reagentes e materiais   | 45        |
| 4.1.2. Equipamentos  | 46        |
| 4.1.3. Padrões analíticos dos agrotóxicos estudados                          | 47        |
| 4.2. Extração de Resíduos de Agrotóxicos                                     | 47        |
| 4.3. Condições Cromatográficas   | 48        |
| 4.3.1. Limite de detecção e quantificação                                    | 49        |

|  |    |
|--|----|
| 4.4. Validação do Método QuECHERS Modificado para Análise e Quantificação de Resíduos de Agrotóxicos em Carne Bovina | 49 |
| 4.4.1. Seletividade  | 49 |
| 4.4.2. Estudos de linearidade e efeito matriz  | 49 |
| 4.4.3. Precisão  | 50 |
| 4.4.4. Veracidade  | 50 |
| 4.4.5. Limite de detecção e quantificação  | 50 |
| 4.4.6. Robustez  | 50 |
| 4.4.7. Incerteza de medição  | 50 |
| 4.4.8. Preparação de pools   | 50 |
| <b>5. RESULTADOS DA VALIDAÇÃO</b>  | 51 |
| 5.1. Validação da Análise Química  | 54 |
| 5.1.1. Seletividade  | 54 |
| 5.1.2. Linearidade e efeito matriz   | 54 |
| 5.1.3. Precisão, veracidade, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)                                | 57 |
| 5.1.4. Robustez  | 62 |
| 5.1.5. Estimativa de incerteza   | 63 |
| 5.2. Resultado das Análises das Amostras de Carnes Comerciais  | 64 |
| <b>6. CONCLUSÃO</b>  | 64 |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>  | 65 |
| <b>ANEXO A</b>   | 75 |
| <b>ANEXO B</b>   | 77 |
| <b>APÊNDICE A</b>  | 84 |

---



## 1. INTRODUÇÃO

O sucessivo crescimento da população mundial e, conseqüentemente, o aumento da demanda por alimentos estimulou o desenvolvimento de sistemas agrícolas de produção cada vez mais eficientes. Neste sentido, a utilização de agrotóxicos durante e após o cultivo tornou-se ferramenta essencial para garantir o desenvolvimento progressivo e a qualidade na produção de gêneros alimentícios. No entanto, nos últimos anos é crescente a preocupação em relação à presença de resíduos nos alimentos, em consequência dos possíveis efeitos adversos à saúde dos seres humanos. Assim, a busca por alimentos saudáveis e livres de contaminantes é inevitável (Queiroz et al., 2012). A carne bovina pode estar sujeita a esse tipo de contaminação, seja por aplicação direta ou outras vias de administração (Brasil, 1999).

Dados sobre a produção de carne no Brasil mostraram que esse setor teve dinamismo intenso nos últimos anos. Entre as carnes, as com maiores taxas de crescimento da produção no período 2009/2010 foram as de frango, com um incremento de 3,64%, e a bovina, cujo crescimento nesse período foi de 2,15% ao ano (Brasil, 2010).

Com o crescimento acelerado do mercado exportador, o MAPA por intermédio da Secretaria de Defesa Agropecuária, responsável por regulamentar e controlar mercadorias de origem animal a serem exportadas, deve atestar a qualidade e segurança destes produtos. Sendo assim, o MAPA, em conjunto com as Secretarias Estaduais de Agricultura, promove ampla fiscalização, determinando à concordância entre a legislação de inspeção industrial e sanitária brasileira e as normas de sanidade exigidas pelo país importador. Para essa fiscalização ser efetiva, foi instituído o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) com o objetivo de inspecionar e monitorar, conforme análise de risco, a presença de substâncias químicas

que podem ser nocivas ao consumidor (Brasil, 2015a,d).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o uso de agrotóxicos no processo de produção agrícola e a conseqüente contaminação da matéria-prima alimentar têm sido preocupação constante no âmbito da saúde pública (ANVISA, 2003). Para alcançar o monitoramento efetivo, o MAPA propôs para os anos de 2013 e 2014 avaliar 290 diferentes tipos de resíduos. Publicou a Instrução Normativa de 13 de julho de 2015, aumentando em 105 o número de agrotóxicos analisados, com ampliação das análises em carne de avestruz, ovos e leite (Brasil, 2015b).

Em uma pesquisa publicada pelo sistema nacional de informações toxicofarmacológicas (SINTOX) com dados de 2011 sobre casos de intoxicação por agrotóxicos foi possível observar que 14% dos casos de intoxicação relatados foram por alimentos (Fiocruz, 2011) o que pode causar certa receio da população no consumo de determinados produtos.

Essa insegurança alimentar sempre esteve presente durante a história do Brasil (Silva et al., 2015b). Segundo Paschoal e Rath (2008), no cenário mundial da produção de alimentos revelou o grande interesse da sociedade quanto à inocuidade do produto final a ser consumido. Os acontecimentos envolvendo a contaminação de alimentos há muito têm despertado a atenção do consumidor, especialmente relacionado aos resíduos de agrotóxicos. Esta situação tem obrigado os países a estabelecerem normas legislativas rígidas para garantir o consumo de alimentos seguros por parte da população (Oliveira, 2011).

Nero et al. (2007) afirma que o maior problema do uso indiscriminado de agrotóxicos refere-se a ingestão dessas substâncias na água ou alimentos, com posterior acúmulo em gordura e músculos, tornando-as presentes na carne bovina. A

aplicação de praguicidas em animais deve obedecer os prazos de carência específicos, pois a ausência de respeito a este quesito pode gerar resíduos.

Métodos analíticos foram desenvolvidos para determinar resíduos de contaminantes em alimentos como ferramenta principal para certificar o correto enquadramento dos produtos da alimentação nas determinações legais. Para estes métodos garantirem segurança dos alimentos, é preciso a normatização de procedimentos. Com o objetivo de assegurar a confiabilidade dos resultados, são delineados procedimentos de validação do processo analítico empregado, como garantia da qualidade das medições químicas, por meio de comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade. É possível desenvolver uma validação de método analítico empregando uma curva analítica matrizada e quatro níveis de fortificação para cada analito nos ensaios segundo as recomendações do Documento SANCO nº 12.571/2013, na diretriz CAC/GL 40-2010 do *Codex Alimentarius*.

Salienta-se a enorme variedade de agrotóxicos disponíveis e com diversas possibilidades de utilizações no mercado. Portanto, detectar essas substâncias em produtos de origem animal como a carne bovina utilizando método multirresíduo torna-se imperativo. Diante deste contexto, nesse estudo será apresentada a validação de método rápido para a determinação multirresíduo de agrotóxicos em músculo bovino por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) com ionização por *electrospray* no modo positivo.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Validar método multirresíduos para análise de 188 agrotóxicos em músculo bovino por meio da técnica de cromatografia líquida

acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS).

### 2.2. Objetivos Específicos

- Verificar a eficiência e aplicabilidade do método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) quanto à extração de resíduos de agrotóxicos em músculo bovino;
- Desenvolver e validar metodologia de detecção e quantificação de resíduos de agrotóxicos em músculo bovino por LC-MS/MS;
- Avaliar os parâmetros de desempenho para validação como a seletividade, linearidade, efeito matriz, precisão, veracidade, limite de detecção e quantificação, robustez e incerteza de medição;
- Verificar a presença de agrotóxicos em amostras comerciais de músculo bovino.

## 3. REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1. Carne Bovina

A carne bovina é uma matéria prima amplamente consumido no Brasil, sendo o consumo médio brasileiro de 38 kg por habitante ao ano (Brasil, 2013). É considerada um alimento nobre para o ser humano em consequência da constituição nutricional, pela qualidade das proteínas e vitaminas, principalmente a presença de ácidos graxos essenciais (Ruiz et al., 2005). Todos os nutrientes encontrados nesta matéria prima alimentar são importantes para a saúde, sendo fundamentais na regulação de processos fisiológicos (Silva et al., 2011).

A melhoria do poder aquisitivo da população brasileira neste início de século impulsionou o aumento do consumo *per capita* e a busca por qualidade da carne

bovina (Maysonave et al., 2014). Entretanto, o conceito de qualidade é variável no tempo e no espaço, sendo estabelecido em função de adequações das características do produto frente às exigências de mercado (Santos et al., 2015).

Segundo Osório et al. (2012), a avaliação da qualidade da carne bovina passou por muitas mudanças nos últimos anos, com o foco passando das características avaliadas no animal pelo produtor para o consumidor, com propriedades selecionadas na própria carne, como aspectos sensoriais e nutritivos, visto que a consolidação da cadeia produtiva depende da compreensão dos atributos preferidos e percebidos pelo consumidor.

### 3.2. Segurança Alimentar

Segurança alimentar pode englobar o conjunto de normas de produção, transporte e armazenamento de gêneros alimentícios. O termo segurança, possui viés qualitativo e ganha cada vez mais importância com o crescimento acelerado da globalização e maior nível de informação dos consumidores. Trata-se da garantia de aquisição de produtos com qualidade, associada ao alimento mais saudável e livre de contaminações (Barreto, 2014).

A segurança está relacionada com a ausência de perigos associados aos gêneros alimentícios no momento do consumo. Como a introdução desses riscos pode ocorrer em qualquer etapa da cadeia alimentar, torna-se essencial a existência de controle adequado ao longo da mesma. Em consequência, a segurança alimentar é assegurada por meio dos esforços combinados para minimizar as ameaças em todas as partes integrantes da cadeia alimentar (Ambifood, 2005).

Pelo Regulamento nº 178/2002 da Comunidade Européia, a rastreabilidade pode ser entendida como a capacidade de detectar a origem e de seguir a trajetória de

qualquer gênero alimentício, alimento para animais, ou mesmo o animal ou uma substância, destinados a ser incorporados em dietas, ou com a probabilidade de se misturar ao longo de toda fase de produção, transformação e distribuição (EC, 2013).

Para garantir a segurança e a perfeita identificação da fonte causadora de problemas, os programas de rastreabilidade são ferramentas eficazes. É especialmente crítico o tempo medido entre a ocorrência do evento danoso e a identificação da fonte causadora. Quanto maior esse intervalo, pior será a proporção do prejuízo, tanto considerando-se a segurança alimentar e o custo financeiro dentro da cadeia produtiva (Barreto, 2014).

A habilidade de rastrear produtos facilita a detecção dos responsáveis pela ausência de segurança do alimento. Porém, ao contrário das ferramentas usuais de qualidade, os sistemas não pressupõem a interferência direta sobre procedimentos e processos, de modo a aumentar a qualidade ou segurança do alimento, sendo dessa forma mais estáticos (Resende Filho, 2008).

Na década de 1990, no auge da encefalopatia espongiforme bovina (crise da vaca louca) a Europa buscou novos mercados para adquirir carne bovina, encontrando no Brasil o novo parceiro de negócios. Desta forma, o país se tornou um importante exportador para o mercado europeu. Mas a partir de janeiro de 2008, houve embargo para a compra de carne *in natura* nacional, com a justificativa de não cumprimento das normas de vigilância sanitária. A União Européia alegou inadequação do processo brasileiro de rastreabilidade animal, pois usava o sistema de lote, enquanto era requerido por aquele bloco comercial o controle individual de todos os animais do rebanho (Triches et al., 2009).

Após essas ocorrências, as barreiras comerciais não tarifárias, como a necessidade de requisitos sanitários e de

qualidade restritos estão entre os principais obstáculos à entrada da carne brasileira no mercado europeu, sendo realidade para ausência desse produto nacional *in natura* no mercado americano (Barreto, 2014).

Nesse contexto, em 2002, para exportar para países que exigem rastreabilidade na cadeia produtiva de carne bovina, o Brasil desenvolveu e implantou o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem Bovina e Bubalina: o SISBOV. A adesão ao SISBOV foi obrigatória para exportadores de carne bovina e para os produtores nacionais (Brasil, 2002). Esse sistema prevê ações, medidas e procedimentos para registrar a origem, o estado sanitário, a produção e a produtividade da pecuária nacional, além da segurança dos alimentos provenientes dessa exploração. Foi proposto para identificar, registrar e monitorar, individualmente, todos os bovinos e bubalinos nascidos no Brasil ou importados (Lopes et al., 2007).

Kirinus et al. (2014) destacaram que o setor bovino forma importante cadeia econômica, com interação dos setores ligados ao agronegócio, genética e comércio estando entre as cadeias produtivas que mais oferece oportunidades de trabalho, conquistando relevância na economia mundial. A bovinocultura de corte é um dos setores mais evoluídos na economia mundial, impulsionada por crescimento da renda e amparada por mudança estrutural, de gestão e tecnológica. Ainda assim, para melhorar a produtividade e assegurar a sustentabilidade futura, serão necessários investimentos constantes em aspectos sanitários, de inocuidade dos alimentos de origem animal, inspeção dos ambientes, biossegurança e bem-estar animal.

### 3.3. Mercado Interno e Externo da Carne Bovina

O comércio internacional de carne bovina é promissor para estudos variados e o Brasil

participa ativamente desse mercado (Souza et al., 2002). O país é um importante produtor, consumidor e, principalmente exportador. Destaca-se que a evolução da exportação brasileira passa pela maior agregação de valor ao produto (Ribeiro e Silva, 2012).

Em um planejamento feito pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes abastecerá 44,5% do mercado mundial. Essas estimativas indicam que o país pode manter a posição de primeiro exportador de carnes bovina e de frango (Brasil, 2015a).

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2012) a produção brasileira de carne bovina representou, em 2011, 15,9% do total mundial, crescendo 64,75% nos últimos 20 anos, passando de 5,48 milhões de toneladas, em 1991, para 9,03 milhões de toneladas em 2011. Esse cenário favorável de produção garantiu ao Brasil, o segundo lugar entre os países produtores (Tabela 1), sendo superado apenas pelos Estados Unidos (Brasil, 2015c).

Segundo dados do IBGE (2015), no terceiro trimestre de 2015, as exportações brasileiras de carne bovina *in natura* aumentaram em quantidade, faturamento e preço médio da tonelada no comparativo com o período anterior. Entretanto, apresentaram decréscimo frente ao terceiro trimestre de 2014.

O número de países para os quais o Brasil vende carne aumentou de 103 para 151, entre 2000 e 2013. Um exemplo dessa abertura de novos mercados foi a Rússia. Em 2000, não haviam exportações para esse mercado, mas em 2013, a Rússia, que é o maior importador mundial de carne bovina, passou a ser o segundo principal destino desse produto nacional (ABIEC, 2015).

Tabela 1 - Classificação dos países produtores de carne bovina

| Posição            | País           | Produção<br>(mil toneladas<br>carcaça ) | Participação<br>(%) |
|--------------------|----------------|---|---------------------|
| 1º                 | Estados Unidos | 11.055                                  | 18,7                |
| 2º                 | Brasil         | 9.820                                   | 16,6                |
| 3º                 | União Europeia | 7.440                                   | 12,6                |
| 4º                 | China          | 6.825                                   | 11,6                |
| 5º                 | Índia          | 4.500                                   | 7,6                 |
| 6º                 | Argentina      | 2.700                                   | 4,6                 |
| 7º                 | Austrália      | 2.275                                   | 3,9                 |
| 8º                 | México         | 1.845                                   | 3,1                 |
| 9º                 | Paquistão      | 1.725                                   | 2,9                 |
| Demais Países (43) |                | 10.821                                  | 18,3                |
| Produção Total     |                | 59.006                                  | 100,0               |

Fonte: Brasil (2015a)

Em 2005, o Brasil exportou USD 94,9 milhões e Minas Gerais participou com 3,10%. Entretanto, em 2015 houve aumento para, respectivamente US\$ 218,6 milhões e para Minas Gerais 6,83% (Brasil, 2015c). O Brasil é o segundo maior consumidor de carne bovina no mundo (Tabela 2). A ABIEC (2015) relatou liderança nacional nas exportações desse setor, com 21% das vendas mundiais, atualmente existem 83 plantas frigoríficas que possuem abates bovinos cadastradas no Sistema de Inspeção Federal (SIF).

O Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Pará, Rondônia e Rio Grande do Sul lideraram os abates, com 76,6% do total no país. Os rebanhos bovinos no Brasil em 2014 foram estimados em, 212 milhões de cabeças, sendo que 37,0% encontravam-se no Centro-Oeste,

23,2% no Norte, 20,4% no Sudeste, 15,0% no Nordeste e 14,4% no Sul. No mesmo ano, foram abatidas 33,9 milhões de cabeças de gado no país no ano de 2014. O segmento de produção de carne bovina que contribuiu para o aumento das exportações do agronegócio mineiro (IBGE, 2015).

Tabela 2 - Classificação dos países consumidores de carne bovina de 2015

| Posição       | País           | Consumo<br>(mil toneladas<br>carcaça ) | Participação<br>(%) |
|---------------|----------------|--|---------------------|
| 1º            | Estados Unidos | 11.292                                 | 19,9                |
| 2º            | Brasil         | 7.905                                  | 13,9                |
| 3º            | União Europeia | 7.495                                  | 13,2                |
| 4º            | China          | 7.305                                  | 12,9                |
| 5º            | Argentina      | 2.500                                  | 4,4                 |
| 6º            | Rússia         | 2.112                                  | 3,7                 |
| 7º            | Índia          | 2.100                                  | 3,7                 |
| 8º            | México         | 1.845                                  | 3,3                 |
| 9º            | Paquistão      | 1.661                                  | 2,9                 |
| Demais Países |                | 12.542                                 | 22,1                |
| Consumo Total |                | 56.739                                 | 100,0               |

Fonte: Brasil (2015a)

Segundo dados de Brasil (2015e), para a produção de carne bovina o crescimento projetado é de 2,1% ao ano, representando valor relativamente elevado, para atender ao consumo doméstico e às exportações. As estimativas são favoráveis e as vendas para o exterior serão de 3,3% do volume abatido total. O USDA (2015) prospectou para 2024 a Índia e o Brasil como primeiro e segundo exportadores de carne bovina, respectivamente.



Em 2014, Minas Gerais abateu 9,5% do rebanho total, com 3.222.761 animais e ocupou o quinto lugar na classificação nacional (Tabela 3). O triângulo mineiro é a mesorregião mais importante e contribui com 3,8% do total desse efetivo rebanho (Tabela 4) (IBGE, 2015).

A maior parte do rebanho bovino brasileiro é alimentada a pasto, representando valorização adicional deste tipo de carne no mercado externo. Dessa forma, o clima, a extensão territorial e a disponibilidade de outros fatores favoráveis para a produção no país foram elementos geradores de condições competitivas para produzir, industrializar e exportar carne com boa qualidade (Santos et al., 2015).

Tabela 3 - Valores absolutos e relativos (%) de animais abatidos em 2014 no Brasil por estados

| Bovinos                       | Animais abatidos | %     |
|-------------------------------|------------------|-------|
| Produção Nacional             | 33.906.799       | 100,0 |
| Principais estados produtores |                  |       |
| Mato Grosso                   | 5.352.226        | 15,8  |
| Mato Grosso do Sul            | 3.955.764        | 11,7  |
| São Paulo                     | 3.523.974        | 10,4  |
| Goiás                         | 3.409.851        | 10,1  |
| Minas Gerais                  | 3.222.761        | 9,5   |
| Pará                          | 2.624.231        | 7,7   |
| Rondônia                      | 2.004.591        | 5,9   |
| Rio Grande do Sul             | 1.883.488        | 5,6   |

Fonte: IBGE (2015)

Tabela 4 - Distribuição regional do rebanho bovino em Minas Gerais

| Região               | Rebanho (milhões de animais) |      | Variação de 2013 para 2012 (%) |
|----------------------|------------------------------|------|--------------------------------|
|                      | 2012                         | 2013 |                                |
| Alto Paranaíba       | 1,8                          | 1,9  | 5,6                            |
| Central              | 2,4                          | 2,4  | 0,0                            |
| Centro Oeste         | 1,8                          | 1,9  | 5,6                            |
| Jequitinhonha/Mucuri | 2,5                          | 2,5  | 0,0                            |
| Noroeste de Minas    | 2,1                          | 2,0  | -4,8                           |
| Norte de Minas       | 3,2                          | 3,1  | -3,1                           |
| Rio Doce             | 2,2                          | 2,3  | 4,5                            |
| Sul de Minas         | 2,7                          | 2,7  | 0,0                            |
| Triângulo            | 3,6                          | 3,8  | 5,6                            |
| Zona da Mata         | 1,6                          | 1,6  | 0,0                            |
| Total                | 23,9                         | 24,2 | 1,3                            |

Fonte: BRASIL (2015c)

### 3.4. Agrotóxicos

Os relatos de uso de agrotóxicos existem desde o momento que o homem passou a plantar para suprir suas necessidades básicas. Há mais de 12 mil anos, a fixação do homem num determinado território e a criação das cidades estimularam a produção de alimentos. Para atender esse consumo foram criados recursos e técnicas, entre esses, a utilização de substâncias de origem natural com ação praguicida (Rodrigues, 2006). Portanto, a busca do aumento da produção de alimentos em quantidades suficientes levou a necessidade de eliminação de pragas, dando origem, aos compostos denominados de agroquímicos, incluindo fertilizantes e agrotóxicos (Demoliner, 2008).

Agrotóxicos, defensivos agrícolas,

praguicidas, pesticidas e até biocidas são denominações dadas às substâncias sintéticas ou naturais, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo os organismos causadores de danos. Em sentido mais amplo, a praga ataca, lesa ou transmite enfermidade às plantas, aos animais e ao ser humano. Adotando-se essa definição, englobam-se entre as pragas: insetos, ácaros, aracnídeos, roedores, fungos, bactérias, ervas daninhas ou qualquer outra forma de vida animal ou vegetal danosa à saúde e ao bem-estar do homem, à lavoura, à pecuária e produtos e, a outras matérias-primas alimentares. Por extensão, incluem-se como defensivos os agentes desfolhantes, dessecantes e as substâncias reguladoras do crescimento vegetal. Excluem-se as vacinas, os medicamentos, os antibióticos para seres humanos e de uso veterinário e os agentes empregados para o controle biológico das pragas (Barbosa, 2004).

Os principais agrotóxicos usados comercialmente são compostos orgânicos sintéticos com baixa massa molecular, geralmente com menor solubilidade em água e alta atividade biológica (Silva e Fay, 2004). Do ponto de vista do ambiente, o sistema de classificação para os agrotóxicos, segundo o mecanismo de ação, é o melhor. De acordo com Demoliner (2008), esse conhecimento permite uma melhor previsão dos impactos negativos para organismos não alvos, além de verificar o comportamento do agrotóxico no ecossistema.

Os agrotóxicos são poluentes importantes dentre os compostos orgânicos, por serem muito utilizados e, muitas vezes de forma descontrolada. A partir da segunda metade do século XX ocorreu uma expansão do seu uso. Aproximadamente 860 substâncias ativas eram comercializadas nos mais variados tipos de formulações. Estas substâncias são divididas em mais de 100 classes, sendo benzoilureias, sulfonilureias, carbamatos, organofosforados,

organoclorados, piretróides e triazinas os grupos mais importantes (Tomlin, 2004). Entretanto, Camino-Sanches et al. (2010) ressaltaram que o uso de agrotóxicos é a principal estratégia no campo para o combate e a prevenção de pragas agrícolas, buscando maior produtividade com baixo custo.

No Brasil, foram utilizados primeiramente em programas de saúde pública, no combate aos vetores e parasitas, passando a ser empregados mais intensivamente na agricultura a partir da década de 1960. Em 1975, o Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), responsável pela abertura do Brasil ao comércio de agrotóxicos, condicionou o agricultor a comprá-los, ao instituir a inclusão de cota definida para cada financiamento rural requerido. Essa obrigatoriedade, somada à propaganda dos fabricantes, determinou incremento e disseminação da utilização dos agrotóxicos no Brasil (OPAS, 1997).

O Brasil foi considerado o maior importador mundial de agrotóxicos, por comprar US\$ 3 bilhões em 2013 (COMTRADE, 2014) e o segundo maior consumidor em 2014 com mercado interno estimado em US\$ 12,2 bilhões (Hermida et al., 2015).

De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), anualmente são usados no mundo aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos. São consumidas anualmente cerca de 130 mil toneladas no país, representando aumento no consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% no período (EMBRAPA, 2016).

Levando em consideração a quantidade de agrotóxicos utilizados, são classificados de algumas formas, de acordo com: finalidade, o modo de ação, a persistência, o deslocamento, a duração do efeito do tratamento, a toxicidade e o grupo químico (ANVISA, 2005a).

A classificação dos agrotóxicos em função dos efeitos à saúde, decorrentes da exposição do ser humano a esses agentes, pode resultar em diferentes graus toxicológicos (Tabela 5). Essas classes obedecem ao resultado de testes ou estudos realizados em laboratórios, destinados a estabelecer a dose letal (DL) do agrotóxico em 50% dos animais utilizados naquela concentração (WHO, 1990).

Tabela 5 - Classificação dos agrotóxicos de acordo com os efeitos danosos à saúde humana

| Classe toxicológica | Toxicidade          | DL <sub>50</sub> (Dose letal) | Faixa colorida na rotulagem |
|---------------------|---------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| I                   | Extremamente tóxico | Inferior ou igual 5mg/kg      | vermelha                    |
| II                  | Altamente tóxico    | Entre 5 e 50mg/kg             | Amarela                     |
| III                 | Medianamente tóxico | Entre 50 e 500mg/kg           | Azul                        |
| IV                  | Pouco tóxico        | Entre 500 e 5000mg/kg         | Verde                       |
| -                   | Muito pouco tóxico  | Acima de 5000 mg/kg           | -                           |

Fonte: WHO (1990)

Os agrotóxicos englobam muitas substâncias químicas, algumas de origem biológica, classificadas de acordo com o tipo de praga que controlam, com a estrutura química das substâncias ativas e com os efeitos à saúde humana e ao meio ambiente. Os agrotóxicos e os produtos veterinários, utilizados para combater pragas ou doenças de plantas e de animais, respectivamente, são regulamentados e tratados separadamente na legislação brasileira, apesar de serem utilizados o

mesmo ingrediente ativo em ambos os tipos de formulações. O Quadro 1 apresenta o sumário dos principais agrotóxicos empregados mundialmente, de acordo com o tipo de praga controlada e o grupo químico pertencente (WHO, 1990).

Quadro 1 - Principais categorias de agrotóxicos quanto à natureza da praga combatida e ao grupo químico a que pertencem

| Natureza da praga controlada              | Grupo químico          | Exemplos (produtos/substâncias/agentes)        |
|---|------------------------|--|
| Inseticidas controle de insetos           | Inorgânicos            | Fosfato de alumínio, Arsenato de cálcio        |
|   | Organoclorados         | Aldrin, DDT, BHC                               |
|   | Organofosforados       | Fenitrotion, Paration, Malation, Metilparation |
|   | Carbamatos             | Carbaril, Carbofurano, Metomil                 |
|   | Piretróides sintéticos | Deltametrina, Permetrina                       |
| Fungicidas combate aos fungos             | Inorgânicos            | Calda Bordalesa, Enxofre                       |
|   | Ditiocarbamatos        | Mancozeb, Tiram, Metiram                       |
|   | Dinitrofenóis          | Binapacril                                     |
|   | Fentalaminas           | Captafol, Captam                               |
| Herbicidas (combate às plantas invasoras) | Inorgânicos            | Arsenito de sódio, Cloreto de sódio            |
|   | Dinitrofenóis          | Bromofenoxim, Dinoseb                          |
|   | Fenoxiacético          | 2,4-D, 2,4,5-T                                 |

|   |                                |                                       |
|---|--------------------------------|---------------------------------------|
|   | Carbamatos                     | Profam,<br>Cloroprofam,<br>Bendiocarb |
|   | Dipiridilos                    | Diquat, Paraquat,<br>Difenzoquat      |
|   | Dinitroanilinas                | Nitralin,<br>Profluralin              |
|   | Benzonitrilas                  | Bromoxinil,<br>Diclobenil             |
|   | Glifosato                      | Round-up®                             |
| Nematicidas<br>combate<br>aos<br>nematóides | Hidrocarbonetos<br>halogenados | Dicloropropeno,<br>DDD                |
|   | Organofosforados               | Diclofention,<br>Fensulfotion         |
| Acaricidas<br>combate<br>aos ácaros         | Organoclorados                 | Dicofol,<br>Tetradifol                |
|   | Dinitrofenóis                  | Dinocap,<br>Quinometionato            |

Fonte: WHO (1990)

### 3.4.1. Inseticidas

A principal classe de uso de agrotóxicos responsabilizada por intoxicações é a dos inseticidas, relacionados a 71,2% destas. A maior parte dos óbitos 84,6%, ocorreu em consequência de inseticidas (Pires et al., 2005).

Dentre os inseticidas responsáveis por intoxicações, encontram-se organofosforados e carbamatos, 34,3% e 26% dos casos, respectivamente e, os piretróides, em terceiro lugar, com 6,8%. Os organofosforados foram os inseticidas mais utilizados nas tentativas de suicídio e levaram ao maior número de mortes (Arão, 2009).

#### 3.4.1.1. Organofosforados e carbamatos

Esses praguicidas possuem atividade inseticida sendo empregados para usos

agrícola, doméstico e veterinário, com as funções principais de acaricida, nematicida, fungicida e herbicida (Spinosa et al., 2008).

Dentre os agrotóxicos, os organofosforados e carbamatos representam mais de 200 princípios ativos quimicamente diferentes. As razões para isto são a alta toxicidade de alguns compostos e a facilidade de aquisição de produtos registrados contendo estas mesmas substâncias. Pode ainda ser resultante da comercialização ilegal de agrotóxicos de uso proibido ou restrito (Cavaliere et al., 1996; Xavier et al., 2007).

Os organofosforados e carbamatos são conhecidos como agentes anticolinesterásicos em razão da ação inibitória sobre acetilcolinesterase (AChE), responsável pela degradação da acetilcolina (ACh), neurotransmissor central e periférico. Quando ocorre inibição da AChE, a ACh se acumula nas terminações sinápticas causando estimulação contínua e desordenada dos receptores muscarínicos do sistema nervoso parassimpático. O excesso de ACh provoca, ainda, a estimulação e bloqueio dos receptores nicotínicos nos gânglios autônomos, das junções neuromusculares e do sistema nervoso central. Em mamíferos, estes efeitos caracterizam-se principalmente por lacrimejamento, salivação, sudorese, diarreia, tremores e distúrbios cardiorrespiratórios. Estes são decorrentes de broncoconstrição, aumento das secreções pulmonares, bradicardia e depressão do sistema nervoso central. Essas são as principais causas de morbidade e mortalidade associadas a estas duas classes (Heinzow e Andersen, 2006).

Os carbamatos foram primeiramente obtidos a partir do alcalóide extraído da semente da planta *Physostigma venenosum*, conhecida como fava de calabar ou feijão-de-prova. Durante investigações sobre suas propriedades farmacológicas, foi isolado um alcalóide puro, denominado fisostigmina, que foi utilizado para o

tratamento de glaucoma. O primeiro inseticida sintético amplamente utilizado foi o carbamil, em 1953, nos EUA. Alguns carbamatos são considerados moderadamente tóxicos, como o carbamil, cuja  $DL_{50}$  em ratos é de 850mg/kg, e outros são extremamente tóxicos, como o aldicarb, o qual possui o nome popular de “chumbinho”, cuja  $DL_{50}$  oral em ratos varia entre 0,6 e 1,0 mg/kg (Gilman et al., 1996).

Os organofosforados são derivados do ácido fosfórico, ditiofosfórico e trifosfórico. Possuem baixa solubilidade em água, rápida hidrólise no meio ambiente e em meios biológicos (Nagayama et al., 1996).

#### 3.4.1.2. Piretróides

Após a proibição do uso de organoclorados em praticamente todo o mundo, os piretróides tornaram-se essenciais no controle de vetores de doenças em regiões de clima tropical. Desde então, são os compostos inseticidas mais utilizados (Neal et al., 2010).

São derivados do piretrum, inseticida botânico, constituído por mistura de seis ésteres, duas piretrinas, duas cinerinas e duas jasmolinas, extraídos de inflorescências secas do *Chrysanthemum*. A lipofilicidade dos piretróides pode permitir a penetração rápida em áreas não tegumentadas de insetos, desencadeando e paralisando o sistema nervoso (Spinosa et al., 2008).

Os piretróides são divididos em duas classes (Quadro 2) diferenciadas por possuírem um grupo  $\alpha$ -ciano. Compostos do tipo II contém  $\alpha$ -ciano, ausente no tipo I. As duas classes podem causar diferentes sintomas toxicológicos em roedores, provavelmente relacionados às diferenças em efeitos nos neurônios (Spinosa et al., 2008).

Os piretróides possuem biotransformação muito rápida, com pouca ou baixíssima

toxicidade crônica. Isto sugere pouco ou nenhum armazenamento, e ausência de acúmulo nos organismos expostos. Assim, podem ser eficientemente detoxificados. Apesar de serem considerados o grupo de praguicidas mais seguros atualmente, existe falta de cuidado crescente na aplicação e/ou diluição dos produtos. Esses fatos podem resultar em intoxicações em seres humanos e em animais. Apesar disso, é pouco comum encontrar resíduos de piretróides em alimentos de origem animal, por serem rapidamente biotransformados e excretados (Santos et al., 2008).

Quadro 2 - Classe dos piretróides

| Características químicas e princípios ativos                                      | Classe toxicológica  | Sintomas em roedores.  |
|---|--|--|
| Classe I  |  |  |
| Piretrina, aletrina, tetrametrina, resmetrina, fenotrim, permetrina               | Síndrome-T (tremores) Ação sobre o sistema nervoso central e periférico              | Hiperexcitação, tremores e prostração.                                   |
| Classe II   |  |  |
| $\alpha$ -ciano substituídos: cipermetrina, deltametrina, fenvalato, fluvalinato. | Síndrome-CS- (coreatetose e salivação) Ação no sistema nervoso central de mamíferos. | Paraestesia cutânea, salivação, apoplexia crônica, formigamento dérmico. |

Fonte: Heinzow e Andersen (2006).

#### 3.4.2. Fungicidas

Os fungicidas são praguicidas capazes de combater e/ou controlar ervas ou plantas invasoras, fungos e ácaros, respectivamente. Esses agentes podem

comprometer a produtividade agropecuária, interferir na saúde e no bem-estar do ser humano e de animais. Quanto mais lipossolúvel for o composto tóxico, maior será a capacidade de sofrer bioacumulação em tecidos hepático, renal e muscular (Ekman et al., 2014).

Dentre os diversos fungicidas disponíveis no mercado, o benomil pode causar disfunção hepática e cirrose, em intoxicações mais intensas, além de ser incriminado como teratogênico. Em estudos de toxicidade crônica, foi demonstrada a capacidade de causar alterações testiculares, com a atrofia dos túbulos seminíferos e oclusão dos dutos eferentes. Esse composto foi descrito como importante disruptor endócrino. Portanto, pode ser capaz de induzir alterações reprodutivas e prejudicar o desenvolvimento de animais (Muller et al., 2013).

Os compostos imidazólicos são derivados do benzimidazole, frequentemente utilizado como fungicida. A substância 2-(4-tiazolil) benzimidazole (TBZ), originalmente introduzida em 1960 como fármaco anti-helmíntico dose dependente em medicina humana e veterinária, pode causar efeitos colaterais como dor abdominal, náusea, tonturas e transtornos cognitivos. Posteriormente foi usado na agricultura, para o controle de fungos formados após a colheita de frutas e vegetais, além de ser parasiticida e conservante de alimentos (Ekman et al., 2014).

Entre os efeitos nocivos, TBZ pode provocar alteração dos hormônios da tireóide, sendo considerado cancerígeno em doses elevadas (Muller et al., 2013). Além disso, foi associado a doenças do fígado e em estudos com animais foram encontrados alterações renais e problemas reprodutivos teratogênicos em doses elevadas (Ekman et al., 2014).

### 3.4.3. Herbicidas

Os herbicidas são substâncias puras ou misturas dessas utilizadas para prevenir o aparecimento, reduzir ou destruir plantas invasoras e outros tipos de vegetais, aquáticos ou terrestres. Podem ainda, ser utilizados para inibir apenas partes específicas das plantas, como inflorescências e sementes (Midio e Martins, 1997).

Algumas classes apresentam ação múltipla, atuando como desfolhantes, dessecantes e reguladores do crescimento. O fato de muitos herbicidas agirem por inibição de fotossíntese implica quase sempre em baixa toxicidade para organismos não-alvos, inclusive o ser humano. Como são aplicados, geralmente, bem antes da colheita, o problema relacionado à presença de resíduos pode ser considerado pequeno. Porém alguns compostos, particularmente os hidrocarbonetos aromáticos clorados, são vistos como sérias ameaças à integridade ambiental (Midio e Martins, 1997).

A variedade de princípios ativos de herbicidas existentes ultrapassa 900 e existem milhares de produtos vendidos, sendo o mesmo componente vendido sob diferentes nomes, formulações ou ainda associado a outros ingredientes ativos (Barbosa, 2004). Oliveira (2015) afirma que as ervas espontâneas são tidas por alguns produtores rurais como uma “praga vegetal” para a sua produção, pois, para estes trabalhadores, as ervas daninhas ou matos acabam competindo por nutrientes, luz e água com as culturas de interesse agrícola. Sendo então uma justificativa para muitos produtores fazerem uso de herbicidas para o controle das ervas invasoras. No entanto, na maioria das vezes, a aplicação destes produtos é realizada sem ao menos ter o conhecimento das características das ervas que ali estão e, se porventura, pertencem à mesma família botânica da cultura instalada na área.

### 3.4.3.1. Triazínicos

Segundo Liu et al. (2011) os herbicidas triazínicos foram descobertos em 1954, e desde a síntese do primeiro composto desse grupo em 1958 (simazina), estes se tornaram agrotóxicos mundialmente populares. Os derivados nitrogenados heterocíclicos possuem estrutura de anel com átomos nitrogênio e carbono e, a maioria das trizinas são sintéticas.

O herbicida triazínico ametrina (2-etilamino)-4-(isopropilamino)-6-(metiltio)-s-triazina é inibidor da fotossíntese e atua ligando-se à proteína cadeia de elétrons do fotossistema II, inibindo o transporte de elétrons. Este apresenta classificação toxicológica III, sendo considerado moderadamente tóxico conforme a *Environment Protection Agency* (EPA, 2005).

### 3.4.3.2. Derivados da ureia

O diuron encontra-se entre os derivados da ureia mais conhecidos, sendo utilizado como inibidor da germinação de gramíneas e magnoliopsidas e aprovado para uso em diversas culturas, principalmente de cereais. Além disso, é empregado para controlar vegetais em áreas não cultivadas como nas regiões adjacentes às rodovias, ferrovias e parques (Tixier et al., 2001). Os derivados da ureia podem ser utilizados associados ao paraquat e ao glifosato. Isso modifica bastante a toxicidade aguda, normalmente baixa quando comparada a outros herbicidas (Spinosa et al., 2008).

O linuron, herbicida sistêmico seletivo, foi registrado para o controle pré e pós-emergência das Fabaceae e Poaceae em culturas e áreas não agrícolas. Por inibir a fotossíntese em plantas alvo, é indicado para uso em soja, algodão, batata, milho, feijão, ervilha, trigo de inverno, aspargos, cenoura e frutíferas, sendo utilizado em armazéns e em grãos estocados. Muito usado em misturas com outros herbicidas,

para ampliar o espectro de controle de poaceae (Lara, 2014).

### 3.4.4. Acaricidas

O carrapato é o ácaro mais combatido desde o final do século XIX. Desde essa época pesquisadores vêm buscando produtos para controlá-lo (Furlong et al., 2007).

As avermectinas são compostos pertencentes ao grupo das lactonas macrocíclicas e a persistência dessas substâncias em tecidos animais depende do tipo, da via de administração e da espécie animal (Rubensam, 2010). Podem ser administradas em bovinos em formulações de uso, por injeção subcutânea ou intramuscular (Danaher et al., 2006). Dupuy et al. (1999) demonstraram limitado metabolismo hepático da ivermectina, o que acarreta a eliminação dessa de forma inalterada, de aproximadamente 90% da dose injetada.

A avermectina B1 possui a maior atividade biológica, sendo referida como abamectina (Rubensam, 2010). Após essa descoberta, ocorreu a busca por novas substâncias com propriedades semelhantes, porém mais efetivas e com espectro de ação superior (Shoop et al., 1996). Outros derivados foram desenvolvidos para atender às diferentes especificações do mercado e necessidades médicas e veterinárias (Pitterna et al., 2009).

Segundo Danaher et al. (2006), fígado e gordura são escolhidos como os alvos para a monitorização, porque os resíduos de lactonas macrocíclicas são mais persistentes nestes tecidos, sendo os únicos com limite máximo de resíduo (LMR) definido para todas as espécies animais.

### 3.4.5. Nematicidas

Os nematicidas possuem ação sob os nematoides. Entre os nematoides fitopatogênicos, os do gênero *Meloidogyne*, causadores de galhas, podem se tornar fator

limitante à produção, caso não seja feito o manejo adequado (Pereira-Carvalho et al., 2014). Praticamente todas as espécies de plantas cultivadas sofrem danos causados por pelo menos de uma espécie de nematóide. Os fitonematóides são organismos patogênicos que parasitam e causam danos a diversas culturas de expressão econômica (Silva, 2015a). O controle químico é uma das alternativas mais utilizadas visando à redução da população dos nematoides (Silva, 2015a).

Os nematóides fitopatogênicos se instalam nas raízes e não causam sintomas evidentes. Muitas vezes, estes nematoides são ignorados durante vários ciclos de plantio, recebendo atenção somente quando provocam sérios danos e perda significativa de produção (Silva, 2015a).

O fenamifós, um nematicida que foi autorizado no Brasil para aplicação foliar contra mudas de marantas e aplicação no solo, nas culturas de algodão, banana, batata, cacau, café, melão e tomate (Silva, 2010). Este agrotóxico, dependendo da dose empregada, é muito tóxico e pode levar o agricultor à morte, pois pertence à classe toxicológica I. Apresenta índice de ingestão diária de  $0,0008 \text{ mg.kg}^{-1}$  de peso corporal (ANVISA, 2003).

### 3.5. Resíduos de Agrotóxicos nos Alimentos

A obtenção de alimentos saudáveis e de boa qualidade é exigência crescente atual, sendo necessárias técnicas para garantir a eficiência dos processos envolvidos. A inocuidade do alimento está relacionada com a ausência de resíduos de agrotóxicos ou a presença desses abaixo de limites estabelecidos. Dessa forma, podem ser encontrados em produtos animais como carne, leite, ovos, tanto na forma fresca, cru ou processada (Keikotlhaile et al., 2010).

A presença dos resíduos de agrotóxicos tem

sido alvo de preocupação constante no âmbito da saúde pública, sendo associada ao seu uso no processo de produção e a consequente contaminação dos alimentos (ANVISA, 2003). Em produtos de origem animal podem ocorrer como resultado da aplicação direta de produtos no animal ou quando estes ingerem alimentos contaminados (Carvalho et al., 1980).

É fato indiscutível a necessidade de utilização de agrotóxicos em alguma etapa da produção animal. Todavia, o uso inadequado dessas substâncias, por não observância aos prazos de carência, às dosagens corretas e à via de administração recomendada, ou ainda por terapia indiscriminada e utilização de substâncias proibidas, pode deixar resíduos nos alimentos de origem animal, colocando a saúde do ser humano em risco (Oliveira et al. 2015).

Hermida et al. (2015) relataram que, para evitar de medidas sanitárias e fitossanitárias se tornarem Barreiras Técnicas Comerciais (BTC), vários mecanismos foram criados em negociações e acordos multilaterais, desde a criação da Organização Mundial do Comércio (OMC). O acordo sobre Barreiras Técnicas ao Comércio (TBT) reconheceu oficialmente o *Codex Alimentarius*, a Comissão conjunta da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) como órgão harmonizador de normas e técnicas internacionais para resíduos de agrotóxicos. Essa comissão determina Limites Máximos de Resíduos (LMR) nos produtos de origem animal ou vegetal destinados ao consumo do ser humano. Porém, as decisões possuem apenas caráter consultivo e não deliberativo pelos diferentes países. Isso permite a possibilidade de interpretações divergentes dos critérios de análise adotados por partes interessadas (Herminda et al., 2015).

Outro problema sobre o uso de compostos



químicos na agropecuária é a possível contaminação do meio ambiente. Em alguns casos, os agrotóxicos utilizados permanecem no solo e nas plantas interferindo em outros invertebrados e em animais superiores diferentes daqueles para os quais os compostos foram desenvolvidos (Evans e Spivak, 2010).

Os alimentos oferecidos aos animais, como rações e forragens, podem ser contaminados com resíduos de agrotóxicos e após a ingestão estes serem assimilados (Prasad e Chhabra, 2001). Os compostos com alta solubilidade em lipídios tendem a ser concentrados no leite e em tecidos com maior teor de gordura, como o adiposo, nervoso, hepático e renal (Oliveira, 2011).

Caso não tenham sido biotransformados pelo vegetal, os agrotóxicos podem permanecer nos alimentos, levando os consumidores a ingerirem resíduos (ANVISA, 2012). Os efeitos nocivos à saúde humana causados por exposição aos agrotóxicos podem ser agudos ou crônicos. Os primeiros ocorrem a partir de única exposição e, geralmente, em doses altas. Os sintomas considerados crônicos acontecem a partir de exposições a doses baixas ao longo do tempo. Muitas intoxicações podem provocar a diminuição das defesas imunológicas, anemia, impotência sexual, cefaléia, insônia, alterações de pressão arterial, depressão e outros distúrbios de comportamento (Levigard, 2001).

### 3.5.1. Limites máximos de resíduos (LMR)

No Brasil, estabelecer limites máximos de resíduos (LMR) é competência do Ministério da Saúde. No caso de não estarem definidos utilizam-se os vigentes no MERCOSUL, os recomendados pelo *Codex Alimentarius*, os constantes nas Diretivas da União Europeia e os utilizados pelo FDA/USA (Brasil, 2015d).

De acordo com o Código de práticas de higiene para a carne, do documento CAC/

RCP 58-2005, o programa nacional de higiene de carne deverá estar sujeito a verificação por autoridades competentes. Entre requisitos é necessário identificar níveis de contaminantes e resíduos químicos abaixo dos limites máximos, conforme descrito na legislação e nos planos de amostragem nacionais (*Codex Alimentarius*, 2005). Os países produtores estão se adequando às exigências de qualidade e a segurança dos produtos agropecuários do mercado consumidor internacional. Com a implementação de mecanismos e controle específico, atualização da legislação dos órgãos governamentais competentes e de agrotóxicos em alimentos, podendo ainda ser mecanismo influenciador de barreiras não tarifárias.

Em 2015, foi publicada a Instrução Normativa SDA nº13 de 2015, que aprovou o escopo analítico para o monitoramento dos produtos de origem animal. No Quadro 3 (Anexo A) é possível observar os analitos monitorados, a matriz a ser analisada e seu LMR ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) (ANVISA, 2015).

Sendo assim, o estabelecimento de LMR visa assegurar a ausência de risco inaceitável para a saúde dos consumidores e dos animais. Os limites são definidos como as quantidades máximas de concentração de resíduos presentes nos alimentos advindo de agrotóxicos e metabólitos permitidas nos alimentos, sendo a concentração expressa em miligramas (mg) de resíduos de agrotóxicos por quilogramas (kg) do produto agrícola analisado (ANVISA, 2012).

### 3.6. Análise de Resíduo de Agrotóxicos em Carne

A determinação multiresíduo de agrotóxicos em alimentos e outras amostras possui importância no controle dos riscos associados a esses compostos à saúde humana, além da persistência e tendência

de bioacumulação no meio ambiente (Vigna, 2010). As análises químicas em produtos de origem animal começaram a ser relatadas em meados de 1960 (Brabander et al., 2009).

As características físico-químicas dos agrotóxicos são consideravelmente diferentes, por apresentarem caráter ácido, básico ou neutro. Estes compostos podem conter halogêneos, fósforo, enxofre, nitrogênio ou heteroátomos, os quais possuem relevância no método de detecção. Além do mais, muitos são voláteis, outros não, e essa diversidade causa sérios problemas no desenvolvimento de método “universal” para análise de resíduos de agrotóxicos (Alder et al., 2006).

Nas últimas décadas a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas sequencial (LC-MS/MS), resultou na ferramenta analítica mais utilizada para analisar e monitorar a contaminação por agrotóxicos, pois estes se encontram no ambiente, em concentrações muito baixas. A instrumentação possui elevada seletividade, sensibilidade, permitindo analisar qualitativa e quantitativamente vários compostos (Kuster et al., 2009).

Conforme Kuster et al. (2009), a importância da exigência de baixos limites de detecção em alimentos imposta por agências regulamentadoras, torna extremamente necessário o desenvolvimento de métodos analíticos de elevada sensibilidade e seletividade. No passado, esses compostos foram determinados por cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (CL) ou cromatografia em camada delgada (CCD), dependendo da polaridade, volatilidade ou estabilidade térmica (Gatidou et al., 2007).

As análises de resíduos de agrotóxicos envolvem duas etapas. A primeira é a extração dos analitos de interesse da matriz, podendo ser ou não acompanhada por purificação posterior, dependendo das características da matriz e da extração

utilizada. A segunda é a determinação qualitativa e quantitativa, frequentemente realizada empregando técnicas cromatográficas, gasosa (GC) e líquida (LC) acoplada a diferentes detetores ultravioleta visível ou fluorescência. Atualmente, são usadas as técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas (MS) (Silva et al., 2015).

Matsuoka et al. (2011) desenvolveram um método analítico multirresíduos para 185 agrotóxicos, incluindo metabólitos, em diferentes matrizes (carne bovina, suína e avícola). Foi validado pela orientação do Ministério Japonês da Saúde, e os compostos foram determinados por cromatografia em fase gasosa acoplado ao espectrometro de massas (GC-MS) e cromatografia líquida acoplada ao espectrometro de massas (LC-MS). O limite de quantificação foi de  $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$  para todos os agrotóxicos e o método foi aplicado para o controle regulador de produtos cárneos.

Prestes (2011) desenvolveu método rápido para determinar de forma simultânea de 91 agrotóxicos e nove medicamentos veterinários em alimentos de origem animal por LC-MS/MS. A faixa de linearidade das curvas analíticas, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), efeito matriz, precisão e exatidão foram avaliadas. Os analitos foram validados pelo método QuEChERS e Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial em amostras de carne, fígado, rim, leite e ovo. Concluiu-se que a determinação dos agrotóxicos por LC-MS/MS foi adequada para análise qualitativa e quantitativa. As condições cromatográficas otimizadas para determinação por LC-MS/MS permitiram a identificação e quantificação de 100 compostos, em tempo total de análise de 30 min.

### 3.6.1. Métodos de extração dos compostos tóxicos

Na técnica de extração chamada *liquid-liquid extraction* (LLE) ocorre a transferência dos analitos presentes em matriz líquida para outra fase líquida imiscível, contendo solvente orgânico menos polar ou apolar, de acordo com as diferenças de solubilidade dos compostos nessas duas fases (Chen et al., 2008; Liu et al., 2011).

A possibilidade de formação de emulsões pode ser problema nesse tipo de metodologia clássica. Mesmo o consumo de elevadas quantidades de amostra e de solventes, pode não ser capaz de eliminar os interferentes presentes em matrizes de composições complexas, como alimentos, além de ser relativamente lenta e de gerar descarte volumoso (Beyer e Biziuk, 2008).

A extração em fase sólida (SPE) é alternativa à LLE (Yang et al., 2011), muitas vezes utilizada em conjunto com a LLE, como etapa de limpeza (Beyer e Biziuk, 2010).

Durante a SPE, os analitos presentes na matriz líquida são passados através de cartucho e adsorvidos em sorvente sólido, sendo previamente condicionado e ativado com água e/ou solvente orgânico. Logo em seguida, os interferentes são removidos por lavagem com solventes orgânicos, enquanto os analitos estão ainda retidos no sorvente. Após este passo, os analitos são subsequentemente eluídos com outros solventes orgânicos, fornecendo extratos mais limpos. Existem técnicas de preparo de amostras por SPE, tais como: extração por fluido supercrítico (*supercritical fluid extraction* - SFE), líquido pressurizado (*pressurized-liquid extraction* - PLE), assistida por micro-ondas (*microwave-assisted extraction* - MAE), líquido- líquido com partição em baixa temperatura (*liquid liquid extraction with the low temperature partition technique* - LLE-LTP), por dispersão da matriz em fase sólida (*matrix*

*solid phase dispersion* - MSPD), microextração em fase sólida (*solid phase micro-extraction* - SPME) e em fase líquida (*liquid phase micro-extraction* - LPME), polímeros molecularmente impressos (*molecularly imprinted polymers* - MIPs), extração por sorção em barra de agitação (*stir bar sorptive extraction* - SBSE) e em ponto de nuvem (*cloud point extraction* - CPE) e o método QuEChERS (Zhang et al., 2012).

O método QuEChERS foi desenvolvido por Anastassiades et al. (2003) para análise de multirresíduos e possui vantagens sobre as demais metodologias disponíveis e oferece possibilidades por meio da instrumentação analítica moderna. O objetivo é gerar extratos que são diretamente injetáveis tanto para as análises por GC quanto por LC. Desenvolvido para ser dinâmico e moderno, pode ser utilizado em qualquer laboratório por ser de fácil execução (Figura 1).

O método QuEChERS envolve a extração inicial com acetonitrila, seguida por etapa de partição líquido-líquido após adição da mistura de MgSO<sub>4</sub> e acetato de sódio, com o objetivo de facilitar a remoção da maior quantidade dos componentes polares da matriz, e por fim, a etapa de purificação simples na qual o extrato é misturado com quantidade de sorvente (SPE) (Anastassiades et al., 2003)

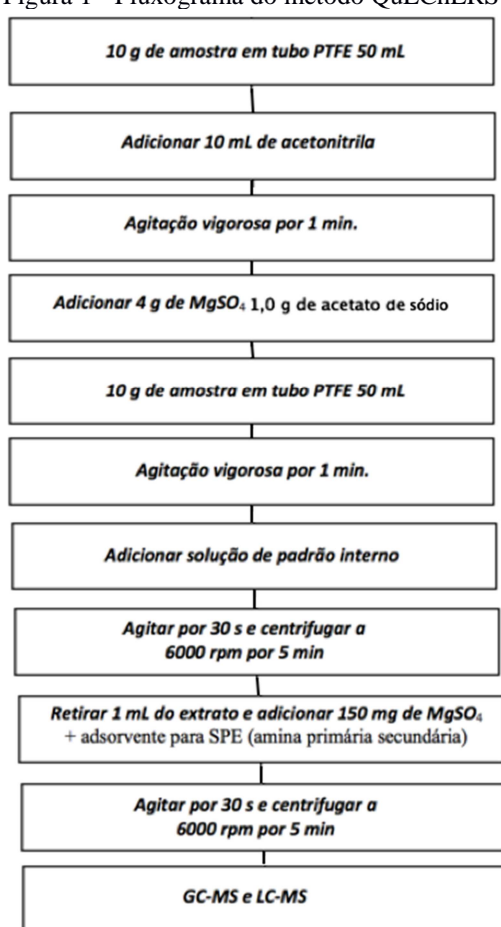
A vantagem dessa metodologia está na rapidez, simplicidade, confiabilidade, robustez, baixo custo, baixo consumo de solventes, uso de pouca vidraria e capacidade de abranger amplo espectro de agrotóxicos extraídos (Oliveira et al., 2014).

Stubbings e Bigwood (2009), utilizaram o método QuEChERS para análises de resíduos de medicamentos veterinários em tecidos animais e afirmaram que, este procedimento multirresíduo de extração simplifica e reduz o tempo necessário para completar a extração e processos de

limpeza das amostras.

Selvi et al. (2012) utilizaram o protocolo QuEChERS para extrair organoclorados em amostras de leite, ovos e carne bovina comercializados no mercado de Tamil Nadu na Índia. O método mostrou-se efetivo em termos de linearidade, precisão, exatidão, LOD e LOQ, provando ser ferramenta útil para fins de monitoramento.

Figura 1 - Fluxograma do método QuEChERS



Fonte: Anastassiades et al. (2003)

### 3.7. Equipamentos para Determinação de Agrotóxicos

Métodos cromatográficos de análise são empregados nas etapas de separação, identificação e quantificação dos resíduos

de agrotóxicos em alimentos. A GC foi uma das primeiras técnicas a serem empregadas para determinar resíduos de agrotóxicos em alimentos, em consequência do elevado grau de desenvolvimento e especificidade dos detectores disponíveis. Porém, o número de agrotóxicos de maior polaridade tem aumentado, e esses apresentam menor persistência e toxicidade inferiores aos apolares. Isso pode inviabilizar o emprego direto da GC ou limitar a aplicação de técnicas de derivatização do analito (Jardim et al., 2009).

Segundo Sagratini et al. (2007), a LC-MS surgiu com o advento da busca por métodos de análise de agrotóxicos cada vez mais rápidos, seletivos e sensíveis em matrizes complexas, alcançando vários avanços no desenvolvimento das técnicas analíticas de separação e detecção. Para obter resultados qualitativos e quantitativos foi criada a técnica massa/massa (MS/MS), na qual detectores são acoplados. A principal vantagem é a maior sensibilidade e seletividade, pois existe garantia que o íon precursor selecionado será fragmentados nos íons produtos. Assim, permite a análise de diversos agrotóxicos simultaneamente e a detecção e confirmação desses compostos em concentrações baixas (Andrade, 2013).

A técnica de LC-MS/MS, possibilita obter informação estrutural segura sobre o analito, e isso assegura a identificação mais exata. Além disso, quando existem compostos não totalmente separados na cromatografia empregada, a espectrometria de massas (MS/MS) é capaz de detectá-los individualmente, se possuírem diferentes massas molares ou gerarem diferentes espectros de massas (Chiaradia, et al., 2008).

#### 3.7.1. Cromatografia líquida

A cromatografia objetiva a partição de componentes presentes em mistura entre fase móvel (FM) e fase estacionária (FE),

conforme as propriedades físico-químicas (Silva, 2008). As vastas aplicações em vários campos da ciência e da análise química da cromatografia líquida (LC) é usada para a análise de muitos compostos orgânicos, desde micromoléculas, como metabólitos e peptídeos, até macromoléculas como por exemplo, as proteínas (Niessen, 2006).

Na Figura 2 é ilustrado o cromatógrafo LC, no qual a fase móvel é acondicionada em frasco apropriado, sendo impulsionada ou aspirada por uma bomba de alta pressão em direção à coluna. Nesse percurso, a amostra é introduzida na fase móvel, por meio da válvula de injeção e arrastada para a coluna, na qual ocorre a separação dos compostos. O efluente da coluna é enviado para o detector, para a revelação da presença dos analitos eluídos. O sinal gerado é captado por *software* apropriado, decodificado no computador, e o cromatograma é gerado, mostrando a variação do sinal em função do tempo de análise (Snyder et al., 2009).

Figura 2 - Diagrama ilustrativo das principais partes de um cromatógrafo moderno



Fonte: Lanças (2009)

As fases estacionárias variam conforme as interações hidrofílica, hidrofóbica e troca iônica ocorridas entre os componentes da amostra. O octadecil (C18), por exemplo, é considerado fase estacionária altamente não-polar (Araújo, 2015).

As fases reversas, ligados à superfície da sílica são as melhores. Tem sido empregadas para separar carbamatos extraídos de carnes bovinas e de aves. A

maioria dos métodos que utilizam a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas emprega coluna de fase reversa (Oliveira, 2011).

### 3.7.2. Espectrômetro de massas

Quando usados após separação cromatográfica os métodos de espectrometria de massas (EM) são adequados para confirmação. A detecção por EM precisa ser realizada com a utilização de: registro de espectro total de massa ou varrimento total, monitoramento seletivo de íons (MIS) ou técnicas EM/EM como monitoramento de reações múltiplas (MRM) ou ainda EM/EM combinadas com modos adequados de ionização (Brasil, 2011).

Quando a determinação por MS for efetuada por meio de varredura total, é obrigatória a presença no espectro de no mínimo quatro íons com intensidades relativas superiores ou iguais a 10% do pico base. Pelo menos quatro íons devem atender ao critério das tolerâncias máximas permitidas de intensidades relativas de íons, expressas em porcentagem, conforme a Tabela 6 (Brasil, 2011).

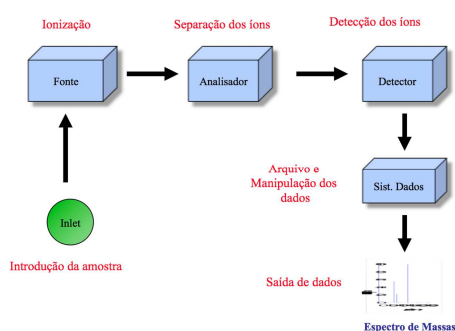
Tabela 6 - Tolerância máximas permitidas para as intensidades relativas de íons utilizando diversas técnicas analíticas de espectrometria de massas

| Intensidade relativa (% do pico base) | GC-EM (IE) | GC-EM (IQ), GC-EM/EM, CL/EM, CL-EM/EM |
|---------------------------------------|------------|---------------------------------------|
| >50%                                  | ±510%      | ±520%                                 |
| 20 a 50%                              | ±015%      | ±025%                                 |
| 10 a 20%                              | ±020%      | ±030%                                 |
| ≤10%                                  | ±150%      | ±50%                                  |

Fonte: BRASIL (2011)

De acordo com Lanças (2009), a Figura 3 ilustra esquema simplificado de espectrômetro de massas (MS), no qual a amostra a ser analisada é introduzida no espectrômetro (*inlet*) e direcionada para a fonte de ionização. Tornou-se comum o uso do cromatógrafo como fonte de introdução da amostra no MS. Desse modo, os compostos correspondentes aos picos cromatográficos gerados por separação dos componentes da amostra são introduzidos individualmente na fonte de ionização do MS para gerar os íons a ser posteriormente separados no analisador e encaminhados para detecção e quantificação. *Software* apropriado é instalado em computador, para efetuar os cálculos e gerar os espectros de massas a serem impressos.

Figura 3 - Componentes do Espectrômetro de Massas



Fonte: Augusti (2008)

### 3.7.2.1. Fontes de ionização

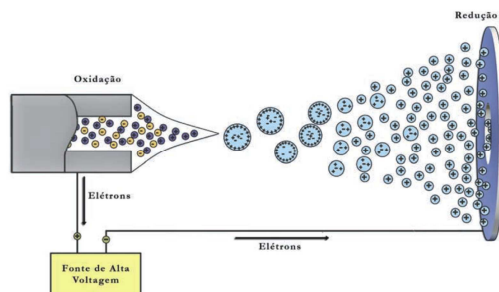
A etapa de ionização é aquela na qual os compostos e/ou seus fragmentos são ionizados positivamente ou negativamente e são de extrema importância para a técnica. Para a discriminação dos compostos, em consequência da variedade de amostras e compostos de interesse, são necessárias diferentes estratégias de ionização para conseguir gerar as íons com carga adequada. Podem-se citar fontes de ionização empregados na espectrometria de

massas como a ionização química (*Chemical Ionization*, CI), ionização por impacto de elétrons (*Electron Impact*, EI), por *spray* aquecido (*Thermo-Spray Ionization*, TSP), por átomos rápidos (*Fast Atom Bombardment*, FAB), química à pressão atmosférica (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*, APCI), fotoionização à pressão atmosférica (*Atmospheric Pressure Photo Ionization*, APPI), ionização por dessorção a laser assistida pela matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization*, MALDI) e a por *electrospray* (*Electrospray Ionization*, ESI) (Martins Júnior, 2005).

A técnica de ionização por *electrospray* (ESI) possibilita a detecção de moléculas e macromoléculas orgânicas sem perda de informação estrutural, em virtude da fragmentação total ou parcial das moléculas, permitindo também a determinação direta de biomoléculas polares e termolábeis, mesmo sem a etapa de derivatização (Oliveira, 2011). A ESI é considerada robusta, sendo a mais utilizada, em especial para a análise de proteínas, aminoácidos e várias outras substâncias de interesse em bioanalítica, na pesquisa de alimentos e farmacêutica (Lanças, 2009).

Na ESI, a ionização acontece sob pressão atmosférica ao invés de vácuo. Durante esse processo, a amostra é dissolvida em solvente, normalmente não polar, e pressurizada em tubo capilar de aço inox, ao qual é aplicada voltagem entre 2.000 e 5.000 V. Assim, o líquido sai do capilar à pressão atmosférica, na forma de aerossol. As gotículas formadas vão perdendo o solvente (são dessolvatadas) e os íons fluem para o espectrômetro de massas induzidos por atração eletrostática e pelo vácuo (Lanças, 2009), como demonstrado na Figura 4.

Figura 4 - Íons formados no processo ESI conduzidos para o analisador pelo campo elétrico aplicado



Fonte: Lanças (2009)

### 3.7.2.2. Analisadores de massas

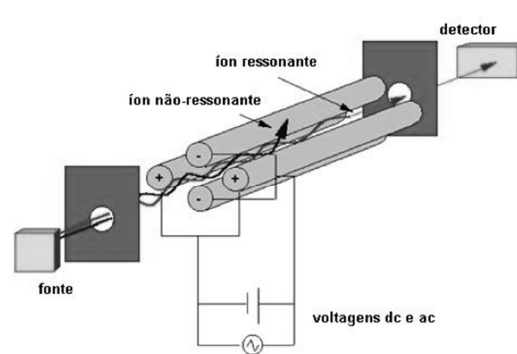
Os analisadores de massas são responsáveis por separação ou resolução dos íons, de acordo com a relação massa por carga ( $m/z$ ). São empregados de várias formas, dependendo da necessidade da resolução de massas, da compatibilidade com a interface e com o sistema de ionização. Os mais comumente empregados são simples, quadrupolo, *íon trap*, tempo de voo (TOF) ou setor magnético (Martins Junior, 2005).

De acordo com Lanças (2009) o analisador tipo quadrupolo possui boa linearidade em análises quantitativas e facilidade operacional. São formados por quatro hastes condutoras paralelas e equidistantes sobre as quais são aplicados potenciais combinados de corrente contínua (CC) e radio frequência (RF), de magnitude variável durante a passagem dos íons pelo quadrupolo (Figura 5). De acordo com o campo elétrico gerado, somente íons com a relação  $m/z$  específica irão atingir o detector, enquanto os não selecionados serão desviados, colidindo com as hastes (Bustillos et al., 2003).

No sistema do tipo triplo quadrupolo (MS/MS), ou seja, também conhecido como sequencial, são utilizados três quadrupolos em série e pode-se obter excelente sensibilidade, mesmo com matriz

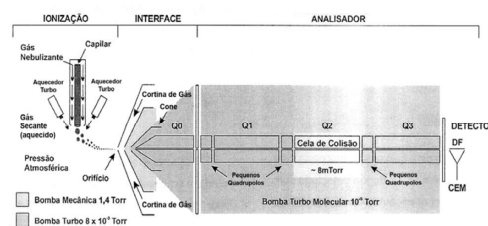
complexa, pois elimina a interferência antes da medição de íons provenientes de compostos alvo. Esse analisador funciona como um filtro em massas e na câmara de colisão, os íons isolados são divididos e transferidos. Em seguida, os resultados da clivagem são filtrados para serem digitalizados como o espectro de íons (Figura 6). O espectrômetro de massa é, portanto, eficaz na identificação de compostos, e sensível como detector seletivo (Goto et al., 2006).

Figura 5 - Analisador do tipo quadrupolo



Fonte: Chiaradia et al. (2008)

Figura 6 - Esquema de um espectrômetro de massas sequencial triploquadrupolo.



Fonte: Moracci (2008)

### 3.7.2.3. Detectores

O sistema de detecção é sensível aos íons provenientes do analisador de massas e formado por célula multiplicadora de elétrons. O detector irá ampliar os elétrons arrancados da placa de colisão ao longo da

sequência de placas por meio de gradiente de diferença de potencial (DDP), transformando a massa de elétrons em corrente elétrica. A magnitude desse sinal é convertida em espectro de massas e aparecem os picos para cada íon selecionado, na  $m/z$  e para quantificar desses íons, é utilizado o mesmo sinal do espectro (Moracci, 2008). Dentre os atributos desejáveis para o detector de íons em espectrometria de massas, encontram-se resposta a faixa ampla de massas, baixo ou nenhum ruído, alta estabilidade, resposta independente da massa, detecção simultânea e resposta rápida (Koppelaar et al., 2005).

### 3.7.3. Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS)

O acoplamento das duas técnicas, cromatografia líquida com a espectrometria de massas, possibilita combinar as vantagens da técnica cromatográfica, alta seletividade e eficiência de separação, com as melhores propriedades da MS, como obtenção de informação estrutural, da massa molar e aumento de seletividade e detectabilidade. Para a possível conexão, é necessária a ausência de interferências nas características de cada equipamento, assim como não podem ocorrer modificações químicas não controladas do analito e perdas de amostra durante a passagem do cromatógrafo para o espectrômetro de massas (Chiaradia et al., 2008).

A cromatografia líquida pode ser muito efetiva na separação dos analitos, enquanto a espectrometria de massas em sequencial permite a identificação e/ou confirmação em concentrações da ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou  $\text{ng.L}^{-1}$  (Oliveira, 2011). Alguns estudos comprovam a efetividade desse método como o de Camino-Sanchez et al. (2010), no qual utilizou-se a LC-MS/MS para determinar resíduos de 69 praguicidas em nove matrizes representativas de vegetais, selecionadas para investigar a influência de

diferentes matrizes na recuperação e precisão da técnica.

### 3.8. Validação de Métodos de Análise

Com a necessidade de atestar a qualidade de medições químicas desenvolveu-se a validação, por meio de comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade. As comprovações estão sendo cada vez mais reconhecidas e exigidas em todo o mundo, pois quando os dados analíticos não são confiáveis podem induzir decisões errôneas e prejuízos financeiros irreparáveis. Sendo assim, para garantir que o novo método analítico gere informações acuradas e interpretáveis sobre a amostra, é necessário a validação (Ribani et al., 2004). De acordo com Brasil (2011), este é o estudo experimental e documentado e objetiva demonstrar a adequação do procedimento analítico avaliado à finalidade que se propõe, de forma a assegurar a confiabilidade dos resultados.

Para o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2010) no planejamento e execução da validação, sugere-se a seguinte sequência de trabalho: estabelecer a aplicação, objetivo e escopo do método; definir os parâmetros de validação e critérios de aceitação; verificar se as características de desempenho do equipamento foram compatíveis com o exigido pelo método em estudo; qualificar todos os materiais, por exemplo, padrões e reagentes; planejar os experimentos de validação, incluindo o tratamento estatístico, e executar os experimentos de validação.

A validação de todo e qualquer método de análise consiste em realizar testes analíticos e estudos estatísticos, comparando os resultados com critérios pré-estabelecidos. A validação de procedimentos analíticos para determinação de agrotóxicos em matrizes de origem vegetal e animal deverá



ser conduzida atendendo aos critérios mínimos dos seguintes parâmetros de desempenho: seletividade, efeito matriz, linearidade, veracidade, precisão, limite de quantificação e detecção, robustez e incerteza de medição (EC, 2013).

Carvalho *et al.* (2008) desenvolveram e validaram método multirresíduo para analisar 28 agrotóxicos de 14 grupos químicos diferentes em amostras de água. A SPE foi a técnica empregada para a extração e subsequentemente analisaram-se as amostras por LC-MS/MS. Os limites de quantificação atingidos foram abaixo de 0,050 mg.kg<sup>-1</sup>.

Greulich *et al.* (2008) desenvolveram metodologia para 300 agrotóxicos em amostras de água mineral. O diferencial da técnica foi a análise por injeção direta de 100 µL da amostra, sem a etapa de

### 3.8.1. Seletividade

A capacidade do método permitir a quantificação com exatidão o analito mesmo na presença de interferentes existentes na amostra é chamada de seletividade. Substâncias quimicamente relacionadas com o analito, como isômeros, metabólitos, produtos de degradação, impurezas e outros podem prejudicar e alterar os resultados (Thompson *et al.*, 2002).

Segundo o documento nº SANCO/12.571/2013 da Comunidade Europeia, a seletividade é a capacidade discriminatória entre o analito e outros compostos, a partir da extração, do *clean-up*, da derivatização, do sistema de separação e especialmente do detector (EC, 2013).

#### 3.8.1.1. Avaliação da intensidade relativa dos íons e relação sinal/ruído

A intensidade relativa dos íons ou razão MRM é critério importante para distinguir o

concentração e limpeza dos interferentes, por LC-MS/MS. As amostras foram desgaseificadas em ultra-som, e fortificadas com padrão no nível do limite de quantificação, de 0,1 µg.L<sup>-1</sup> a 1,0 µg.L<sup>-1</sup>, após serem filtradas em uma membrana de 0,2 µm. A fase móvel para a separação cromatográfica dos compostos foi gradiente entre metanol e água com vazão de 0,3 mL min<sup>-1</sup>. A metodologia mostrou-se eficaz, com elevada sensibilidade, pois 95% dos compostos foram analisados em nível de 0,1 µg.L<sup>-1</sup>. A faixa linear de 0,03 a 5,00 ng.L<sup>-1</sup> foi adequada para a quantificação. A adição de padrão interno evitou a supressão dos sinais causados por efeito da matriz. Através do detector MS, foi possível quantificar e confirmar a presença dos agrotóxicos, em consequência de dois fragmentos originados de cada composto.

analito alvo de outros coeluentes ou de interferências da matriz. O uso da razão MRM como critério de confirmação é possível quando a intensidade relativa dos íons na amostra corresponde à intensidade calculada. Dentro de intervalo de tolerância para os padrões de calibração ou obtida a partir de amostras fortificadas em concentrações comparáveis (Brasil, 2011).

Segundo Ribani *et al.* (2004), este método pode ser aplicado somente em procedimentos analíticos contendo o ruído na linha de base. Para determinar a relação sinal-ruído, é feita a comparação entre a medição dos sinais de amostras em baixas concentrações conhecidas do composto de interesse na matriz e um branco da matriz isenta do composto de interesse denominada “branco” dessas amostras. Assim, é estabelecida a concentração mínima na qual a substância pode ser detectada. A relação sinal-ruído pode ser de 3:1 ou 2:1, proporções geralmente aceitas como estimativas do limite de detecção.

Quando a determinação por MS for efetuada por meio de varredura total, é obrigatória a presença no espectro de no

mínimo quatro íons com intensidades relativas  $\geq 10\%$  do pico base.

Pelo menos quatro íons devem atender ao critério das tolerâncias máximas permitidas de intensidades relativas de íons, expressas em porcentagem, com base na Tabela 7 (Brasil, 2011).

A relação sinal/ruído dos níveis estudados para as transições de quantificação manteve-se acima de seis no menor nível calibrado para todas as substâncias avaliadas, como exigência do Documento N° SANCO/12.571/2013 (EC, 2013).

Tabela 7 - Recomendações de tolerâncias máximas permitidas para intensidades relativas de íons utilizando diversas técnicas espectrométricas

| Intensidade relativa (% do pico base) | CI-GC-MS; GC-MS; LC-MS; LC-MS (relativo) |
|---------------------------------------|--|
| > 50%                                 | $\pm 20\%$                               |
| > 20% a 50%                           | $\pm 25\%$                               |
| >10% a 20%                            | $\pm 130\%$                              |
| < 10%                                 | $\pm 50\%$                               |

Fonte: SANCO (2013)

### 3.8.2. Linearidade

Para a maioria dos equipamentos de medição existentes são estabelecidas faixas dinâmicas lineares. É necessário, no entanto, verificar a coincidência da faixa de concentração do analito coincide com a faixa dinâmica linear para assegurar a ausência de outro fenômeno com impacto indesejável na resposta medida (INMETRO, 2010). Todo método quantitativo deve possuir faixa de concentração na qual o mesmo possa ser

aplicado, sendo a curva de calibração relacionada com esses limites. Esse procedimento representa a relação entre a resposta do instrumento e às quantidades conhecidas, controladas e verificadas do analito (ANVISA, 2003).

De acordo com a Comissão Europeia (EC), na construção da curva analítica devem ser utilizadas no mínimo cinco valores de concentrações, incluindo a zero. É necessário descrever a faixa de trabalho, a equação matemática e a regressão linear. Além desses parâmetros, é recomendado avaliar os valores dos resíduos da regressão linear, os quais precisam estar aleatoriamente distribuídos, para confirmar a linearidade do método (EC, 2011).

A linearidade da técnica pode ser confirmada no gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da Equação 1 da regressão linear, sendo determinada pelo método dos mínimos quadrados. Para tanto, precisam estar ausentes valores discrepantes para cada concentração e a homocedasticidade dos dados ser verificada, antes de se fazer a regressão linear (INMETRO, 2010).

Recomenda-se que a partir da regressão linear, além dos coeficientes de regressão a e b, também seja calculado o coeficiente de correlação linear (r). Este parâmetro permite avaliar a qualidade do modelo obtido, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados, ou seja, indica o quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático para o estudo de caso (Ribani et al., 2004; INMETRO, 2010).

$$y = a + bx \quad \text{Equação (1)}$$

Sendo que:

y= resposta medida (como absorvância ou altura ou área do pico);

x= concentração do analíto, variável independente;

a=interseção com o eixo y, quando x=0 (coeficiente linear);

b= inclinação da curva analítica (coeficiente angular) = sensibilidade (INMETRO, 2010).

De acordo com Moracci (2008), uma vez que as medições estão sujeitas a variações, é possível realizar estimativas em relação aos pontos duvidosos, por meio do cálculo de t, utilizando a Equação 2. Para cada ponto da curva ou somente para os duvidosos, o valor de  $t_{calculado}$  sendo menor ou igual ao valor de  $t_{tabelado}$  com (n - 1) graus de liberdade, considera-se que o ponto faz parte da curva, no intervalo de confiança desejado, e a faixa até esse ponto é linear (INMETRO, 2007). Calcular o modelo por meio da regressão linear, os resíduos e o coeficiente de correlação linear (r). Outra alternativa para avaliar a linearidade é a realização da análise de variância (ANOVA) na regressão (INMETRO, 2010).

$$t_{calculado} = \frac{\text{resíduo}}{\frac{S_r}{\sqrt{n}}} \quad \text{Equação (2)}$$

onde:

Resíduo =  $[X_{\text{médio}} - X_{\text{calculado}}]$

$S_r$  = desvio padrão dos resíduos

n = número de pontos da curva

### 3.8.3. Efeito matriz

Algumas técnicas instrumentais, como a espectrometria de massas acoplada à cromatografia, podem ser altamente seletivas, garantindo a identificação do analito e ausência ou quase nenhum efeito de matriz. O efeito matriz é parte do estudo de seletividade e objetiva averiguar possíveis interferências causadas por substâncias diversas e componentes da

matriz amostral, gerando, fenômenos de diminuição ou ampliação do sinal ou resposta instrumental (Brasil, 2011).

Uma das formas bastante empregada para essa avaliação do efeito matriz é a comparação do sinal analítico obtido para o analito que foi adicionado e extraído da matriz, com o sinal do analito em solvente apropriado, podendo-se comparar as inclinações das respectivas curvas analíticas construídas (Rocha, 2014).

#### 3.8.3.1. Ensaios de Fortificação

Segundo o INMETRO (2010), a recuperação do analito pode ser estimada por análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo. As amostras podem ser fortificadas com o composto alvo em pelo menos três concentrações diferentes: baixa, média e alta, em relação à faixa de uso do método, podendo esta ser calculada empregando-se a Equação 3 (Codex Alimentarius, 2003).

$$\text{Re } c\% = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \cdot 100 \quad \text{Equação (3)}$$

sendo:

$C_1$  = concentração determinada na amostra fortificada (branco);

$C_2$  = concentração determinada na amostra não fortificada;

$C_3$  = concentração usada para fortificação.

#### 3.8.4. Precisão

A precisão é o grau de concordância entre os resultados analíticos independentes obtidos com a aplicação do procedimento experimental sob condições previamente definidas e é expressa pelo coeficiente de variação em porcentagem (CV %) (Andrade, 2013).

O INMETRO (2010) define precisão de validação sendo normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as três formas mais comuns de expressá-la são: por meio de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade, sendo usual expressar por desvio padrão também conhecido como desvio padrão relativo (RSD%), é calculado utilizando a Equação 4. Valores de RSD% de até 20% são aceitáveis para métodos empregados em determinações de analitos em concentrações mínimas, ou seja, denominadas traços (INMETRO, 2010).

$$CV = RSD = \left(\frac{S}{X_m}\right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

sendo:

S = estimativa do desvio padrão absoluto;

$X_m$  = média das respostas das repetições para a concentração de interesse.

#### 3.8.4.1. Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas do mesmo método, efetuadas em situações de análise, chamadas condições de repetitividade, nas quais utilizam-se procedimentos e analista iguais; mesmo instrumento usado de forma semelhante e no mesmo local, além de repetições em curto intervalo de tempo. O termo repetitividade é adotado conforme o Vocabulário Internacional de Metrologia (INMETRO, 2000).

#### 3.8.4.2. Precisão Intermediária

Indica o efeito das variações ocorridas dentro do laboratório em consequência de eventos dias ou analistas ou equipamentos diferentes ou a combinação destes fatores

(Ich, 1995).

De acordo com Thompson et al. (2002), é necessário realizar a precisão intermediária de forma similar ao estudo da repetitividade, com a metodologia de fortificação para os ensaios de recuperação. Neste caso, o procedimento deve ser repetido em duas outras ocasiões, em condições diferentes dos ensaios de repetitividade, como na realização do procedimento por analistas diferentes, ou no uso de reagentes e solventes de diferentes procedências, ou na utilização de diferentes instrumentos.

#### 3.8.4.3. Reprodutibilidade

De acordo com o INMETRO (2010), embora a reprodutibilidade não seja componente de validação de método executado por laboratório único, é considerada importante quando busca-se a verificação do desempenho dos métodos de análise em relação aos dados de validação ou quando é almejada a verificação do desempenho por meio da comparação interlaboratorial. A partir do desvio padrão encontrado em condições reprodutíveis é possível calcular o limite de reprodutibilidade (R), o qual permite ao analista decidir se a diferença entre os valores da duplicata das amostras analisadas sob condições de reprodutibilidade é significativa.

#### 3.8.5. Veracidade

De acordo com o INMETRO (2010), os processos utilizados normalmente para avaliar a veracidade de métodos incluem uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais e procedimentos de ensaios de recuperação. Para Brasil (2011), a determinação da veracidade precisa ser feita por intermédio de experimentos de recuperação utilizando-se MRC. Caso esses

não sejam disponíveis, é necessário realizar a recuperação por intermédio de análises de matriz branca fortificada. Na falta de matriz branca, pode ser usada amostra de ensaio com baixa concentração do analito.

O sempre os MRC devem ser utilizados no processo de validação de um método de ensaio, sempre que possível, pois reagentes possuem concentração ou outra grandeza passível de análise padronizada, para cada parâmetro e incerteza analítica associada e padronizada. É muito importante, portanto, que o fornecimento desses MRC seja realizado por fornecedores reconhecidos e confiáveis (INMETRO, 2010).

### 3.8.6. Robustez

A robustez do método analítico é a medida da capacidade desse em resistir a pequenas e quaisquer variações dos parâmetros analíticos. Indica confiança durante o uso rotineiro da análise (ANVISA, 2003).

Segundo Brasil (2011), o procedimento robusto produz resultados mais reproduzíveis ao longo do tempo e, principalmente, apresenta maior portabilidade para outro laboratório, seja dentro da organização, no país ou até mesmo no exterior. A robustez do método pode deve ser demonstrada por intermédio de estudos de pré-validação e otimização do método e monitoramento por intermédio dos resultados das amostras controle e verificações de desempenho do sistema.

#### 3.8.6.1. Sensibilidade

O parâmetro demonstrativo da variação da resposta em função da concentração do analito é a sensibilidade. Esta pode ser expressa por grau de inclinação da reta de regressão de calibração, conforme a Equação 5, sendo determinada simultaneamente com os testes de linearidade. Essa característica depende da

natureza do analito e da técnica de detecção utilizada (INMETRO, 2007).

$$S = \frac{dx}{dc} \quad (\text{Equação 5})$$

sendo:

$S$  = sensibilidade

$dx$  = variação da resposta

$dc$  = variação da concentração

### 3.8.7. Incerteza de medição

Na química analítica são diversos os fatores que podem comprometer o resultado das medições. Minimizar os erros inerentes às mesmas por meio da declaração da estimativa de incerteza, tornou-se requisito fundamental à garantia de qualidade laboratorial (Moracci, 2008). A definição de incerteza de medição é: “*Parâmetro associado ao resultado de medição, caracteriza a dispersão que poderia ser razoavelmente atribuída ao mensurando*” (Eurachem, 2002).

A medida da incerteza é um indicador quantitativo da confiabilidade dos dados analíticos e descreve o intervalo em torno do resultado experimental, cujo valor verdadeiro se encontra com determinada probabilidade ou nível de confiança. Esses intervalos devem ser determinados considerando-se todas as fontes de erro, pois em conjunto com a exatidão, constituem parâmetros importantes de qualidade do resultado medido, possibilitando a comparabilidade e a avaliação da conformidade analítica em relação às normas, limites legais ou contratuais (Oliveira, 2011).

A incerteza pode ser descrita juntamente com todo o laudo de análise de medição, pois esse não está completo se faltar expressão de incerteza. A ISO 17.025 preconiza a avaliação da incerteza de

medição ou pelo menos a estimativa de principais componentes dessa característica (ISO, 2005).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Toxicologia da Escola de Veterinária da UFMG e de Pesticidas do Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO - Pedro Leopoldo, MG).

Nos testes de otimização e também em toda a validação, foram utilizadas 108 amostras de músculo bovino provenientes do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC). Conforme procedimentos do programa, essas amostras foram coletadas de frigoríficos que são inspecionados pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e encaminhadas ao LANAGRO/MG para pesquisa de contaminantes.

A etapa inicial de infusão dos analitos consistiu na determinação do íon precursor (íon pai) para cada padrão. Este íon é alcançado através da formação de um aduto entre a molécula neutra do agrotóxico e um dos seguintes íons  $H^+$ ,  $NH_4^+$  ou  $Na^+$ , em

modo ESI+, e  $H^-$  em do ESI-, gerando uma espécie carregada de massa igual a massa molecular do agrotóxico somada à massa do íon  $[M + \text{massa do íon}]^{+ou-}$ . A seleção do íon precursor foi baseada na intensidade do mesmo em um espectro de massas em *full scan* obtido no primeiro quadrupolo (Q1), os íons produzidos pela fragmentação do íon precursor no segundo quadrupolo (Q2). Estes íons foram monitorados empregando o modo *full scan* e a razão MRM foi calculada pela divisão das áreas das curvas da transição de qualificação pelas áreas dos picos das transições de quantificação. Com a média das razões obtidas a partir da curva de calibração,

calculou-se a tolerância máxima permitida.

Foram otimizados os parâmetros da fonte de ionização (Tabela 8), como: gás nebulizante (GS1) e gás auxiliar (GS2), a tensão elétrica do capilar (IS), os gases nitrogênio de colisão (*Collisionally Activated Dissociation, CAD Gas*) e a cortina de gás (*Curtain Gas, CUR*).

De acordo com o documento SANCO/10684/2009 (2013) e o guia de validação *in house* da *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)* (Thompson et al., 2002), a razão sinal/ruído (S/R) mínima para diferenciação inequívoca do sinal do analito dos sinais de interferentes deve ser de 3:1.

Tabela 8 - Parâmetros otimizados da fonte de ionização por ESI e do gás de colisão

| Parâmetros  | ESI (+) |
|---|---------|
| Tensão elétrica do capilar de <i>electrospray</i> (IS), V | 5500    |
| Cortina de gás ( <i>Curtain gas</i> ), psi                | 20      |
| Gás nebulizador (GS 1), psi                               | 35      |
| Gás auxiliar (GS 2), psi                                  | 35      |
| Temperatura da sonda °C                                   | 500     |
| Gás de colisão (CAD), psi                                 | 8       |
| Posição vertical da sonda                                 | 2       |

#### 4.1. Métodos do Ensaio

##### 4.1.1. Reagentes e materiais

- Acetonitrila grau HPLC, pureza mínima 99,0%, lote: 1478830, Lichrosolv, Merck (Darmsdat, Alemanha); Metanol grau HPLC, pureza mínima 99,0%, lote 9093-03, J. T. Baker (Xalostoc, México);

- Acetato de amônio PA. ACS, pureza mínima 98%, lote 0701036, Vetec (Rio de Janeiro, RJ);
  - Acetato de etila PA, espectroscópico; pureza mínima 99,0%, lote CR484, Burdick e Jackson (Muskegon, EUA);
  - Ácido fórmico 96%, lote FR0629- 015, Tedia (Ohio, USA);
  - Sulfato de magnésio anidro (MgSO<sub>4</sub>) pureza mínima 97%, lote 07818JH Sigma-Aldrich (Sant Louis, USA);
  - Acetato de amônio P.A. ACS, pureza mínima 98%, lote 0701036, Vetec (Rio de Janeiro, RJ);
  - Bondesil –PSA, 40 µm, lote 1210508, Varian (Palo Alto, USA);
  - Bondesil – C18, 40 µm, lote 0726809, Varian (Palo Alto, USA);
  - Água destilada e deionizada;
  - Água purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade 18,2 MW cm);
  - Padrões de referência dos agrotóxicos com pureza mínima de 98% rastreáveis a órgão certificado para materiais de referência.
  - Balões volumétricos calibrados junto a RBC de 10, 25, 100 e 1000ml.
  - Pesa padrão ou similar;
  - Espátulas metálicas;
  - Proveta de 1000 mL;
  - Dispensador de volume para 10 mL.
  - Tubos de centrífuga com tampa de rosca de rosca de 50 mL de polipropileno, tipo Falcon.
  - Tubos de centrífuga graduados de 2,0 mL de polipropileno (Sarstedt, Alemanha);
  - Grades para tubo de 2,0 e 50 mL;
  - Funil de Buchner;
  - Frascos de vidro de 2 mL tipo “vial” com tampa e septos de silicone ou teflon (PTFE);
  - Coluna para UPLC, Shim-Pack XR-ODS II (2,0 x 100 mm, 2,2 µm) da Shimadzu.
- #### 4.1.2. Equipamentos
- Balança analítica de precisão, modelo AUW200D, com resolução de 0,00001g, calibrada junto a Rede Brasileira de Calibração (RBC), Shimadzu (Kyoto, Japão);
  - Balança semianalítica, modelo MARK 500, com resolução de 0,001g, calibrada junto a RBC, BEEngineering (Piracicaba, SP);
  - Micropipeta eletrônica PIPETMAN Concept, com faixa de trabalho de 5 a 100 µL, calibrada junto a RBC, Gilson (Middleton, USA);
  - Centrífuga refrigerada Jouan CR 4i, Thermo Electron Corporation (Ohio, USA);
  - Agitador orbital tipo vortex, modelo MS 3 basic, IKA® Works INC., (Wilmington, USA);
  - Dispensador automático de solventes Dispensette III, com faixa de trabalho de 1 a 25 mL, calibrado junto a RBC (Wertheim, Alemanha);
  - Micropipeta eletrônica Linear, com faixa de trabalho de 100 a 1000 µL, calibrada junto a RBC (Curitiba, PR);
  - Freezer Biomédico Sanyo, modelo MDF-U537/U537D, com capacidade para atingir temperatura de -30° C (Osaka, Japão);
  - Sistema de cromatografia líquida de

ultra eficiência, Shimadzu (Kyoto, Japão), composto por:

- duas bombas binárias modelo LC20ADXR;
- injetor automático modelo SIL20ACXR;
- forno de coluna modelo;
- Detector MS, Triple Quad 5500 (Applied Biosystems, Canadá) com fonte API, utilizando o modo de ionização por Electrospray;
- Sistema de aquisição de dados através do software Analyst 4.1 (Applied Biosystems, Canadá).

#### 4.1.3. Padrões analíticos dos agrotóxicos estudados

Os agrotóxicos selecionados para este estudo estão listados no Quadro 4 (Anexo B), destacando-se os grupos químicos, classe de uso e fórmula molecular. Todos os padrões analíticos utilizados neste trabalho possuíam grau de pureza superior a 98% e foram adquiridos da Riedel-de Haën grau PESTANAL (Selze, Germany) ou Sigma-Aldrich (Sant Louis, USA).

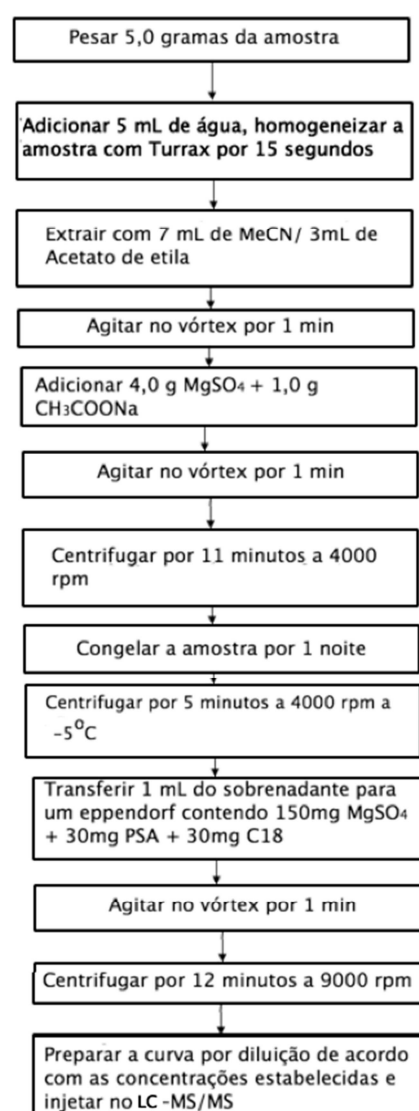
As soluções analíticas estoque dos agrotóxicos foram preparadas individualmente por meio de dissolução de 10,0 mg de padrão em acetonitrila retomado para o volume final de 10,0 mL. Este procedimento permitiu obter soluções estoque de concentrações de 1000 ng.L<sup>-1</sup>, conforme recomendação do documento SANCO/10684/2009 (2013).

Após o preparo, as soluções foram transferidas para frascos âmbar com tampa contendo batoque, rotuladas de forma indelével, e armazenadas em freezer a menos 20°C. Estas soluções estoques apresentaram estabilidade de 24 meses, armazenadas nas condições citadas e corretamente manipuladas.

#### 4.2. Extração de Resíduos de Agrotóxicos

O método de extração utilizado foi baseado no QuEChERS modificado e o equipamento utilizado para análise foi o LC-MS/MS com fonte *electrospray* TRIPLE QUAD 5500. Foram avaliados, por meio do método proposto, 188 analitos diferentes.

Figura 7 - Marcha analítica do método QuEChERS modificado para extração de agrotóxicos por LC-MS/MS em músculo bovino



Fonte: Oliveira (2011)



No método QuEChERS modificado foi introduzida etapa adicional. Esta consistiu em deixar os extratos, obtidos após a segunda adição de sulfato de magnésio, em repouso a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  por uma noite (12 horas). A marcha analítica do método está esquematizada na Figura 7.

Na Figura 8 mostra o aspecto da amostra ao ser retirada da centrifuga e como permanece após a centrifugação a 4000 rpm por nove minutos. O equipamento LC-MS/MS usado para as análises está apresentado na Figura 9.

Figura 8 - Amostra pós centrifugação e na centrifuga

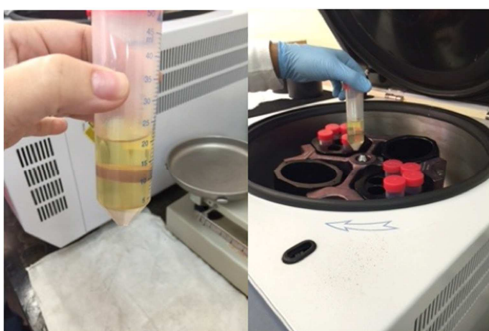


Figura 9 - Equipamento LC-MS/MS



#### 4.3. Condições Cromatográficas

A coluna utilizada foi Shim-pack XR-ODS II (2,0 x 100 mm, 2,2  $\mu\text{m}$ ). As injeções foram realizadas no sistema LC-MS/MS sob as seguintes condições: fluxo  $0,5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; volume de injeção  $5\text{ }\mu\text{L}$ , temperatura do forno de coluna  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , temperatura do amostrador automático  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  e tempo total de corrida de 13,0 min. Estas condições foram estabelecidas internamente pelo laboratório e empregadas em métodos validados em estudos realizados em outras matrizes (leite e matrizes de origem vegetal).

Para a fase móvel, em todo o experimento, a fase A foi composta por uma fração aquosa, e outra fase B, fase orgânica. A fração aquosa (A) foi composta de mistura de solução aquosa de acetato de amônio  $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  acidificada com 0,1% de ácido fórmico. A fase B foi o metanol. A fase móvel foi utilizada na forma de gradiente de eluição conforme descrito na Tabela 9.

Neste ensaio, os padrões do *pool* de agrotóxicos foram injetados em quadruplicata e o resultado foi avaliado quanto ao perfil de resposta cromatográfica para o cromatograma total dos padrões de agrotóxicos estudados.

Tabela 9 - Gradiente de eluição para o método multirresíduos

| Tempo (min) | % Acetato de amônio 10 mM / 0,1% ácido fórmico aquoso | % Metanol |
|-------------|---|-----------|
| 0,0         | 50  | 50        |
| 1,0         | 50  | 50        |
| 7,0         | 20  | 80        |
| 11,0        | 10  | 90        |
| 11,5        | 50  | 50        |
| 13,0        | 50  | 50        |

#### 4.3.1. Limites de detecção e quantificação

Segundo a ANVISA (2003), o limite de detecção é a menor quantidade do analito presente na amostra detectável, porém não é necessariamente quantificável, sob as condições experimentais estabelecidas. Ao serem realizadas medidas em amostras contendo baixas concentrações, como na análise de resíduos, é importante conhecer qual o menor valor do analito a ser detectado pelo método. O limite de detecção (LD) foi determinado a partir do desvio padrão das áreas dos picos do menor nível da curva de calibração, como mostrado na Equação 6.

$$LOD(mg.kg^{-1}) = \frac{(S_a) \times 3}{IC} \quad (\text{Equação 6})$$

em que:

$S_a$  = desvio-padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, três curvas de calibração construídas contendo concentrações do fármaco próximas ao suposto limite de quantificação. Este desvio-padrão pode ainda ser obtido a partir da curva de calibração proveniente da análise de um número apropriado de amostras do branco;

IC = inclinação da curva de calibração.

O limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito a ser determinada com incerteza aceitável e exatidão. É definida como o valor correspondente a 10 vezes o desvio-padrão da área do pico do analito no menor nível aceitável, ou seja desvio-padrão relativo da área menor ou igual a 20%. Sendo assim, o limite de quantificação é calculado de acordo com a Equação 7 (ANVISA, 2003).

$$LOQ(mg.kg^{-1}) = 3,33 \times LO \quad (\text{Equação 7})$$

onde:

LD = limite de detecção.

#### 4.4. Validação do Método QuECHERS Modificado para Determinação e Quantificação de Resíduos de Agrotóxicos em Carne Bovina

No presente estudo, o procedimento de validação foi conduzido conforme os critérios de aceitabilidade adotados que atendem as recomendações explicitadas no Manual de Garantia da Qualidade Analítica do MAPA-MG, “Validação de métodos multirresíduos para análise de agrotóxicos” e no documento SANCO/12.571/2013.

Os seguintes parâmetros necessários para a validação foram analisados, seletividade, linearidade, efeito matriz, precisão, veracidade, limite de detecção e quantificação, robustez e incerteza de medição do método.

##### 4.4.1. Seletividade

A técnica de espectrometria de massas por analisador do tipo triplo quadrupolo caracteriza-se por ser altamente seletiva. Duas transições MRM foram utilizadas no método, uma para quantificação e outra para qualificação. Os cromatogramas obtidos foram avaliados quanto à presença de sinais dos íons monitorados para cada um dos agrotóxicos ensaiados nos estudos de validação.

##### 4.4.2. Estudos de linearidade e efeito matriz

Para a construção da curva analítica foram injetados, independentemente, sete níveis de concentração em seis replicatas por nível, correspondendo respectivamente a 0,005; 0,0075; 0,010; 0,025; 0,050; 0,075 e 0,100 mg.kg<sup>-1</sup>. As injeções foram feitas de forma aleatória com o objetivo de eliminar possíveis efeitos de memória muito comuns quando níveis de concentração distintos são analisados de modo sequencial, reduzindo o risco de leituras equivocadas. Cada nível de concentração foi injetado quatro vezes. Avaliou-se para cada nível a integração dos

picos cromatográficos e os resultados obtidos, selecionando entre essas cinco concentrações diferentes para compor a curva analítica a ser validada. Os critérios adotados para a escolha dos níveis da curva analítica foram a razão sinal/ruído para a substância em estudo, por nível de concentração avaliado. Nos resultados dos ensaios de recuperação considerou-se como mínimo o valor do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) acima de 90%. A verificação da homocedasticidade das variâncias das respostas instrumentais ao longo de toda a faixa de trabalho foi feita pelo teste F de Fisher, após a verificação e remoção de valores extremos pelo teste de Grubbs. O valor de  $F_{\text{calculado}}$  foi comparado com o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  para o nível de significância de 5% e graus de liberdade ( $n-1$ ). Se  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ , o desvio-padrão não era significativamente diferente, os dados foram considerados homocedásticos. Quando  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ , o desvio-padrão era muito diferente, os dados foram considerados heterocedásticos.

A partir da construção da primeira curva selecionaram-se os cinco níveis seguintes de concentrações 0,010; 0,025; 0,050; 0,075 e 0,100 mg.kg<sup>-1</sup>, para melhor construção da curva analítica. Foi possível observar uma melhor linearidade no ajuste da curva com coeficiente de determinação acima de 99%.

#### 4.4.3. Precisão

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade dos resultados e da precisão intermediária. Foi medida através do coeficiente de variação (CV%) entre as medições, conforme Equação 4.

#### 4.4.4. Veracidade

Foram realizados estudos para a determinação da veracidade para os agrotóxicos em 4 níveis de concentração. Os valores das médias das recuperações

devem estar na faixa de 70 - 120%. O teste foi realizado com a carne bovina e o procedimento de extração foi realizado conforme item 4.2.

#### 4.4.5. Limite de detecção e quantificação

Os valores do LOD foi determinados através do menor nível de concentração para o qual houve detecção inequívoca das duas transições do analito nas amostras adicionadas de padrão, empregadas na construção da curva analítica. Distinguindo de zero (sinal da amostra adicionada / ruído da amostra branca  $\geq 3$ ), mas não necessariamente quantificada. O LOQ foi a menor concentração que, ao ser fortificado na matriz, apresentou recuperação entre 70 e 120%, com coeficiente de variação menor ou igual a 20%.

Estes limites foram determinados com base nos resultados médios de recuperações e CV% obtidos para as replicatas de amostras adicionadas nos diferentes níveis de concentração estudados.

#### 4.4.6. Robustez

A robustez do método foi verificada através dos testes de otimização e perante as pequenas variações que o método podia apresentar durante a sua execução. Uma série de parâmetros de aptidão foram estabelecidos para assegurar que a validade do método analítico e da qualidade dos resultados obtidos pela aplicação do método serão mantidos sempre que o método for usado. Assim, as variações avaliadas dos parâmetros e o conjunto de resultados obtidos na fase de otimização do método foram suficientes para garantir a robustez.

#### 4.4.7. Incerteza de medição

Os ensaios de quantificação da incerteza de medição associada à determinação/quantificação de cada analito

foram realizados através dos dados gerados pelos quatro dias de validação. Preliminarmente foram levantadas, através do diagrama de causa e efeito, ou diagrama de Hishikawa (EURACHEM, 2002), as principais fontes de incerteza do método. Baseando-se nos parâmetros levantados pelo diagrama de causa e efeito, os dados dos ensaios de validação foram tratados e a incerteza de medição do método determinada para cada agrotóxico individualmente. As principais fontes de incerteza para o método são preparação dos padrões, a curva analítica, os ensaios de precisão intermediária e a preparação da amostra.

#### 4.4.8. Preparação de *pools* da validação

Prepararam-se 100 mL da mistura (*pool*) de concentração  $4,0 \text{ ng.L}^{-1}$ , contendo os 188 agrotóxicos estudados. Para isso, transferiu-se o volume adequado de cada solução estoque, para balão volumétrico de 100 mL, contendo pequeno volume de acetonitrila. Posteriormente, o volume foi completado com o mesmo solvente. O *pool* assim obtido foi armazenado em frascos âmbar, com capacidade de 40 mL, rotulados de forma indelével, para evitar manipulação constante do volume total das soluções, prevenindo-se com isso, problemas de contaminações e/ou evaporação, resultando assim na estabilidade por dois anos (SANCO, 2013).

Esses *pools* foram utilizados para os ensaios de fortificação e para preparar as soluções analíticas, por meio de diluições, nas concentrações de  $2,0$  e  $4,0 \text{ ng.}\mu\text{L}^{-1}$ , utilizadas para o estudo de linearidade e confecção das curvas analíticas matrizadas de cada composto (Tabela 10).

As soluções analíticas foram preparadas com acetonitrila e armazenadas em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ . Antes da utilização, estas foram retiradas do freezer, deixadas para atingir a temperatura ambiente e em seguida,

agitadas manualmente para completa homogeneização.

Tabela 10 - Preparo das amostras fortificadas

| Nível de fortificação ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) | Massa amostra (g) | Conc. do <i>pool</i> ( $\text{ng.}\mu\text{L}^{-1}$ ) | Volume adicionado do <i>pool</i> ( $\mu\text{L}$ ) |
|---|-------------------|---|--|
| 0,010   | 5,0               | 2,0   | 25,0   |
| 0,0250  | 5,0               | 2,0   | 62,5   |
| 0,050   | 5,0               | 4,0   | 62,5   |
| 0,100   | 5,0               | 4,0   | 125  |

#### 4.5. Extração de Agrotóxicos em Amostras Comerciais

Foram adquiridas amostras comerciais de musculatura bovina ( $n=32$ ) provenientes na região noroeste de Belo Horizonte (MG). A escolha foi o corte de patinho, que segundo Cruz et al. (2015) trata-se de um corte comercial e está localizado no traseiro onde o fluxo sanguíneo é mais intenso. O método utilizado para a extração dos agrotóxicos nas amostras de músculo bovino foi o QuEChERS modificado.

Foi realizada pesquisa dos 171 agrotóxicos validados previamente no estudo por meio da LC-MS/MS no Laboratório de Pesticidas do Laboratório Nacional Agropecuário de Minas Gerais (LANAGRO-MG).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 12 (Apêndice A) são mostrados os valores otimizados: potencial de *declustering* (DP) para os íons precursores, energia de colisão (CE) e potencial de saída da célula de colisão (CXP) para os padrões de agrotóxicos infundidos no espectrômetro de massas em ionização por *electrospray* positivo,

assim como os íons precursores e os íons produtos. A otimização foi conduzida no modo automático e a eluição foi realizada no modo isocrático para todos os compostos.

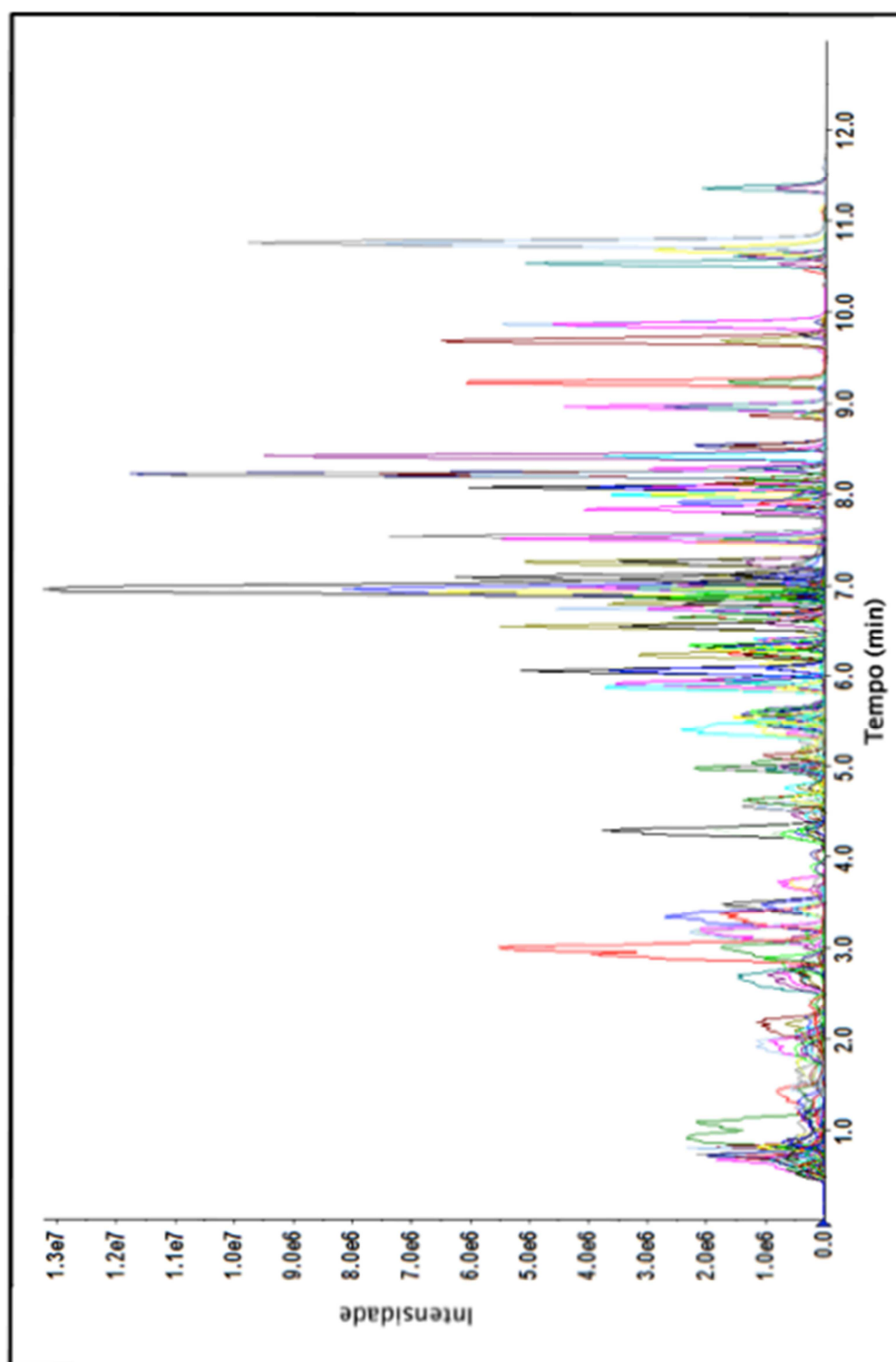
O método QuERCHERS se mostrou eficaz atendendo a legislação quanto aos níveis de recuperação (entre 70 e 120%). E, não houve efeito da matriz por ter sido utilizada a curva analítica matrizada.

Stubblings e Bigwood (2009) também utilizaram o método QuEChERS para análises de resíduos de medicamentos veterinários em tecidos animais e afirmaram que, este procedimento multirresíduo de extração simplifica e reduz o tempo necessário para completar a extração e processos de limpeza das amostras.

Prestes (2011) utilizou o método QuEChERS na validação de método para aplicação na determinação de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em amostras de origem animal (carne, fígado, rim, leite e ovo) e afirmou que a vantagem do procedimento é a modernidade e o dinamismo, além de poder ser aplicado em qualquer laboratório, devido a simplificação de etapas lentas e trabalhosas, geralmente empregadas em outros métodos de extração.

O perfil cromatográfico da Figura 10 demonstra a exequibilidade da técnica LC-MS/MS para a análise de multirresíduos em corrida única, não comprometendo a qualidade da resposta de cada agrotóxico em relação à cromatografia, mesmo sendo de alta complexidade. Isto foi possível porque o sistema de detecção de massas permitiu separar individualmente cada transição m/z, gerando seus cromatogramas próprios, o qual pôde ser extraído do cromatograma total com o auxílio do *software* de controle do sistema e tratamento de dados.

Figura 10 - Cromatograma obtido a partir de um ensaio de fortificação contendo todos os analitos na concentração de  $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$



## 5.1. Validação da Análise Química

### 5.1.1. Seletividade

A seletividade do método LC-MS/MS foi avaliada por meio da injeção de extratos de matriz branca, de reagente e solvente puro e comparação dos cromatogramas obtidos com as soluções que continham o analito. A ausência de sinais provenientes de compostos interferentes da matriz no mesmo tempo de retenção dos analitos, considerando as respectivas transições MRM, confirmou a seletividade do método. Almeida (2011) em análises de  $\beta$ -lactâmicos e tetraciclinas em amostras de rins suíno, equino, bovino e de ave, e Mendonça (2012) pesquisando resíduos de antimicrobianos em músculo de frango e bovino também descreveram a seletividade do método de forma semelhante a este estudo.

A ausência de resultados falsos positivos para as amostras brancas, associada ao perfil indistinguível dos analitos estudados entre amostras fortificadas e padrões, com S/R superior a 3, foram considerados suficientes para determinação da seletividade. Dessa forma, a técnica de detecção e quantificação do método LC-MS/MS apresentou alta seletividade como característica real, sem comprometimento por interferentes da matriz sendo esta, frequentemente requerida em situações regulamentares e legais.

### 5.1.2. Linearidade e efeito matriz

Os dados foram tratados de acordo com Oliveira (2011). Após remoção dos valores extremos identificados por meio do teste de *Grubbs* em cada nível, realizou-se o teste *F* de homocedasticidade das variâncias dos resíduos.

O teste é realizado através do cálculo do desvio-padrão das replicatas ( $n = 6$ ) com o menor e ao mais alto nível da faixa de

trabalho. O valor calculado de *F* é obtido dividindo-se a maior pela menor variância da série de replicatas por nível de concentração, conforme a equação:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{S_{\text{maior}}^2}{S_{\text{menor}}^2} \text{ Equação (8)}$$

O valor de  $F_{\text{calculado}}$  assim obtido é comparado com o valor de  $F_{\text{tabelados}}$  para o nível de significância de 5% e graus de liberdade ( $n-1, n-1$ ).

Se  $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}}$ , o desvio padrão não é muito diferente e os dados podem ser considerados homocedásticos.

Se  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ , o desvio padrão é muito diferente e os dados são considerados heterocedásticos.

A avaliação da linearidade foi conduzida por meio da plotagem dos dados experimentais, áreas das curvas cromatográficas em função do nível de concentração. O teste de homocedasticidade definiu o tipo de ajuste da curva de regressão, método dos mínimos quadrados ordinário (MMQO) para dados homocedásticos ou, para dados heterocedásticos, método dos mínimos quadrados ponderado relativo (MMQPR), usando como peso  $1/s^2$  ou  $1/x$ , ou regressão múltipla. A qualidade do ajuste e a significância do modelo de regressão empregado foram avaliadas por análise de variância (ANOVA). O nível de significância utilizado em todos os testes foi de 95%.

As tabelas de análise de variância (ANOVA, do inglês "Analysis Of Variance") comuns em diversos tipos de estudos estatísticos, e frequentemente incorporadas nos programas dedicados à regressão e nas folhas de cálculo que incluem este tipo de estudos seguem normalmente a organização dos valores indicada na Tabela 13.

Tabela 11 - Tabela de ANOVA para o ajuste pelo método dos mínimos quadrados, de um modelo linear dos parâmetro.

| Fonte de variação | Nº de graus de liberdade  | Soma quadrática   | Média quadrática                    | F  |
|-------------------|---------------------------|---|-------------------------------------|--|
| Regressão         | $p - 1$                   | $SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$                | $MQ_R = \frac{SQ_R}{p - 1}$         | $F_{(p-1);(n-p)} = \frac{MQ_R}{MQ_r}$        |
| Resíduos          | $n - p$                   | $SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$                 | $MQ_r = \frac{SQ_r}{n - p}$         |  |
| Falta de ajuste   | $m - p$                   | $SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$          | $MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m - p}$ | $F_{(m-p);(n-m)} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$ |
| Erro puro         | $n - m$                   | $SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$              | $MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n - m}$   |  |
| <b>Total</b>      | <b><math>n - 1</math></b> | <b><math>SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2</math></b> |                                     |  |

$n_i$  = número de repetições do nível  $i$ ;  $m$  = número de níveis distintos da variável independente;  $n \sum n_i$  = número total de observações ;  $p$  = número de parâmetros do modelo.

O teste do ajuste são feitos através do cálculo da razão das médias quadráticas, ou

seja,  $F_{(m-p);(n-m)} = \frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$  e compara-se o

valor obtido com  $F_{\text{tabelado}} = F_{(m-p);(n-m); \alpha/2}$ , para o nível de significância de 5%. Se  $F_{\text{calculado}} \leq F_{\text{tabelado}}$ , aceita-se a linearidade, ou seja, o ajuste do modelo é considerado satisfatório. Caso contrário, novo modelo para o ajuste deverá ser proposto. Por exemplo, ajustes polinomiais.

Na Figura 11 são apresentados os resultados obtidos para os estudos de linearidade para o analito aletrina. Observa-se na figura que após a remoção de um *outlier* (linha 27) o ajuste linear mais adequado aos dados foi a ponderado por  $1/x$ , uma vez que os dados mostraram um perfil heterocedástico de distribuição para seus resíduos. Os resultados apresentados na figura indicam que tanto a qualidade do ajuste quanto a significância da regressão foram expressivos. Além disso o valor obtido para  $R^2$  apresentou resultado satisfatório no teste realizado.



Figura 11 - Imagem em *print screen* da análise da curva de calibração para o primeiro dia de ensaio para o analito aletrina

| Campos preenchidos pelo usuário |       | Método (t/x) |            | Y (calculado) |       | menor valor |  | maior valor |  |
|---------------------------------|-------|--------------|------------|---------------|-------|-------------|--|-------------|--|
| 1                               |       |              |            |               |       |             |  |             |  |
| 2                               | 0,01  | 147000       | 1,5439E-05 | 1,441         | 1,441 | 1,343       |  |             |  |
| 3                               | 0,01  | 162000       | 1,5439E-05 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 4                               | 0,01  | 143000       | 1,5439E-05 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 5                               | 0,01  | 157000       | 1,5439E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 6                               | 0,01  | 151000       | 1,5439E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 7                               | 0,025 | 341000       | 3,5567E-05 | 1,009         | 1,254 | 1,009       |  |             |  |
| 8                               | 0,025 | 379000       | 3,5567E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 9                               | 0,025 | 367000       | 3,5567E-05 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 10                              | 0,025 | 347000       | 3,5567E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 11                              | 0,025 | 343000       | 3,5567E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 12                              | 0,025 | 384000       | 3,5567E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 13                              | 0,05  | 713000       | 6,9113E-05 | 1,400         | 1,323 | 1,400       |  |             |  |
| 14                              | 0,05  | 759000       | 6,9113E-05 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 15                              | 0,05  | 698000       | 6,9113E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 16                              | 0,05  | 694000       | 6,9113E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 17                              | 0,05  | 699000       | 6,9113E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 18                              | 0,05  | 678000       | 6,9113E-05 |               |       |             |  |             |  |
| 19                              | 0,075 | 1050000      | 1,0296E-06 | 1,475         | 1,411 | 1,475       |  |             |  |
| 20                              | 0,075 | 1050000      | 1,0296E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 21                              | 0,075 | 1070000      | 1,0296E-06 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 22                              | 0,075 | 939000       | 1,0296E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 23                              | 0,075 | 1010000      | 1,0296E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 24                              | 0,075 | 1120000      | 1,0296E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 25                              | 0,1   | 1390000      | 1,3621E-06 | 1,064         | 1,483 | 1,064       |  |             |  |
| 26                              | 0,1   | 1270000      | 1,3621E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 27                              | 0,1   | 1310000      | 1,3621E-06 | aceitar       |       | aceitar     |  |             |  |
| 28                              | 0,1   | 1320000      | 1,3621E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 29                              | 0,1   | 1460000      | 1,3621E-06 |               |       |             |  |             |  |
| 30                              | 0,1   | 1460000      | 1,3621E-06 |               |       |             |  |             |  |

| Valores críticos para o teste de Grubbs |       |  |  |
|---|-------|--|--|
| para 5%                                 | 1,857 |  |  |
| para 1%                                 | 1,973 |  |  |

| Homocedasticidade dos dados experimentais |  |
|---|--|
| Heterocedásticas                          |  |

| ANOVA DA REGRESSÃO |                   |                   |            |
|--------------------|-------------------|-------------------|------------|
| Fonte de variação  | Grau de liberdade | SQ                | MQ         |
| Regressão          | 1                 | 5,3433E+12        | 5,3433E+12 |
| Resíduos           | 27                | 4,6296E+10        | 1,7147E+09 |
| Falta de ajuste    | 3                 | 1,1646E+09        | 3,8819E+08 |
| Erro puro          | 25                | 1,66666667        | 4,5131E+10 |
| <b>Total</b>       | <b>28</b>         | <b>5,3999E+12</b> |            |

| Teste F para o Coeficiente de Correlação |                 |
|--|-----------------|
| crítico =                                | 1,7033          |
| $t_{max}$ =                              | 55,8236         |
| $R^2$                                    | <b>Adequado</b> |

| Parâmetros da Curva Analítica               |          |
|---|----------|
| Parâ Ordem 0 (b <sub>0</sub> ) = intercepto | 2,02E-04 |
| Parâ Ordem 1 (b <sub>1</sub> ) =            | 1,34E+07 |
| Parâ Ordem 2 (b <sub>2</sub> ) =            |          |

| Varâncias e Covariâncias                 |           |
|--|-----------|
| Var(b <sub>0</sub> ) =                   | 1,15E-02  |
| Var(b <sub>1</sub> ) =                   | 8,09E+00  |
| Var(b <sub>2</sub> ) =                   |           |
| Cov (b <sub>0</sub> , b <sub>1</sub> ) = | -2,21E-01 |
| Cov (b <sub>0</sub> , b <sub>2</sub> ) = |           |
| Cov (b <sub>1</sub> , b <sub>2</sub> ) = |           |

| Coeficiente de correlação |          |
|---------------------------|----------|
| $r_0(y)$                  | 8,30E+00 |
| $R^2$ =                   | 0,991    |
| R =                       | 0,996    |

| Qualidade do ajuste:        |                                |
|-----------------------------|--------------------------------|
| Significância da regressão: | <b>Ajuste significativo</b>    |
| Significância da regressão: | <b>Regressão significativa</b> |

Pamel e Daeseleire (2015) desenvolveram um método para a detecção e quantificação de 15 drogas anti-inflamatórias não esteróides por cromatografia líquida acoplada ao espectrometro de massas tandem em carne de bovina e leite. Para ambas as curvas de calibração das matrizes os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram iguais ou superiores a 0,99%, indicando que o critério linearidade foi cumprido para todos os compostos. Os critérios adotados para avaliar cada resultado obtido e aceitá-lo como validado seguiram como referência o documento “Critérios de aceitação dos resultados de validação de métodos analíticos” (Brasil, 2011).

Prestes (2011) através dos dados obtidos para a construção das curvas analíticas, e análise das equações das retas obtidas no LC-MS/MS concluiu que o modelo de regressão linear foi o adequado para as determinações analíticas do estudo. Os agrotóxicos e medicamentos veterinários presentes nas soluções analíticas apresentaram  $r^2$  de no mínimo de 0,99, sendo que mais de 75% de todas as soluções apresentaram este parâmetro acima de 0,995.

### 5.1.3. Precisão, veracidade, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

No Quadro 5 são apresentados os resultados das recuperações médias (%;  $n=6$ ) e o CV%, para os 188 agrotóxicos fortificados no músculo bovino, nas concentrações de 0,010, 0,025, 0,050, 0,100  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , extraídos pelo método QuEChERS modificado e analisados por LC-MS/MS em modo de ionização ESI+ conforme condições de detecção otimizadas.

A avaliação da veracidade do método foi realizada a partir dos dados obtidos do ensaio de recuperação e os limites de

quantificação determinados para os agrotóxicos que apresentaram bom desempenho nos estudos de validação (Quadro 4). Estes resultados se assemelham aos de Andrade (2013) que determinou a veracidade de resíduos de praguicidas em tomate, bem como aos de Schneider et al. (2015), os quais validaram 100 drogas veterinárias em músculo bovino, ambos preenchendo os critérios de 70-120% para recuperação. Assim como Silva (2008) que otimizou e validou uma técnica de análise de resíduos dos agrotóxicos clorpirifós, endosulfan, cipermetrina e deltametrina em amostras comerciais de fígado e carne bovina (alcatra) adquiridas na cidade de Viçosa-MG, utilizando GC com detector por captura de elétrons. As porcentagens de recuperação foram superiores a 70 % e os limites de detecção abaixo dos LMR estabelecidos pelo *Codex Alimentarius*.

Os limites de quantificação determinados se apresentaram na faixa de 0,005 a 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para os agrotóxicos validados. A concentração 0,005  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  foi injetada para confirmação do limite de detecção do método. Para analitos para os quais existe LMR estabelecido para o músculo bovino na legislação brasileira, todos os limites de quantificação determinados ficaram abaixo do LMR. Os estudos de precisão intermediária foram realizados em dois dias distintos por dois analistas diferentes.

Dos 188 analitos pesquisados, 105 não constam na Instrução Normativa de 13 de julho de 2015 (Brasil, 2015). No *Codex Alimentarius* (2010), 69 analitos possuem LMR definido para alimentos e ração. Ressalta-se neste trabalho, a abrangência das análises.

Os compostos validados no método quantitativo foram detectados e confirmados para as duas transições, apresentaram razão sinal/ruído inferior a 3:1 no LD, passaram na razão de íons e,

atenderam a todos os critérios de aceitação para percentual de recuperação, coeficiente de variação e incerteza expandida.

De acordo com o Quadro 4, os agrotóxicos não validados, foram aqueles não detectados em pelo menos em uma das transições estudadas ou, se detectados, apresentaram razão sinal/ruído inferior a 3:1 no limite de detecção. Os analitos validados no método qualitativo foram os detectados e confirmados para as duas transições, apresentaram razão sinal/ruído inferior a 3:1 no LD e passaram na razão de íons mas, não atenderam aos critérios de aceitação para Rec%, CV% e U%.

Alguns analitos como mostrado no Quadro 4, foram validados com LOQ de 0,025 mg.kg<sup>-1</sup>, pois a concentração 0,01 mg.kg<sup>-1</sup> não atendeu aos critérios de recuperação. Para aceitar recuperações fora da faixa, isto deve ocorrer em todos os níveis e com CV e incerteza aceitáveis. Este critério foi aplicável para recuperações < 70%. Tais analitos foram Buprofenzina, Di-alato, Etiprole, Fenamifós, Fluquiconazol, Imidacloprido, Indoxacarbe, Metoxifenoazida, Oxassulfuron, Parationa Etflica, Sulfossulfuron e Triadmefon.

Quadro 5 - Recuperações médias (%), coeficientes de variação (CV%), incerteza expandida do método, limites de detecção, limites de quantificação do método, obtidos em leite, e valores de LMR para cada agrotóxico

| Agrotóxico/ nível de concentração | 0,010 mg/kg  |      |      | 0,025mg/kg |      |      | 0,050 mg/kg |      |      | 0,100 mg/kg |      |      | LOD mg/kg | LOQ mg/kg | LMR mg/kg         |
|-----------------------------------|--------------|------|------|------------|------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|-----------|-----------|-------------------|
|                                   | Rec. %       | CV % | U %  | Rec. %     | CV % | U %  | Rec. %      | CV % | U %  | Rec. %      | CV % | U %  |           |           |                   |
| 1 3- Hidroxicarbofurano           | 101,8        | 16,3 | 35,6 | 98,0       | 14,0 | 16,3 | 89,6        | 15,4 | 13,1 | 86,9        | 13,3 | 12,5 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>a</sup> |
| 2 Acefato                         | Não validado |      |      |            |      |      |             |      |      |             |      |      | 0,005     | 0,01      | 0,02 <sup>b</sup> |
| 3 Acetamiprido                    | 91,7         | 12,9 | 26,7 | 104,7      | 8,0  | 14,1 | 94,4        | 8,1  | 12,3 | 90,8        | 6,8  | 12,7 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 4 Alacloro                        | 98,5         | 12,2 | 20,3 | 100,6      | 15,0 | 13,6 | 93,5        | 10,0 | 12,1 | 94,6        | 10,3 | 12,5 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 5 Aldicarbe                       | 98,4         | 9,1  | 16,6 | 105,5      | 14,5 | 12,9 | 94,6        | 8,1  | 11,8 | 95,2        | 9,0  | 12,3 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 6 Aldicarbe sulfona               | 100,3        | 16,3 | 43,0 | 100,8      | 18,6 | 18,6 | 92,4        | 9,1  | 13,0 | 93,1        | 7,3  | 13,0 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 7 Aldicarbe sulfóxido             | 81,3         | 9,3  | 23,2 | 91,0       | 11,1 | 13,6 | 81,7        | 8,4  | 12,0 | 76,6        | 6,0  | 12,5 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 8 Aletrina                        | 91,0         | 12,9 | 14,9 | 96,4       | 12,9 | 12,4 | 92,0        | 5,7  | 11,5 | 91,8        | 7,8  | 11,6 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>a</sup> |
| 9 Ametrina                        | 98,1         | 5,8  | 18,3 | 101,2      | 12,8 | 12,9 | 92,3        | 4,7  | 11,5 | 93,2        | 5,3  | 11,5 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>a</sup> |
| 10 Avermectina B1a                | 101,1        | 6,4  | 14,4 | 100,4      | 12,5 | 12,3 | 94,0        | 5,2  | 11,4 | 92,6        | 6,7  | 11,6 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 11 Azinfós etil                   | 86,4         | 12,9 | 39,6 | 99,8       | 15,7 | 18,0 | 93,5        | 11,8 | 13,6 | 97,2        | 8,1  | 13,6 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 12 Azinfós metil                  | 99,0         | 7,3  | 23,3 | 98,8       | 12,8 | 13,7 | 95,3        | 10,2 | 12,1 | 93,5        | 7,3  | 12,3 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 13 Azoxistrobina                  | 100,8        | 17,1 | 24,9 | 105,5      | 17,1 | 14,8 | 97,5        | 12,1 | 12,7 | 95,4        | 12,9 | 13,7 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 14 Barban                         | 102,5        | 12,6 | 22,3 | 96,3       | 15,7 | 14,1 | 90,1        | 11,5 | 12,4 | 93,0        | 11,1 | 12,7 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 15 Benalaxil                      | 96,6         | 14,9 | 26,9 | 99,0       | 14,0 | 14,9 | 96,5        | 7,2  | 12,4 | 95,1        | 10,7 | 13,1 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 16 Benfuracarbe                   | 91,1         | 15,1 | 28,5 | 97,3       | 18,1 | 16,0 | 83,8        | 9,4  | 12,9 | 80,5        | 14,8 | 14,0 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 17 Benomil                        | Não validado |      |      |            |      |      |             |      |      |             |      |      | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>a</sup> |
| 18 BF 500-3                       | 93,3         | 10,4 | 44,0 | 97,0       | 18,3 | 19,6 | 100,4       | 15,8 | 14,7 | 94,3        | 16,6 | 15,4 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>a</sup> |
| 19 Bitertanol                     | 94,0         | 15,2 | 38,1 | 102,7      | 18,1 | 17,3 | 91,2        | 12,6 | 13,0 | 89,2        | 11,0 | 13,0 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 20 Boscalida                      | 92,4         | 18,3 | 38,0 | 99,4       | 14,6 | 16,9 | 93,3        | 10,0 | 12,7 | 99,5        | 11,5 | 12,9 | 0,005     | 0,01      | 0,70 <sup>b</sup> |
| 21 Buprofenzina                   | 86,0         | 24,9 | 50,5 | 94,1       | 11,8 | 19,4 | 90,9        | 6,6  | 12,8 | 87,2        | 8,0  | 12,6 | 0,005     | 0,025     | 0,05 <sup>b</sup> |
| 22 Cadusafos                      | 101,1        | 14,6 | 26,2 | 97,5       | 11,5 | 14,0 | 88,3        | 7,6  | 11,9 | 87,5        | 8,5  | 12,1 | 0,005     | 0,01      | 0,01 <sup>b</sup> |
| 23 Carbaril                       | 98,6         | 11,8 | 20,2 | 99,3       | 9,7  | 12,8 | 91,5        | 8,7  | 11,8 | 92,5        | 8,1  | 11,7 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |
| 24 Carbendazim                    | 92,9         | 13,1 | 31,3 | 97,2       | 15,2 | 15,5 | 94,7        | 13,1 | 12,7 | 90,5        | 7,9  | 12,1 | 0,005     | 0,01      | 0,05 <sup>b</sup> |

|    |                        |                    |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |       |       |                   |                   |
|----|------------------------|--------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|------|-------|-------|-------------------|-------------------|
| 25 | Carbofurano            | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |                   |
| 26 | Carbossulfano          | 95,6               | 13,2 | 23,7 | 97,0  | 12,8 | 13,6 | 92,4  | 8,4  | 11,8 | 80,0  | 11,2 | 12,1  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 27 | Carpropamida           | 90,8               | 16,9 | 24,7 | 100,3 | 14,9 | 14,3 | 98,2  | 18,5 | 13,4 | 94,7  | 9,6  | 12,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 28 | Cialofope butil        | 86,4               | 17,3 | 24,1 | 99,6  | 13,4 | 13,9 | 94,5  | 15,6 | 12,9 | 92,3  | 12,2 | 13,2  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 29 | Ciazofamida            | 98,9               | 12,5 | 34,0 | 93,6  | 13,6 | 15,8 | 92,7  | 12,0 | 12,5 | 84,9  | 15,5 | 12,7  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 30 | Ciflufenamida          | 100,9              | 17,5 | 36,6 | 111,6 | 19,2 | 17,0 | 107,2 | 15,4 | 13,1 | 100,5 | 15,8 | 12,9  | 0,005 | 0,01              | 0,03 <sup>b</sup> |
| 31 | Cimoxanil              | 101,5              | 8,0  | 31,0 | 99,2  | 12,5 | 15,1 | 92,1  | 14,7 | 12,7 | 85,4  | 13,0 | 12,3  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 32 | Cinidon etílico        | 95,9               | 11,7 | 39,9 | 94,8  | 12,6 | 17,2 | 94,4  | 8,4  | 12,5 | 94,0  | 12,6 | 12,6  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 33 | Cipermetrina           | 99,7               | 7,9  | 22,2 | 98,6  | 11,8 | 13,3 | 91,0  | 10,4 | 11,9 | 88,4  | 10,0 | 11,8  | 0,005 | 0,01              | 2,00 <sup>b</sup> |
| 34 | Ciproconazol           | 96,7               | 7,7  | 27,4 | 94,8  | 13,8 | 14,5 | 92,0  | 7,7  | 11,9 | 91,7  | 7,3  | 11,7  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 35 | Ciprodinil             | 93,9               | 15,3 | 22,6 | 96,3  | 11,1 | 13,2 | 94,8  | 8,7  | 11,8 | 93,9  | 7,9  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 36 | Ciromazina             | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |                   |
| 37 | Clofentezina           | 91,1               | 18,7 | 25,1 | 96,2  | 16,9 | 14,3 | 90,2  | 14,9 | 12,5 | 83,6  | 16,8 | 12,7  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 38 | Clorbufam              | 96,3               | 15,2 | 20,4 | 99,2  | 12,7 | 13,0 | 94,6  | 9,8  | 11,8 | 93,4  | 8,8  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 39 | Clorfenvinfós          | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |                   |
| 40 | Cloroxuron             | 97,5               | 9,8  | 31,1 | 101,1 | 17,5 | 15,5 | 92,6  | 11,0 | 12,2 | 90,9  | 11,3 | 12,2  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 41 | Clorpirifós            | 102,6              | 11,1 | 32,5 | 92,8  | 14,9 | 15,4 | 85,9  | 13,5 | 12,6 | 81,5  | 10,2 | 12,1  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>c</sup> |
| 42 | Clorpirifós metil      | 98,9               | 15,5 | 28,2 | 98,5  | 16,2 | 14,7 | 90,7  | 12,7 | 12,3 | 86,0  | 10,9 | 12,0  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 43 | Clortiofos             | 95,7               | 9,4  | 21,4 | 99,5  | 15,6 | 13,5 | 92,4  | 10,2 | 11,8 | 89,9  | 9,7  | 11,8  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 44 | Cresoxim metil         | 93,5               | 15,9 | 28,0 | 101,4 | 15,7 | 14,6 | 93,5  | 12,7 | 12,3 | 87,0  | 13,6 | 12,3  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 45 | Deltametrina           | 98,5               | 6,6  | 15,2 | 94,4  | 16,2 | 12,8 | 90,9  | 5,8  | 11,4 | 88,8  | 5,7  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,50 <sup>b</sup> |
| 46 | Desmedifam             | 99,5               | 12,6 | 21,6 | 100,2 | 11,6 | 13,1 | 95,3  | 7,2  | 11,6 | 93,5  | 7,6  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 47 | Di-alato               | 127,4              | 22,9 | 48,3 | 96,2  | 17,5 | 19,2 | 92,9  | 11,8 | 13,0 | 93,5  | 12,5 | 12,9  | 0,005 | 0,025             | 0,20 <sup>b</sup> |
| 48 | Diazinona              | 90,3               | 18,6 | 31,5 | 98,4  | 18,8 | 15,6 | 97,6  | 11,0 | 12,2 | 97,5  | 9,0  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 49 | Diclorvós              | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |                   |
| 50 | Dicrotofós             | 90,7               | 11,6 | 20,0 | 96,7  | 11,9 | 12,8 | 87,0  | 11,6 | 11,9 | 85,3  | 7,3  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 51 | Difenoconazol          | 111,1              | 14,8 | 39,5 | 96,7  | 18,3 | 17,3 | 88,2  | 16,5 | 13,2 | 85,5  | 16,6 | 13,1  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 52 | Diflufenicam           | 95,5               | 17,4 | 44,4 | 96,7  | 15,0 | 18,1 | 98,0  | 17,6 | 13,6 | 90,1  | 18,8 | 13,6  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 53 | Dimetoato              | 96,8               | 14,7 | 29,9 | 106,1 | 13,5 | 14,7 | 95,8  | 10,5 | 12,1 | 92,5  | 9,0  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>c</sup> |
| 54 | Dimetomorfe            | 102,1              | 14,0 | 38,4 | 105,1 | 15,4 | 16,8 | 91,6  | 17,6 | 13,3 | 89,6  | 12,3 | 12,5  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 55 | Diniconazol            | 94,2               | 19,6 | 23,1 | 97,2  | 12,9 | 13,4 | 87,7  | 13,5 | 12,2 | 91,9  | 11,8 | 12,0  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 56 | Dissulfotona           | 94,5               | 18,1 | 29,6 | 91,7  | 15,6 | 14,9 | 88,5  | 11,6 | 12,2 | 87,5  | 9,6  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 57 | Dissulfotona Sulfona   | 103,1              | 6,4  | 13,0 | 100,4 | 9,9  | 11,7 | 95,5  | 5,9  | 11,3 | 92,5  | 5,4  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 58 | Dissulfotona Sulfoxido | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |                   |
| 59 | Diurum                 | 97,5               | 6,6  | 19,4 | 98,5  | 11,9 | 12,8 | 87,1  | 7,2  | 11,5 | 86,3  | 4,0  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 60 | Dodemorfe              | 74,8               | 9,7  | 16,7 | 74,0  | 14,9 | 12,8 | 72,0  | 5,2  | 11,4 | 70,0  | 5,4  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 61 | Epoxiconazol           | 105,0              | 15,5 | 31,6 | 95,1  | 11,6 | 14,9 | 87,3  | 8,2  | 12,0 | 84,9  | 8,0  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 62 | Espiromesifeno         | 90,6               | 13,0 | 17,7 | 88,9  | 10,4 | 12,4 | 80,7  | 5,8  | 11,4 | 80,1  | 6,9  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 63 | Espiroxamina           | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |                   |
| 64 | Etiofencarbe sulfona   | 100,1              | 8,3  | 31,8 | 92,2  | 16,2 | 15,5 | 83,9  | 8,4  | 12,0 | 80,7  | 5,1  | 11,7  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 65 | Etiofencarbe sulfóxido | 90,2               | 12,0 | 27,8 | 88,3  | 12,7 | 14,3 | 81,1  | 7,2  | 11,8 | 78,6  | 4,2  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 66 | Etiona                 | 94,2               | 17,3 | 28,4 | 101,4 | 14,3 | 14,5 | 95,0  | 11,2 | 12,1 | 93,2  | 14,7 | 12,5  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 67 | Etiprole               | Método Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      | 0,005 | 0,025 | 0,01 <sup>c</sup> |                   |
| 68 | Etofumesato            | 105,3              | 9,6  | 17,8 | 96,9  | 14,2 | 12,9 | 92,0  | 4,8  | 11,5 | 89,2  | 9,7  | 12,0  | 0,005 | 0,01              | 0,10 <sup>b</sup> |
| 69 | Etoprofós              | 101,8              | 12,3 | 25,3 | 93,8  | 18,8 | 14,9 | 90,4  | 12,1 | 12,5 | 85,4  | 8,0  | 12,3  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 70 | Etoxissulfurom         | 92,0               | 12,4 | 30,4 | 86,4  | 10,9 | 15,1 | 74,8  | 11,2 | 12,6 | 78,5  | 12,4 | 12,8  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 71 | Etrinfós               | 99,8               | 12,5 | 22,3 | 97,1  | 13,1 | 13,5 | 91,5  | 8,4  | 11,9 | 92,5  | 6,4  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |

|     |                       |                    |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      |       |       |                   |                   |
|-----|-----------------------|--------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|------|-------|-------|-------------------|-------------------|
| 72  | Fenamidona            | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |                   |
| 73  | Fenamifós             | Método Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,025 | 0,02 <sup>b</sup> |                   |
| 74  | Fenamifós sulfona     | Método Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |                   |
| 75  | Fenamifós sulfoxido   | 120,0              | 15,0 | 42,0 | 112,0 | 11,6 | 18,2 | 101,0 | 9,8  | 13,3 | 97,9 | 7,7  | 12,9  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 76  | Fenarimol             | Método Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |                   |
| 77  | Fenazaquina           | 94,3               | 5,4  | 17,7 | 89,5  | 13,3 | 12,7 | 83,9  | 5,0  | 11,4 | 82,4 | 5,3  | 11,4  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 78  | Fenexamida            | 94,2               | 12,8 | 24,8 | 90,3  | 15,2 | 14,0 | 85,3  | 10,3 | 11,9 | 83,6 | 11,1 | 12,0  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 79  | Fenpiroximato         | 95,3               | 8,8  | 17,7 | 100,5 | 11,7 | 12,5 | 92,2  | 8,4  | 11,6 | 92,0 | 9,0  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 80  | Fenpropimorfe         | 91,5               | 4,7  | 17,6 | 86,2  | 12,0 | 12,6 | 80,4  | 4,9  | 11,4 | 78,6 | 4,7  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 81  | Fentiona              | 97,6               | 18,0 | 21,7 | 94,4  | 18,8 | 13,9 | 92,6  | 12,5 | 12,1 | 88,9 | 15,2 | 12,4  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 82  | Fentoato              | 90,9               | 15,9 | 31,3 | 88,5  | 19,8 | 15,8 | 89,4  | 17,6 | 13,1 | 85,1 | 16,9 | 12,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>c</sup> |
| 83  | Fipronil              | 102,5              | 19,5 | 43,5 | 93,8  | 17,6 | 18,1 | 83,7  | 12,1 | 12,8 | 77,0 | 14,3 | 12,9  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 84  | Flazassulfurom        | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |                   |
| 85  | Fluasifope p-butílico | 94,9               | 9,6  | 16,4 | 93,5  | 10,7 | 12,2 | 89,2  | 7,0  | 11,5 | 87,6 | 7,9  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 86  | Flumetrina            | 90,3               | 11,0 | 14,6 | 88,5  | 14,3 | 12,4 | 83,5  | 9,1  | 11,6 | 81,9 | 8,1  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,2 <sup>c</sup>  |
| 87  | Fluquinconazol        | 94,2               | 26,3 | 51,3 | 108,5 | 19,5 | 20,2 | 102,4 | 19,2 | 14,2 | 91,8 | 18,6 | 13,8  | 0,005 | 0,025             | 2,00 <sup>b</sup> |
| 88  | Flutriafol            | 100,0              | 16,4 | 20,9 | 98,8  | 13,3 | 13,2 | 91,9  | 5,4  | 11,5 | 90,4 | 5,5  | 11,4  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 89  | Fluzilazol            | 100,9              | 15,1 | 40,9 | 100,6 | 11,5 | 17,2 | 92,7  | 10,9 | 12,7 | 92,6 | 14,2 | 12,8  | 0,005 | 0,01              | 1,0 <sup>c</sup>  |
| 90  | Foransulfurom         | 78,2               | 16,5 | 25,4 | 81,7  | 19,5 | 14,7 | 74,3  | 12,0 | 12,1 | 70,2 | 14,7 | 12,4  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 91  | Furatiocarbe          | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |                   |
| 92  | Forato                | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |                   |
| 93  | Forato sulfóxido      | 102,7              | 6,7  | 19,3 | 102,0 | 11,1 | 12,7 | 94,3  | 5,4  | 11,4 | 93,9 | 4,9  | 11,4  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 94  | Fosalona              | 95,9               | 11,6 | 29,4 | 94,1  | 19,4 | 15,4 | 92,2  | 15,6 | 12,7 | 84,1 | 13,8 | 12,4  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 95  | Fosfamidona           | 95,2               | 19,1 | 20,9 | 91,9  | 15,5 | 13,3 | 89,7  | 12,2 | 12,0 | 87,4 | 11,0 | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 96  | Fosmete               | 97,5               | 14,7 | 16,9 | 96,3  | 14,8 | 12,7 | 95,8  | 6,8  | 11,4 | 90,9 | 9,6  | 11,7  | 0,005 | 0,01              | 0,10 <sup>b</sup> |
| 97  | Fostiazato            | 105,4              | 8,3  | 20,0 | 96,9  | 11,9 | 12,9 | 91,0  | 5,8  | 11,5 | 87,2 | 7,5  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 98  | Hexaconazol           | 91,1               | 8,6  | 32,8 | 86,8  | 12,7 | 15,3 | 84,7  | 15,9 | 12,9 | 83,9 | 14,5 | 12,6  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 99  | Hexitiazoxi           | 94,3               | 9,3  | 15,3 | 97,7  | 12,6 | 12,3 | 92,0  | 6,1  | 11,4 | 91,3 | 8,6  | 11,5  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 100 | Imazalil              | 92,7               | 9,4  | 28,4 | 89,1  | 14,6 | 14,6 | 81,5  | 10,3 | 12,1 | 78,4 | 13,3 | 12,3  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 101 | Imazapique            | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |                   |
| 102 | Imidacloprido         | 98,1               | 15,8 | 57,0 | 86,4  | 14,0 | 21,3 | 82,7  | 18,5 | 14,4 | 75,4 | 13,1 | 13,3  | 0,005 | 0,025             | 0,10 <sup>b</sup> |
| 103 | Indoxacarbe           | 99,7               | 16,6 | 58,2 | 88,8  | 16,2 | 21,8 | 83,5  | 19,7 | 14,6 | 76,6 | 14,0 | 13,5  | 0,005 | 0,025             | 2,00 <sup>b</sup> |
| 104 | Iprodiona             | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |                   |
| 105 | Iprovalicarbe         | 97,3               | 12,8 | 29,7 | 94,0  | 13,6 | 14,7 | 95,1  | 11,3 | 12,2 | 88,3 | 9,1  | 11,9  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 106 | Isoproturon           | 89,9               | 9,8  | 22,0 | 100,1 | 12,6 | 13,3 | 99,5  | 7,4  | 11,6 | 97,6 | 7,5  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 107 | Linuron               | 86,6               | 9,6  | 21,5 | 91,7  | 10,8 | 13,0 | 91,5  | 8,9  | 11,7 | 89,1 | 9,0  | 11,7  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 108 | Malationa             | 86,9               | 15,6 | 27,5 | 89,2  | 14,2 | 14,3 | 88,3  | 10,2 | 12,0 | 90,9 | 8,6  | 11,8  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>a</sup> |
| 109 | Metalaxil             | 93,4               | 9,1  | 15,6 | 96,2  | 11,8 | 12,2 | 98,2  | 6,1  | 11,4 | 94,4 | 5,0  | 11,3  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 110 | Metamidofos           | Método Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |                   |
| 111 | Metazaclor            | 93,3               | 10,7 | 23,2 | 89,8  | 11,3 | 13,3 | 88,5  | 6,7  | 11,6 | 84,0 | 7,5  | 11,6  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 112 | Meticonazol           | 94,3               | 14,8 | 35,0 | 81,4  | 14,6 | 15,9 | 82,4  | 11,8 | 12,4 | 79,9 | 8,3  | 12,0  | 0,005 | 0,01              | 0,01 <sup>b</sup> |
| 113 | Metidationa           | 95,7               | 7,8  | 20,3 | 94,4  | 11,6 | 12,9 | 94,5  | 8,2  | 11,7 | 88,5 | 9,1  | 11,8  | 0,005 | 0,01              | 0,02 <sup>b</sup> |
| 114 | Metiocarbe            | 89,4               | 11,4 | 23,9 | 98,1  | 11,4 | 13,6 | 94,0  | 7,2  | 11,8 | 93,5 | 6,5  | 11,7  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 115 | Metiocarbe sulfoxido  | 81,3               | 15,4 | 24,3 | 91,8  | 13,9 | 14,3 | 89,4  | 7,2  | 12,2 | 86,9 | 6,0  | 12,4  | 0,005 | 0,01              | 0,05 <sup>b</sup> |
| 116 | Metissulfurom metil   | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |                   |
| 117 | Metomil               | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |                   |
| 118 | Metoxifenozida        | 79,7               | 16,5 | 60,6 | 92,3  | 14,1 | 22,8 | 101,8 | 12,7 | 14,2 | 91,7 | 11,4 | 13,3  | 0,005 | 0,025             | 0,20 <sup>b</sup> |

|     |                       |                    |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |       |                   |
|-----|-----------------------|--------------------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|-------|-------|-------------------|
| 119 | Mevinfós              | 89,3               | 7,8  | 26,2 | 94,1  | 12,8 | 14,2 | 92,7  | 6,3  | 12,0 | 92,0  | 4,7  | 12,5 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 120 | Miclobutanil          | 88,5               | 11,9 | 22,8 | 88,5  | 10,0 | 13,4 | 96,3  | 7,1  | 11,9 | 95,0  | 9,4  | 12,8 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 121 | Monocrotofós          | 77,2               | 19,5 | 26,2 | 88,5  | 10,3 | 13,8 | 84,4  | 9,3  | 11,9 | 84,4  | 7,6  | 11,7 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 122 | Monolinuron           | 88,1               | 10,0 | 17,9 | 95,7  | 12,9 | 12,7 | 96,9  | 8,6  | 11,6 | 92,2  | 5,1  | 11,3 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 123 | Nuarimol              | 91,4               | 13,3 | 15,6 | 95,4  | 14,1 | 12,5 | 97,6  | 9,9  | 11,7 | 92,9  | 9,1  | 11,6 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 124 | Ometoato              | 72,2               | 7,9  | 19,7 | 79,8  | 10,1 | 12,7 | 76,4  | 9,3  | 11,7 | 72,3  | 10,1 | 11,8 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 125 | Oxadixil              | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 126 | Oxamil                | 83,8               | 13,1 | 19,5 | 92,3  | 10,6 | 12,7 | 88,8  | 7,5  | 11,6 | 84,7  | 6,1  | 11,4 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>a</sup> |
| 127 | Oxassulfurom          | 95,1               | 14,7 | 67,0 | 86,4  | 17,8 | 24,9 | 76,1  | 15,8 | 15,0 | 79,7  | 13,5 | 13,9 | 0,005 | 0,025 | 0,05 <sup>b</sup> |
| 128 | Oxifluorfem           | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 129 | Paclotazol            | 95,0               | 9,1  | 17,4 | 91,8  | 9,7  | 12,3 | 95,5  | 7,8  | 11,6 | 91,2  | 8,1  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |
| 130 | Paraoxom etil         | 80,1               | 10,9 | 20,9 | 84,5  | 12,2 | 13,0 | 88,4  | 7,0  | 11,6 | 89,8  | 5,9  | 11,4 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 131 | Parationa etflica     | 86,2               | 20,1 | 35,6 | 96,4  | 14,9 | 16,0 | 98,2  | 9,9  | 12,3 | 94,0  | 12,3 | 12,4 | 0,005 | 0,025 | 0,01 <sup>a</sup> |
| 132 | Pencicuroom           | 85,7               | 16,9 | 25,2 | 92,2  | 13,1 | 13,8 | 94,1  | 14,8 | 12,5 | 85,3  | 9,1  | 11,8 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 133 | Penconazol            | 92,6               | 14,2 | 33,2 | 87,9  | 17,3 | 15,8 | 88,9  | 11,5 | 12,3 | 84,4  | 9,5  | 12,0 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 134 | Pendimetalina         | 89,6               | 10,9 | 18,8 | 88,5  | 8,1  | 12,3 | 94,1  | 10,5 | 11,8 | 91,2  | 9,3  | 11,7 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 135 | Picolinafem           | 92,9               | 7,7  | 18,7 | 90,8  | 14,7 | 13,0 | 92,2  | 8,9  | 11,7 | 88,2  | 9,4  | 11,7 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 136 | Pimetrozina           | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 137 | Pinoxaden             | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 138 | Piraclofós            | 95,4               | 13,2 | 39,7 | 101,5 | 13,4 | 17,2 | 100,3 | 10,7 | 12,7 | 102,8 | 13,1 | 12,6 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 139 | Piraclostrobina       | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 140 | Pirazoassulfuron etil | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 141 | Pirazofós             | 84,5               | 9,6  | 41,1 | 103,9 | 20,0 | 18,3 | 103,9 | 12,3 | 12,9 | 100,5 | 15,4 | 13,0 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |
| 142 | Piridabem             | 92,3               | 7,9  | 15,9 | 92,5  | 12,7 | 12,4 | 93,5  | 6,4  | 11,4 | 90,9  | 7,9  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |
| 143 | Pirifenox             | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 144 | Pirifitalide          | 99,8               | 7,4  | 29,1 | 93,7  | 14,2 | 14,7 | 87,9  | 10,6 | 12,1 | 86,4  | 9,4  | 11,9 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 145 | Pirimetamina          | Não validado       |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 146 | Pirimetamil           | 88,2               | 8,2  | 17,2 | 89,8  | 10,7 | 12,3 | 94,9  | 7,9  | 11,5 | 95,8  | 9,1  | 11,6 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 147 | Pirimicarbe           | 96,6               | 6,2  | 18,0 | 95,1  | 10,6 | 12,5 | 91,8  | 7,5  | 11,5 | 88,6  | 5,5  | 11,4 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 148 | Pirimifós etil        | 95,2               | 6,0  | 29,4 | 86,0  | 12,1 | 14,6 | 83,8  | 7,4  | 11,9 | 79,5  | 7,3  | 11,8 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 149 | Pirimifós metil       | 100,3              | 7,8  | 30,8 | 90,8  | 11,2 | 14,7 | 86,7  | 8,7  | 12,0 | 84,9  | 8,1  | 11,8 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 150 | Piriproxifem          | 92,5               | 5,1  | 24,1 | 89,2  | 11,4 | 13,5 | 86,0  | 5,5  | 11,6 | 81,8  | 5,5  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 151 | Piroquilon            | 91,9               | 11,3 | 18,5 | 94,3  | 13,0 | 12,8 | 93,0  | 8,1  | 11,6 | 89,4  | 8,1  | 11,7 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 152 | Procloraz             | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |
| 153 | Profam                | 87,0               | 12,3 | 30,1 | 97,1  | 17,0 | 15,4 | 101,5 | 12,5 | 12,4 | 99,8  | 12,3 | 12,2 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 154 | Profenofós            | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 155 | Promecarbe            | 86,4               | 11,3 | 16,8 | 95,3  | 10,9 | 12,4 | 97,7  | 6,4  | 11,4 | 91,8  | 6,8  | 11,4 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 156 | Propaquizafope        | 77,1               | 11,5 | 25,2 | 95,8  | 14,6 | 14,1 | 100,1 | 8,1  | 11,8 | 94,8  | 11,0 | 12,0 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 157 | Propargito            | 89,5               | 8,3  | 15,1 | 92,7  | 8,1  | 11,9 | 96,7  | 7,4  | 11,5 | 93,0  | 7,5  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |
| 158 | Propiconazol          | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 159 | Propizamida           | 94,1               | 10,8 | 25,1 | 91,2  | 11,2 | 13,7 | 89,1  | 7,0  | 11,7 | 86,3  | 10,2 | 11,9 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |
| 160 | Propoxur              | 95,0               | 9,1  | 17,1 | 93,5  | 6,3  | 12,0 | 93,7  | 8,1  | 11,6 | 91,9  | 9,0  | 11,6 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 161 | Prossulfurom          | 97,0               | 15,8 | 25,1 | 93,7  | 14,9 | 14,0 | 86,5  | 13,1 | 12,2 | 85,5  | 12,4 | 12,1 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 162 | Quinalfós             | 92,8               | 16,3 | 36,8 | 94,8  | 14,8 | 16,3 | 94,1  | 16,8 | 13,2 | 97,4  | 18,7 | 13,3 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 163 | Quinoclamina          | 100,5              | 10,5 | 26,9 | 89,8  | 10,6 | 13,9 | 88,4  | 9,8  | 12,0 | 82,4  | 11,9 | 12,1 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 164 | Quizalofope-p-etil    | 91,6               | 14,8 | 47,3 | 86,9  | 8,9  | 18,4 | 90,3  | 8,3  | 12,7 | 90,4  | 12,2 | 12,8 | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |
| 165 | Rinsulfurona          | Metodo Qualitativo |      |      |       |      |      |       |      |      |       |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |

|     |                     |                    |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |                   |
|-----|---------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------------------|
| 166 | Sulfossulfuron      | 68,5               | 19,1 | 41,5 | 76,9 | 18,4 | 17,8 | 80,8 | 17,6 | 13,5 | 77,9 | 19,7 | 13,6 | 0,005 | 0,025 | 0,05 <sup>b</sup> |
| 167 | Sulfotepe           | 87,7               | 15,5 | 29,6 | 95,3 | 13,0 | 15,0 | 96,4 | 11,6 | 12,5 | 96,6 | 10,8 | 12,5 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 168 | Tebuconazol         | 92,0               | 19,4 | 30,7 | 87,8 | 8,5  | 14,8 | 93,0 | 10,1 | 12,4 | 86,7 | 9,7  | 12,1 | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |
| 169 | Tebufempirade       | 87,9               | 11,1 | 21,7 | 89,7 | 5,7  | 12,7 | 95,3 | 7,3  | 11,7 | 91,4 | 6,0  | 11,6 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 170 | Tebufenozida        | 89,4               | 18,3 | 38,3 | 89,9 | 12,6 | 16,6 | 91,6 | 12,3 | 12,9 | 91,2 | 11,4 | 13,1 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 171 | Temefós             | 87,9               | 11,2 | 21,6 | 91,6 | 8,2  | 12,8 | 97,5 | 6,6  | 11,5 | 93,5 | 6,8  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 172 | Terbufós            | Metodo Qualitativo |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 173 | Tetraconazol        | 89,6               | 16,0 | 34,0 | 91,8 | 17,6 | 16,0 | 90,5 | 13,5 | 12,6 | 93,7 | 16,0 | 12,8 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 174 | Tiacloprido         | 84,4               | 16,6 | 23,7 | 94,2 | 15,8 | 13,8 | 96,6 | 12,4 | 12,1 | 90,9 | 6,1  | 11,5 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 175 | Tiametoxam          | 94,6               | 14,4 | 45,4 | 87,3 | 10,0 | 18,0 | 80,2 | 6,2  | 12,5 | 80,2 | 11,0 | 12,6 | 0,005 | 0,01  | 0,02 <sup>b</sup> |
| 176 | Tifensulfurom metil | Metodo Qualitativo |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 177 | Tiobencarbe         | 89,0               | 11,2 | 23,8 | 94,1 | 11,8 | 13,6 | 92,8 | 8,9  | 12,0 | 87,9 | 6,2  | 12,3 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 178 | Tiofanato metilico  | 88,6               | 12,1 | 24,3 | 95,4 | 12,7 | 13,9 | 94,2 | 8,7  | 12,1 | 92,2 | 6,6  | 12,7 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 179 | Triadimefon         | Método Qualitativo |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      | 0,005 | 0,025 | 0,02 <sup>c</sup> |
| 180 | Triadimenol         | 91,8               | 14,2 | 25,0 | 89,4 | 9,9  | 14,1 | 91,6 | 7,8  | 12,4 | 91,9 | 7,1  | 12,9 | 0,005 | 0,01  | 0,10 <sup>b</sup> |
| 181 | Triassulfurom       | 97,8               | 18,3 | 48,7 | 99,4 | 15,4 | 20,4 | 91,3 | 16,5 | 15,5 | 91,8 | 13,6 | 18,0 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 182 | Triazofós           | 92,1               | 12,4 | 27,1 | 96,5 | 12,8 | 14,4 | 95,3 | 7,2  | 12,1 | 96,2 | 7,0  | 13,0 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 183 | Triciclazol         | 93,6               | 9,9  | 21,9 | 90,1 | 13,3 | 13,9 | 89,4 | 7,3  | 12,1 | 84,3 | 11,8 | 12,7 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 184 | Triclorfon          | 88,6               | 10,6 | 40,0 | 92,4 | 15,1 | 17,2 | 87,7 | 15,8 | 13,3 | 83,9 | 13,4 | 12,9 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>a</sup> |
| 185 | Trifloxistrobina    | 98,4               | 15,4 | 33,2 | 97,8 | 13,5 | 17,1 | 92,6 | 10,7 | 14,2 | 95,7 | 9,6  | 15,9 | 0,005 | 0,01  | 0,04 <sup>b</sup> |
| 186 | Triflumizol         | 89,5               | 18,2 | 35,3 | 90,5 | 15,8 | 16,3 | 95,0 | 7,7  | 12,2 | 95,5 | 9,5  | 12,1 | 0,005 | 0,01  | 0,05 <sup>b</sup> |
| 187 | Triforin            | 87,4               | 19,2 | 22,1 | 92,4 | 12,4 | 13,5 | 99,8 | 10,0 | 12,1 | 97,1 | 7,3  | 12,0 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |
| 188 | Triticonazol        | 88,0               | 15,9 | 37,9 | 89,0 | 15,1 | 17,0 | 89,3 | 14,7 | 13,3 | 85,4 | 10,2 | 12,7 | 0,005 | 0,01  | 0,01 <sup>b</sup> |

Legenda: a = Limite Mínimo de Desempenho Requerido (LMDR); b = SANCO (2013); c = Codex Alimentarius(2003). Rec= recuperação; CV= coeficiente de variação; U= incerteza expandida.

Geis-Asteggiane et al. (2012) realizaram um estudo de otimização e validação de um método multirresíduo para monitorar mais de 100 resíduos de medicamentos veterinários em carnes bovinas usando cromatografia líquida de ultra performance acoplado ao espectrômetro de massa tandem. Os valores de recuperação dos analitos ficaram entre 70-120% permitindo identificar 113 e quantificar 98 analitos e comprovando que 87 dos 127 fármacos testados estavam abaixo dos níveis de tolerância regulamentares para músculo bovino nos Estados Unidos.

#### 5.1.4. Robustez

A robustez foi avaliada durante o experimento de validação do método desenvolvido no sistema LC-MS/MS 5500 Triple Quad. Durante a etapa de

desenvolvimento do método, foram definidas as condições cromatográficas ótimas de modo a atender os objetivos do estudo. Durante a validação, todo o experimento foi conduzido objetivando demonstrar a estabilidade do procedimento sob diferentes condições que seriam possíveis variações na fase móvel, como fluxo, pH, força iônica, composição final e inicial, inclinação do gradiente e modificação da proporção de reagentes utilizados no procedimento de extração ou execução de alguma etapa diferente da preconizada no procedimento do método.

Para esse critério foram utilizados solventes da mesma marca e mesmo lote para a fase móvel e preparo de novas soluções-padrão estoque, intermediárias ou de uso. O estudo da robustez faz parte do desenvolvimento do método e apenas os parâmetros de regressão não comprovam a robustez. No

laboratório de Pesticidas do LANAGRO-MG é feito o monitoramento permanente dos métodos, para garantia da qualidade dos resultados e, como demonstração de robustez. Os estudos iniciais de otimização das condições de separação cromatográfica do sistema de detecção de massas, da composição da fase móvel e do método de extração mais adequado ao propósito do trabalho a ser desenvolvido, facilita os resultados obtidos. Portanto, o conjunto de resultados obtidos na fase de otimização do método foram suficientes para assegurar a robustez do método em condições laboratoriais de rotina.

#### 5.1.5. Estimativa de incerteza

Como principais fontes de incerteza para o método, foram evidenciadas as incertezas relativas às medidas de massa dos padrões para o preparo das soluções estoques, às diluições das soluções padrões, às medidas de volume da mistura extratora adicionada à amostra no processo de extração, à curva de calibração e à reprodutibilidade intralaboratorial ou precisão intermediária.

Para todos os agrotóxicos validados, a principal contribuição para a incerteza total advém da curva de calibração, uma vez que esta fonte engloba a incerteza de todas as etapas desde a pesagem dos padrões para preparação das soluções estoques, passando por todo o processo de extração e, finalmente, a análise instrumental e tratamento estatístico dos dados. A incerteza expandida percentual (U%) de cada agrotóxico foi determinada em cada um dos níveis de fortificação para os quais foram realizados estudos de repetitividade e estimativa intermediária. Sendo assim, o desempenho do método foi avaliado por meio dos resultados obtidos nos ensaios de recuperação, conduzidos nos níveis 0,01; 0,025; 0,05 e 0,10 mg.kg<sup>-1</sup>. A média da incerteza expandida para o nível de concentração de 0,10 mg.kg<sup>-1</sup> foi de

aproximadamente 12,3% valor confiável considerando o limite de 50%.

Dos 188 agrotóxicos estudados, 17 não atenderam aos critérios de aceitação exigidos por apresentarem recuperações extremamente baixas ou elevadas, coeficientes de variação elevados, ausência de sinal e sinal com baixa razão sinal/ruído nos níveis mais baixos da curva analítica ou nos fortificados no nível 0,01 mg.kg<sup>-1</sup>. Os agrotóxicos que não foram validados estão apresentados no Quadro 6.

Quadro 6 - Agrotóxicos não validados pelo método

| Agrotóxicos não validados |                      |                 |
|---------------------------|----------------------|-----------------|
| Acefato                   | Foratiocarbe         | Oxadixil        |
| Benomil                   | Forato               | Pinoxaden       |
| Ciromazina                | Imazapique           | Piraclostrobina |
| Diclorvós                 | Iprodiona            | Pirifenox       |
| Fenamidona                | Metilssulfuron metil | Primetamina     |
| Flazassulfuron            | Metomil              |                 |

Dezenove agrotóxicos não atenderam a alguns dos critérios de validação. Estes foram considerados não validados para o método quantitativo por apresentarem recuperações fora da faixa estabelecida, com valores de CV% fora da faixa ou U% maior que 50%. Contudo, estes agrotóxicos atenderam aos requisitos para sua validação em método qualitativo, apresentando limite de detecção de 0,005mg.kg<sup>-1</sup> e são apresentados no Quadro 7.



Quadro 7 - Agrotóxicos que atenderam aos requisitos para validação em método qualitativo

| Agrotóxicos que atenderam aos requisitos em método qualitativo |                   |                       |              |
|--|-------------------|-----------------------|--------------|
| Carbofurano  | Clorfenvinfos     | Dissulfona Sulfóxido  | Espiroxamina |
| Etiprole   | Fenamifós         | Fenamifós Sulfona     | Fenarimol    |
| Metamidofós  | Oxifluofen        | Pirazoassulfuron etil | Pimetrozina  |
| Procloraz  | Profenofós        | Propiconazol          | Rinsulfona   |
| Terbufós   | Tifensulfon metil | Triadmefon            |              |

## 5.2. Resultado das Análises das Amostras de Carnes Comerciais

Em todas as 32 amostras aleatórias coletadas na região noroeste de Belo Horizonte e analisadas no LC-MS/MS não foram encontrados resíduos dos 171 agrotóxicos previamente validados, nem mesmo em concentrações muito baixas.

O setor bovino é importante cadeia econômica e o fato de nenhuma amostra analisada apresentar traços de agrotóxicos, não é garantia de que toda carne brasileira seja de qualidade, apesar de ser bom indício. Entretanto, a presença de agrotóxicos em alguma amostra estaria comprometendo a qualidade certificada pelos órgãos reguladores.

Silva (2008) também não detectou a presença dos resíduos previamente validados em amostras comerciais de fígado e carne bovina (alcatra) da cidade de

Viçosa-MG.

## 6. CONCLUSÕES

O método QuEChERS modificado utilizado mostrou-se adequado para a extração de resíduos de agrotóxicos em músculo bovino, apresentando recuperações entre 70 e 120% para a maioria dos agrotóxicos validados, comprovando a confiabilidade do método desenvolvido.

O método proposto foi validado para 171 analitos com a matriz músculo bovino. Os valores de limite de quantificação do método foram de 0,01 e 0,025 mg.kg<sup>-1</sup> e o limite de detecção foi de 0,005 mg.kg<sup>-1</sup>.

Os resultados de validação mostraram boas recuperações e precisão para os compostos avaliados, atendendo aos critérios de desempenho exigidos internacionalmente pelo Documento N° SANCO/12.571/2013.

Nas amostras coletadas comercialmente e analisadas, nenhuma apresentou contaminação dos agrotóxicos validados, não isentando assim que mais pesquisas sejam necessárias abrangendo número maior de estabelecimentos.

O método foi considerado apto para ser aplicado na rotina para músculo bovino pois é sensível e altamente seletivo podendo ser usado como método de triagem e quantificação, considerando que com o método é possível detectar 105 e 102 analitos a mais do que já são analisados pelo MAPA e *Codex Alimentarius* respectivamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. *Produção de carne bovina deve crescer quase 20% neste ano*. Vitória-ES, 2015. Disponível em: <http://sna.agr.br/producao-de-carne-bovina-deve-crescer-quase-20-neste-ano/>. Acesso em: 14 dez. 2015.
- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. *Exportações de carne bovina cresceram 727% em 14 anos*. São Paulo, 2015. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br/noticia/exportacoes-de-carne-bovina-cresceram-727-em-14-anos-131460>>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; *Guia para a Expressão da Incerteza de Medição*, 3ª ed., Rio de Janeiro, 2003. 120 p.
- ALDER, L.; Greulich, K.; Kempe, G. et al. Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Mass Spectrometry Review*, v. 25 p. 838-865, 2006.
- ALMEIDA, M.P. *Otimização e validação de método de ensaio quantitativo e confirmatório para determinação de multirresíduo de  $\beta$ -lactâmicos e tetraciclina em rim por CLUE-EM/EM*. 2011. 76f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais-Belo Horizonte.
- AMBIFOOD. *Segurança alimentar, rastreabilidade e higiene dos gêneros alimentícios: novas regras em 2006*. Matosinhos, Portugal, 2005. Disponível em: [http://www.ambifood.com/img\\_upload/254.pdf](http://www.ambifood.com/img_upload/254.pdf)> Acesso em: 07 dez. 2015.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, v. 86, n. 2, p. 412-431, 2003.
- ANDRADE, G. C. R. M. *Análise multirresíduos de pesticidas em tomate utilizando LC-MS/MS e avaliação dos efeitos de lavagem na descontaminação*. 2013, 133f. Tese (Doutorado), Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo - São Paulo.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Resolução RDC n 253, de 16 de Setembro de 2003. Cria o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de origem Animal – PAMVet. *Diário Oficial da União*; Poder Executivo, de 18 de Set. 2003.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2012). *Monografias de agrotóxicos*. Disponível em: <http://www.Anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/index.htm>>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, *Sistema de Informação sobre Agrotóxicos*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/sia.html>>. Acesso em: 16 set. 2015a.
- ARÃO, I.R. *Percepção por trabalhadores rurais dos municípios de Rio Verde e Catalão de riscos ambientais e à saúde em relação a defensivos agrícolas*. 2009, 170 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Católica de Goiás-Goiás.
- ARAÚJO, J.M.A. *Química de Alimentos: teoria e prática*. Capítulo 21. 6 ed. Viçosa: Ed Viçosa UFV; 2015. 668p.
- AUGUSTI, R. Espectrometria de massas:

princípios e aplicações. Departamento de Química. Universidade Federal de Minas Gerais- UFMG. Aula 2. 2008.

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

BARRETO, C.L.A. *Crises de segurança do alimento e a demanda por carne bovina no Brasil: Uma análise de cointegração*. 2014, 58f. Monografia. Universidade de Brasília, Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade. Brasília.

BEYER, A.; BIZIUK, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chemistry*, Londres, v. 108, n. 2, p. 669-680, 2008.

\_\_\_\_\_. Comparison of efficiency of different sorbents used during clean-up of extracts for determination of polychlorinated biphenyls and pesticide residues in low- fat food. *Food Research International*, Essex, v. 43, n. 3, p. 831-837, 2010.

BRABANDER, H. F.; NOPPE, H.; VERHEYDEN, K. BUSSCHE, J. V.; WILLE, K.; OKERMAN, L.; VANHAECKE, L.; REYBROECK, W.; OOGHE, S.; CROUBELS, S. Redidue analysis: future trends from a historical perspective. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, p. 7964-7976, 2009.

BRASIL. 1999. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, seção 1, p. 213, 1999.

BRASIL. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 1, de 10 de janeiro de 2002. Institui o Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação de Origem

Bovina e Bubalina – SISBOV. *Diário Oficial da União*, Brasília, Seção 1, p. 6, 2002.

BRASIL. 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Projeções do Agronegócio: Brasil 2009/2010 a 2019/2020 / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília : Mapa/ACS, p. 76, 2010.

BRASIL. 2011. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Manual de garantia da qualidade analítica*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2011. 227 p.

BRASIL. 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Mercado interno*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno>>. Acesso em: 05 ago. 2015.

BRASIL. 2015a. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Exportação*. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao> Acesso em: 17 set 2015a.

BRASIL. 2015b Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de Minas Gerias. Secretaria do Agronegócio. *Bovinocultura Leite e Corte*. p.1-71, fev. 2015b.

BRASIL. 2015c. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Importação*. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dos-alimentos/residuos-e-contaminantes>. Acesso em: 17 set 2015c.

BRASIL. 2015d. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Legislação*. <Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>> . Acesso em: 17 set 2015d.

BRASIL. 2015e. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. *Projeções do Agronegócio*. Brasil 2014/15 a 2024/25. Projeções de longo prazo. p.1-133, 2015e.

BUSTILLOS, O.V.; SASSINE, A.;

MARCH, R. *A Espectrometria de massas quadrupolar*. São Paulo, Brasil, Editora Scortecci, 2003. 256p.

CAMINO-SANCHEZ, F.J.; ZAFRA-GÓMEZ, A.; OLIVER-RODRÍGUEZ, B. et al. UNE-EN ISO/IEC 17025:2005-accredited method for the determination of pesticide residues in fruit and vegetable samples by LC-MS/MS. Food Additives and Contaminants Part A. *Chemistry Analysis Control Exposure e Risk Assessment*, London, v. 27, n. 11, p. 1532-1544, 2010.

CARVALHO, J.P.P.; NISHIKAWA, A.,M.; FAY, E.F. Níveis de resíduos de praguicidas organoclorados em produtos cárneos sob inspeção federal. *Revista de Saúde Pública*, Sao Paulo, v.14, n.3, p. 408-419, 1980.

CARVALHO, J.J.; JERÓNIMO, P. C. A.; GONÇALVES, C.; ALPENDURADA, M.F. Evaluation of a multiresidue method for measuring fourteen chemical groups os pesticides in water by use of LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 392, n.5, p. 955-968, 2008.

CAVALIERE, M.J.; CALORE, E.E.; PEREZ, N.M.; PUGA, F.R. Miotoxicidade por organofosforados. *Revista de Saúde Pública*, v. 30, n. 3, p. 267-72, 1996.

CHEN, Y. ; GUO, Z. ; WANG, X. et al. Sample preparation. *Journal of Chromatography A*, v. 1184, n. 1-2, p. 191-219, 2008.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. The state of the art of chromatography associated with the tandem mass spectrometry for toxic compound analyses in food. *Química Nova*, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS. *Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis*. CAC/GL 40-1993, Ver. 1-2003.

CODEX ALIMENTARIUS. *Código de práticas de higiene para a carne*.

Documento CAC/ RCP 58-2005, p. 1-55. Disponível em: <[www.codexalimentarius.org/input/.../CXP\\_058e.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/.../CXP_058e.pdf)>. Acesso em: 02 mar. 2016.

CODEX ALIMENTARIUS. *Guidelines on estimation of uncertainty of results*. CAC/GL 59-2006, p 1-16, 2006.

COMTRADE. UN Comtrade Database (2014). Metadata e Reference: Commodities list. Disponível em: <<http://comtrade.un.org/db/mr/rfCommoditiesList.aspx?px=H3&cc=3808>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

DANAHER, M.; HOWELLS, L.C.; CROOKS, S.R.H. et al. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. *Journal of Chromatography B*, v. 844, p. 175–203, 2006.

DEMOLINER, A. *Otimização e Validação de Metodologia Analítica Empregando SPE E LC-ESI-MS/MS para Determinação de Multiclasses de Agrotóxicos e Metabólitos em Água de Superfície e de Abastecimento Público*. 2008, 130f. Dissertação (Mestrado). Rio Grande, RS.

DUPUY, J.; EECKHOUTTE, C.; SUTRA, J.F. et al. Lack of sex influence on the *in vitro* metabolism of ivermectin by hepatic microsomal preparations from cattle. *Veterinary Research Communications*, v. 23, n. 4, p. 223- 227, 1999.

EKMAN, E.; FANIBAND, M. H.; LITTORIN, M. et al. Determination of 5-hydroxythiabendazole in human urine as a biomarker of exposure to thiabendazole using LC/MS/MS, *Journal of Chromatography B*, v. 973, n.1, p. 61-67, 2014.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *Agrotóxicos no Brasil*. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura\\_e\\_meio\\_ambiente/arvore/C](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/C)>

ONTAG01\_40\_210200792814.html>.

Acesso em: 02 mar. 2016.

EPA (Environmental Protection Agency), 2005. .E.D. *Facts Ametryn*. Disponível em: [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/ametryn\\_fact.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/ametryn_fact.pdf). Acesso em: 15 fev. 2016.

EVANS, J. D.; SPIVAK, M. Socialized medicine: Individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of Invertebrate*, v. 103, p. 62-72, 2010.

EURACHEM, Guia. Primeira Edição do Guia EURACHEM/ CITAC, 2a ed., 2000. *Determinando a Incerteza na Medição Analítica*. QUAM 2002. Versão Brasileira. SBM.

EUROPEAN COMMISSION. *Method Validation and Quality Control Procedures for pesticide residues analysis in food and feed*. Document n° SANCO/12571/2013. Bruxelas, 2013. 48 p.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. SINITOX. Casos e Intoxicação por Agrotóxicos em Gerak por Unidade Federada, Segundo Circunstância Registrada em 2011. Disponível em: <<http://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//Agrotoxicos%20em%20geral%202011%20-Tabela%201.pdf>> . Acesso em 26 abr 2016.

FURLONG, J.; PRATA, M.C.A.; MARTINS, J.R. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A hora veterinária*. v. 27, n. 159, p. 1-7, 2007.

GATIDOU, G.; KOTRIKLA, A.M.; THOMAIDIS, N.S. et al. Determination of the antifouling booster biocides Irgarol 1051 and diuron and their metabolites in seawater by high performance liquid chromatography– diode array detector. *Analytica Chimica Acta*, v. 1, n. 528, p. 89-99, 2005.

GEIS-ASTEGGIANTE, L.; LEHOTAY, S. J.; LIGHTFIELD, A. R. et al. Ruggedness testing and validation of a practical

analytical method for >100 veterinary drug residues in bovine muscle by ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2012 v. 5, n. 1258, p. 43-54, 2012.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S. et al. *Goodman e Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics*. 9ed. New York: McGraw Hill, 1996. 1905p.

GOTO, T.; YAMADA, S.; MATSUMOTO, H. et al. The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column. *Analytica Chimica Acta*. v.555, n. 2, p.225-232, 2006.

GREULICH, K.; ALDER, L. Fast multiresidue screening of 300 pesticides in water for human consumption by LC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. v. 391, n. 1, p. 183-97, 2008.

HEINZOW, B.; ANDERSEN, H.R. Biocides and Pesticides. In DUFFUS, J. H. (Ed) e WORTH, H. G. J. (Ed). *Fundamental Toxicology*. Londres: The Royal Society of Chemistry, 2006. Cap. 22, p. 291-302.

HERMIDA, C.; PELAEZ, V.; SILVA, L. Limites de resíduos de agrotóxicos e barreiras técnicas comerciais. *Agroalimentaria*. v. 21, n. 41, p. 151- 170, 2015.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. *Pure and Applied Chemistry*, v. 67, n. 2, p. 331-343, 1995.

IBGE. Instituto Brasileira de Geografia e Estatística. *Indicadores IBGE. Estatística da Produção Pecuária*. 2015. 47p.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de*

*Metrologia*, 2 ed., 2000.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008. Revisão 02. Coordenação Geral de Acreditação. Jun, 2007. 24p.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008. Revisão 03. Coordenação Geral de Acreditação. Fev, 2010. 20p.

ICH. International Conference on Harmonisation. *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

ISO. INTERNACIONAL STANDARDS ORGANIZATION- 5725-2. *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results*. Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. 1994.

ISO. INTERNACIONAL STANDARDS ORGANIZATION- 17025. *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. Geneva, 2005. 28 p. ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005. Versão Corrigida 2:2006. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Disponível em: <www.abnt.org.br>. Acesso em 15 fev. 2016.

JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.D.;

, S.C.D. Residues of pesticides in food: a global environmental preoccupation - focussing on apples. *Química Nova*, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

KEIKOTLHAILE, B.M.; SPANOGHE, P.; STEURBAUT, W. Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: a meta-analysis approach. *Food and Chemistry toxicology*. v. 48, n. 1, p.1-6, 2010.

KIRINUS, J.K.; FRUET, A.P.B.; TEIXEIRA, C. et al. Aplicação dagnética

molecular para a melhoria da qualidade da carne bovina. *Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM*, v. 18, p. 165-174, 2014.

KUSTER, M.; ALDA, M. L.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric analysis and regulatory issues of polar pesticides in natural and treated waters. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, n. 21, p. 9-10, 2009.

KOPPENAAL, D.W.; DENTON, M.B.; HIEFTJE, G.M. et al. MS Detectors. American Chemical Society. *Analytical Chemistry*. p. 419-427, 2005.

LANÇAS, M.F.A Cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”? *Scientia Chromatographica*. v. 1, n. 2, p. 1-29, 2009.

LARA, M.C.R. *Determinação dos agrotóxicos procimidona, haloxyfop-metil e linuron em cenoura por ESL-PBT e CG-MS*. 2014, 44f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Rio Paranaíba, Minas Gerais.

LEVIGARD, Y.E. *A interpretação dos profissionais de saúde acerca do nervoso no meio rural*. Dissertação submetida à Escola Nacional de Saúde Pública. Centro de estudos de saúde do trabalhador e ecologia humana. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro- RJ, 2001, 90p.

LIU, G.Z.; RONG, L. ; ZHANG, M. et al. Development of an improved method to extract pesticide residues in foods using acetone with magnesium sulfate and chloroform. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1218, n. 11, p. 1429-1436, 2011.

LONDRES, F. *Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida*. Rio de Janeiro: Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, 2011. 190 p.

LOPES, M.A.; SANTOS, G.; AMADO, G. et al. Principais dificuldades encontradas

pelos pecuaristas na implantação da rastreabilidade de bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, v. 8, n. 3, p. 515-520, 2007.

MARTINS JÚNIOR, H.A. *Estudo de determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de soja e água usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em Tandem com ionização por electrospray (LC-ESI/MS/MS)*. 2005, 119f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

MATSUOKA, T.; AKIYAMA, T.; MITSUHASHI, T. Validation of multi-residue method for determination of pesticides in meat products using official guideline of analytical methods in Japan. *Journal of Pesticides of Science*, n. 36, v. 1, p. 73-78, 2011.

MAYSONNAVE, G.S. VAZ F.N., PASCOAL L.L. et al. Percepção de qualidade da carne bovina com marca no sul do Brasil. *Archivos de zootecnia*. v. 63, n. 244, p. 633-644, 2014.

MENDONÇA, R.L. *Avaliação de métodos multirresíduos de preparo de amostra para determinação de antimicrobianos em alimentos: QueChERS e MEPS*. 2012, 140f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Carlos.

MIDIO, A.F.; MARTINS, D.I. *Herbicidas em alimentos: Aspectos gerais, toxicológicos e analíticos*. São Paulo, Livraria Varela, 1997. 108p.

MORACCI, L.F.S. *Resíduos de agrotóxicos em lodo de estação de tratamento de água: Validação de metodologia analítica utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (Lc-Ms/Ms)*. 2008, 140f. Dissertação (Mestrado) Ciências na Área de Tecnologia Nuclear. São Paulo.

MÜLLER, C.; DAVID, L., PÎNZARU, S.C. Detection of thiabendazole applied to

organic fruit by near infrared surface-enhanced Raman spectroscopy, *Spectroscopy Europe*, v. 25, n. 4, p. 6-11, 2013.

NAGAYAMA, M.; AKAHORI, F.; CHIWATA H. et al. Effects of selected organophosphate insecticides on serum cholinesterase isoenzyme patterns in the rat. *Veterinary and Human Toxicology*. v. 38, n. 3, p. 196-199, 1996.

NEAL, A.P., YUAN, Y., ATCHISON, W.D. Allethrin differentially modulates voltage-gated calcium channel. *Toxicological Sciences*, v. 116, n. 2, p. 604-613, 2010.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Organofosforados e carbamatos no leite produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: Ocorrência e ação sobre *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n.1, p. 201-204, 2007.

NIESSEN, W.M.A. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*. 3<sup>a</sup> Edition (Chromatographic Science). Boca Raton: CRC Press, 2006. 583p.

OLIVEIRA, F. A. S. *Validação de um método multirresíduos e multiclases para determinação e quantificação de 140 resíduos de agrotóxicos em leite através da técnica LC-MS/MS*. 2011. 142f. Dissertação (Mestrado) Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

OLIVEIRA, F.A.S.; MADUREIRA, F.D.; LOPES, R.P. et al. Optimization of chromatographic conditions and comparison of extraction efficiencies of four different methods for determination and quantification of pesticide content in bovine milk by UFLC-MS/MS. *Química Nova*, v. 37, n. 10, p. 1699-1706, 2014.

OLIVEIRA, F.A.S. ; REIS, L.P.G. ; SOTO-BLANCO, B. et al. Pesticides residues in the *Prochilodus costatus*

- (Valenciennes, 1850) fish caught in the São Francisco River, Brazil. *Journal of Environmental Science and Health. Part B. Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, v. 50, p. 398-405, 2015.
- OLIVEIRA, V.C. Identificação da flora pioneira em cultivo de frutíferas após aplicação de herbicidas. *Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 11, n. 03, p. 62-66, 2015.
- OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Manual de vigilância da saúde de populações expostas a agrotóxicos, p. 1-72, 1997.
- OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; VARGAS JUNIOR, F.M. et al. Critérios para abate do animal e a qualidade da carne. *Revista Agrarian*, v. 5, n. 18, p. 433-443, 2012.
- PAMEL, E.V.; DAESELEIRE, E. A multiresidue liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the detection and quantitation of 15 nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in bovine meat and milk. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. v. 407, n. 15, p. 4485-4494, 2015.
- PASCHOAL, J.A.R.; RATH, S. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. *Química Nova*, v. 31, p. 1190-1198, 2008.
- PEREIRA-CARVALHO, R.C.; RESENDE, R.O.; DUVAL, A.Q. et al. *Doenças do tomate (Solanum lycopersicum L.)*. Sociedade Brasileira de Fitopatologia (SBF). 2014. Disponível em: <<http://www.sbfito.com.br/divulgacao/DoencasdoTomate.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2015.
- PIRES, D. X.; CALDAS, E. D.; RECENA, M. C. P. Intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícolas na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 1992 a 2002. *Caderno de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.21, n.3, p. 804-814, 2005.
- PITTERNA, T.; CASSARYE, J.; HÜTER, O.F. et al. New ventures in the chemistry of avermectins. *Bioorganic e Medicinal Chemistry*, v. 17, n. 12, p. 4085-4095, 2009.
- PRASSAD, K.S.N.; CHHABRA, A. Organochlorine pesticide residues in animal feeds and fodders. *Indian Journal of Animal Science*, v. 71, n. 12, p. 1178-1180, 2001.
- PRESTES, O. D. *Método rápido para a determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em alimentos de origem animal por LC-MS/MS*. Tese de doutorado. Santa Maria - RS, Brasil, 2011. 130p.
- QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A.. Validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em alimentos empregando QuEChERS E UPLC-MS/MS. *Química Nova*, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 185-192, 2012.
- RESENDE FILHO, M. A. Rastreabilidade e segurança do alimento: uma investigação em um contexto de perigo moral. In: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 47., 2008, Rio Branco. *Anais*. Rio Branco: Sober, 2008.
- RIBANI, M.; BOTTOLLI, C.B.G.; COLLINS, C. H. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
- RIBEIRO e SILVA, O. L.O produto mais nobre do agronegócio: carne bovina. *Revista Agroanalysis*, São Paulo, v.32, n.8, 2012.
- ROCHA, D. G. *Desenvolvimento e validação de metodologia multirresíduos por cromatografia líquida acoplada a*



- espectrometria de massas para análise de fluorquinolonas em músculo e rim de frangos*. Dissertação. 2014, 96f. Departamento de Química (UFMG).
- RODRIGUES, N.R. Agrotóxicos: Análises de Resíduos e Monitoramento. Universidade Estadual de Campinas. *Multi Ciência*. v.7, n.1, p. 1-7, 2006.
- RUBENSAN, G. *Determinação dos resíduos de avermectinas e milbemicinas em leite bovino por cromatografia líquida e detecção por fluorescência e espectrometria de massas*. 2010, 106f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- RUIZ, M. R.; MATSUSHITA, M.; SOUSA, N.E. et al. *Anuário, sindicato do comércio varejista de carnes frescas do estado de São Paulo*. RPM Editora, São Caetano do Sul. p. 149-15, 2005.
- SAGRATINI, G.; MAÑES, J.; GIARDINÁ, D. et al. Analysis of carbamate and phenylurea pesticide residues in fruit juices by solid-phase microextraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1147, n. 2, p. 135-143, 2007.
- SANCO, Commission of the European Communities (2003). Document no SANCO/10684/2009. *Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed*. Bruxelas, 01 Jan 2013. 40 p.
- SANTOS, M.; AREAS, M.A.; REYES, F.G. Piretróides–uma visão geral. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.
- SANTOS, M.S.; NOGUEIRA, H.C.; FERREIRA, R.R. et al. Qualidade da carne de bovinos terminados em pastejo. *Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia da UNIPAR*, v. 18, n. 2, p. 109-114, 2015.
- SCHNEIDER, M.J.; LEHOTAY, S.J.; LIGHTFIELD, A.R. Validation of a streamlined multiclass, multiresidue method for determination of veterinary drug residues in bovine muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. v. 407, n. 15, p. 4423-35, 2015.
- SELVI, C.; PARAMASIVAM, M.; RAJATHI, D. S. ; CHANDRASEKARAN, S. Multiresidue Analysis of Organochlorine Pesticides in Milk, Egg and Meat by GC–ECD and Confirmation by GC–MS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 89, p. 1051-1056, 2012.
- SHOOP, W.L., EGERTON, J.R., EARY, C.H. et al. Eprinomectin: a novel avermectin for use as a Topical Endectocide for Cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 26, n. 2, p. 1237-1242, 1996.
- SILVA, C.M.M. S.; FAY, E.F. *Agrotóxicos e Ambiente*. Embrapa Informações Tecnológicas - Brasília, 2004, 400p.
- SILVA, E. P. *Validação de método de extração e análise de multirresíduo de agrotóxicos em carne bovina por cromatografia gasosa*. Dissertação (Mestrado). 2008, 102f. Universidade Federal de Viçosa; 2008. Disponível em: <<http://repositorio.ufv.br/handle/123456789/2069>>. Acesso em: 15 fev. 2016.
- SILVA, A.P.; CORDÃO, M.A.; ARAÚJO, V.J.A. et al. Avaliação microbiológica de carne bovina (chã de dentro) comercializada no município de Patos, PB. *Higiene Alimentar*, v. 25, n. 192-193, p. 93-95, 2011.
- SILVA, I.P.; OLIVEIRA, F.A.S.; PEDROZA, H.P. et al. Pesticide exposure of honeybees (*Apis mellifera*) pollinating melon crops. *Apidologie*, v. 46, p. 703-715, 2015.
- SILVA, J. C. C. *Desenvolvimento de Metodologia Analítica para Determinação*

- de Microcistina-LR e Agrotóxicos em Águas Superficiais, utilizando as técnicas de Cromatografia Líquida e Cromatografia Gasosa Acopladas a Espectrometria de Massas. 2010, 121f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Ouro Preto, Minas Gérias.
- SILVA, J. O. *Meloidogyne incognita na cultura do tomate: levantamento e manejo com produtos biológicos*. 2015a. 76p. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Fitossanidade), Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- SILVA, C. O.; De-SOUZA, D. A.; PASCHOAL, G. B. et al. *Segurança Alimentar e Nutricional*. Editora Rubio, 2015b. 264p.
- SNYDER, L.R.; KIRKLAND, J.; DOLAN, J.W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 3 ed., Wiley, 2009, 816p.
- SOUZA, M.J.P.; GRÜNDLING, R.D.P.; MARION FILHO, P.J. A competitividade e a orientação regional da carne bovina brasileira (1992 - 2002). *Revista Economia e Desenvolvimento*, n. 14, p. 23-40, 2002.
- SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; PALERMO-NETO, J. *Toxicologia aplicada à Medicina Veterinária*. Editora Manole, Capítulo 9-12, 2008, 941f.
- STUBBINGS, G.; BIGWOOD, T. The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged and Safe) approach. *Analytica Chimica Acta*, v. 637, p. 68-78, 2009.
- TIXIER, C.; SANCELME, M.; BONNEMOY, F. et al. Degradation products of a phenylurea herbicide, diuron: synthesis, ecotoxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 20, n. 7, p.1381-1389, 2001.
- THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R., WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. *Pure Applied Chemistry*, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.
- TOMLIN, C. D. S. *The pesticides manual, The British Crop Protection Council*, versão eletrônica 3.0, 2004. 557p.
- TRICHES, D.; SILVA, S.Z.; MALAFAIA, G.C. Reflexões sobre as barreiras não-tarifárias à exportação na cadeia da carne bovina brasileira. *Anais 47º Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural*. Porto Alegre, 26 a 30 de julho de 2009.
- USDA. 2012. *United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service*. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdquery.aspx>> Acesso em: 05 ago. 2015.
- USDA. 2015. *Agricultural Projections*. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/publications/oce-usda-agricultural-projections/oce-2008-1.aspx>>. Acesso em: 07 dez. 2015.
- VIGNA, C. R. M. *Aplicação de polissiloxanos imobilizados sobre sílica como fase estacionária e como sorvente na determinação de agrotóxicos em água e caldo de cana*. 2010, 137 p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas-SP.
- WHO (World Health Organization). *Public health impact of pesticides used in agriculture*. Genebra: World Health Organization, 1990.
- XAVIER, F.G.; RIGHI, D.A.; SPINOSA, H.S. Toxicologia do praguicida aldicarb (“chumbinho”): aspectos gerais, clínicos e terapêuticos em cães e gatos. *Ciência Rural*, v. 37, n. 4, p. 1206-1211, 2007.

YANG, X.; ZHANG, H.; LIU, Y. et al. Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry: Determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC-MS. *Food Chemistry*, v. 127, n. 2, p. 855-

865, 2011.

ZHANG, L. J. LIU, S.; CUI, X.; PAN, C.; ZHANG, A.; CHEN, F. A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. *Central European Journal of Chemistry*, v. 10, n. 3, p. 900-925, 2012.

## ANEXO A

Quadro 3- Plano da cadeia de carnes bovinas seus analitos em músculo e LMR para grupos de Organofosforados, Piretróides, Pirazóis, Neonicotinoides, Carbamatos e Benzimidazóis

| Analitos                | LMR (µg/kg) | Analitos          | LMR (µg/kg) | Analitos         | LMR (µg/kg) |
|-------------------------|-------------|-------------------|-------------|------------------|-------------|
| Acefato                 | 50          | Dimetomorfe       | 10          | Monocrotofós     | 10          |
| Alaclaro                | 10          | Disulfotom        | 10          | Ometoato         | 10          |
| Aldicarb                | 10          | Etiona            | 10          | Oxifluorfem      | 10          |
| Azinfós etil            | 10          | Etofenproxi       | 500         | Paclobutrazol    | 10          |
| Azinfós metil           | 10          | Etoprofós         | 10          | Permetrina       | 50          |
| Azoxistrobina           | 50          | Etrinós           | 10          | Piraclostrobina  | 50          |
| Bifentrina              | 3000        | Fempropatrina     | 100         | Pirazofós        | 20          |
| Boscalida               | 700         | Fenamifós         | 10          | Piridabem        | 20          |
| Bromopropilato          | 10          | Fenarimol         | 20          | Pirifenox        | 10          |
| Carbaril                | 50          | Fenitrotona       | 50          | Pirimicarbe      | 10          |
| Carbendazin             | 50          | Fentiona          | 50          | Pirimifós etil   | 10          |
| Carbofenotion           | 10          | Fenvalerato       | 25          | Pirimifós metil  | 10          |
| Carbofurano             | 50          | Fipronil          | 20          | Piriproxifen     | 50          |
| Carbossulfano           | 50          | Imidacloprido     | 100         | Procloraz        | 100         |
| Cimoxanil               | 10          | Iprodiona         | 50          | Profenofós       | 50          |
| Ciproconazol            | 50          | Iprovalicarbe     | 50          | Prometrina       | 10          |
| Ciflutrina              | 50          | Lambda Cialotrina | 500         | Propamocarbe     | 10          |
| Cipermetrina (isômeros) | 50          | Linuron           | 100         | Propargito       | 100         |
| Clorfenvinfós           | 10          | Malation          | 20          | Propiconazol     | 50          |
| Clorpirifós etil        | 50          | Metomil           | 20          | Tiofanato metila | 50          |
| Clorpirifós metil       | 10          | Mevinfós          | 10          | Triadimefon      | 20          |
| Cresoxim Metil          | 50          | Miclobutanil      | 10          | Triadimenol      | 20          |
| Deltametrina            | 30          | Metalaxil         | 50          | Triazofós        | 10          |
| Diazinon                | 20          | Metamidofós       | 10          | Triciclazole     | 50          |
| Diclorvós               | 10          | Metconazol        | 20          | Tricloform       | 10          |

| Analitos      | LMR<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | Analitos    | LMR<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | Analitos          | LMR<br>( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) |
|---------------|------------------------------------|-------------|------------------------------------|-------------------|------------------------------------|
| Difenoconazol | 50                                 | Metidationa | 20                                 | Trifloxistrombina | 40                                 |
| Dimetoato     | 50                                 |             |                                    |                   |                                    |

Fonte: Modificado de Brasil (2015)

## ANEXO B

Quadro 4 - Agrotóxicos analisados, classes de uso, finalidade e fórmula molecular

| Composto             | Grupo Químico    | Classe | Fórmula Molecular   |
|----------------------|------------------|--------|---|
| 3-hidroxicarbofurano | Carbamato        | I      | C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub>                               |
| Acefato              | Organofosforado  | I      | C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>3</sub> PS                             |
| Acetamiprido         | Neonicotícoide   | I      | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>                              |
| Alacloro             | Cloroacetanilida | H/A    | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>                             |
| Aldicarbe            | Carbamato        | I      | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                |
| Aldicarbe sulfona    | Carbamato        | I      | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S                |
| Aldicarbe sulfóxido  | Carbamato        | I      | C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S                |
| Aletrina             | Piretróide       | I      | C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>                                |
| Ametrina             | Triazina         | H      | C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> S                               |
| Avermectina B1a      | Avermectinas     | F/A    | C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>                               |
| Azinfós etil         | Organofosforado  | I/A    | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub> |
| Azinfós metil        | Organofosforado  | I      | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub> |
| Azoxistrobina        | Estrobilurina    | F      | C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>                 |
| Barban               | Carbamato        | H      | C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>                |
| Benalaxil            | Acilalaninato    | F      | C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>                               |
| Benfuracarbe         | Carbamato        | I/N    | C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S               |
| Benomil              | Benzimidazol     | F      | C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>                 |
| BF 500-3             | N-demetoxilado   | F      | C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>               |
| Bitertanol           | Triazol          | F      | C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>                 |
| Boscalida            | Carboxamida      | F      | C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS                             |
| Buprofenzina         | Neonicotínóide   | I      | C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O              |
| Cadusafos            | Organofosforado  | I/N    | C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub> P               |
| Carbaril             | Carbamato        | I      | C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>                               |
| Carbendazim          | Benzimidazol     | F      | C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>                   |
| Carbofurano          | Carbamato        | I/A    | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>                               |
| Carbossulfano        | Carbamato        | I/A/N  | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S               |

| Composto          | Grupo Químico                 | Classe | Fórmula Molecular         |
|-------------------|-------------------------------|--------|---------------------------|
| Carpropamida      | Amida                         | F      | $C_{15}H_{18}Cl_3NO$      |
| Cialofope butil   | Ácido Ariloxifenoxipropiônico | H      | $C_{20}H_{20}FNO_4$       |
| Ciazofamida       | Imidazol                      | F      | $C_{13}H_{13}ClN_4O_2S$   |
| Ciflufenamida     | Fenilacetamida                | F      | $C_{20}H_{17}F_5N_2O_2$   |
| Cimoxanil         | Acetamida                     | F      | $C_7H_{10}N_4O_3$         |
| Cinidon etílico   | Fitalimida                    | H      | $C_{16}H_{23}N_3OS$       |
| Cipermetrina      | Piretróide                    | I      | $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$    |
| Ciproconazol      | Triazol                       | F      | $C_{15}H_{18}ClN_3O$      |
| Ciprodinil        | Anilino piridina              | F      | $C_{14}H_{15}N_3$         |
| Ciromazina        | Triazina                      | I      | $C_6H_{10}N_6$            |
| Clofentezina      | Tetrazina                     | A      | $C_{14}H_8Cl_2N_4$        |
| Clorbufan         | Carbamato                     | I      | $C_{12}H_{15}NO_3$        |
| Clorfenvinfós     | Organofosforado               | A/I    | $C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$    |
| Cloroxuron        | Derivados da ureia            | H      | $C_{15}H_{15}ClN_2O_2$    |
| Clorpirifós       | Organofosforado               | A/F/I  | $C_9H_{11}Cl_3F_5N_3O_3$  |
| Clorpirifós metil | Organofosforado               | A/I    | $C_7H_7Cl_3NO_3PS$        |
| Clortiofós        | Organofosforado               | I      | $C_{11}H_{15}Cl_2O_3PS_2$ |
| Cresoxim metil    | Estrobirulina                 | F      | $C_{18}H_{19}NO_4$        |
| Deltametrina      | Piretróide                    | I/F    | $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$    |
| Desmedifam        | Carbamato                     | H      | $C_{16}H_{16}N_2O_4$      |
| Dialato           | Tiocarbamato                  | A/H    | $C_{10}H_{17}Cl_2NOS$     |
| Diazinona         | Organofosforado               | I/A    | $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$    |
| Diclorvós         | Organofosforado               | I      | $C_4H_7Cl_2O_4P$          |
| Dicrotofós        | Organofosforado               | I/A    | $C_8H_{16}NO_5P$          |
| Difenoconazol     | Triazol                       | F      | $C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$  |
| Diflufenicam      | Anilida                       | H      | $C_{19}H_{11}F_5N_2O_2$   |
| Dimetoato         | Organofosforado               | I      | $C_5H_{12}NO_3PS_2$       |
| Dimetomorfe       | Morfolina                     | F      | $C_{21}H_{22}ClNO_4$      |

| Composto             | Grupo Químico     | Classe | Fórmula Molecular       |
|----------------------|-------------------|--------|-------------------------|
| Diniconazol          | Azole             | F      | $C_5H_{17}Cl_2N_3O$     |
| Dissulfotona         | Organofosforado   | I/A    | $C_8H_{19}O_2PS_3$      |
| Dissulfotona sulfona | Organofosforado   | I/A    | $C_8H_{19}O_4PS_3$      |
| Dissulfotona         | Organofosforado   | I/A    | $C_8H_{19}O_3PS_3$      |
| Diurom               | Derivado da ureia | H      | $C_9H_{10}Cl_2N_2O$     |
| Dodemorfe            | Morfolina         | F      | $C_{18}H_{35}NO$        |
| Epoxiconazol         | Triazol           | F      | $C_{17}H_{13}ClFN_3O$   |
| Espiromesifeno       | Cetoenol          | I/A    | $C_{23}H_{30}O_4$       |
| Espiroxamina         | Morfolino         | F      | $C_{18}H_{35}NO_2$      |
| Etiofencarbe sulfona | Carbamato         | I      | $C_{11}H_{15}NO_4S$     |
| Etiofencarbe         | Carbamato         | I      | $C_{11}H_{15}NO_2S$     |
| Etiona               | Organofosforado   | A/I    | $C_9H_{22}O_4P_2S_4$    |
| Etiprole             | Fenilpirazol      | I      | $C_{13}H_9Cl_2F_3N_4OS$ |
| Etofumesato          | Metanosulfonato   | H      | $C_{13}H_{18}O_5S$      |
| Etoprofós            | Organofosforado   | I      | $C_8H_{19}O_2PS_2$      |
| Etoxissulfurom       | Derivado da ureia | H      | $C_{15}H_{18}N_4O_7S$   |
| Etrinfós             | Organofosforado   | A/I    | $C_{10}H_{17}N_2OPS$    |
| Fenamidona           | Imidazolinona     | F      | $C_{17}H_{17}N_3OS$     |
| Fenamifós            | Organofosforado   | N      | $C_{13}H_{22}NO_3PS$    |
| Fenamifós sulfona    | Organofosforado   | N      | $C_{13}H_{22}NO_5PS$    |
| Fenamifós sulfóxido  | Organofosforado   | N      | $C_{13}H_{22}NO_4PS$    |
| Fenarimol            | Pirimidina        | F      | $C_{17}H_{12}Cl_2N_2O$  |
| Fenazaquina          | Quinazolina       | I/A    | $C_{20}H_{22}N_2O$      |
| Fenexamida           | Hidroxianilida    | F      | $C_{14}H_{17}Cl_2NO_2$  |
| Fenpiroximato        | Pirazol           | I/A    | $C_{24}H_{27}N_3O_4$    |
| Fenpropimorfe        | Morfolínico       | F      | $C_{20}H_{33}NO$        |
| Fentiona             | Organofosforado   | I/A    | $C_{10}H_{15}O_3PS_2$   |
| Fentoato             | Organofosforado   | I/A    | $C_{12}H_{17}O_4PS_2$   |



| Composto              | Grupo Químico                 | Classe | Fórmula Molecular   |
|-----------------------|-------------------------------|--------|---|
| Fipronil              | Piretróide                    | H      | C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> OS             |
| Flazassulfurom        | Derivado de ureia             | H      | C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> S              |
| Fluasifope p-butflico | Ácido Ariloxifenoxipropiônico | H      | C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>                              |
| Flumetrina            | Piretróide                    | I      | C <sub>28</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> FNO <sub>3</sub>                            |
| Fluquinconazol        | Triazol                       | F      | C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>5</sub> O                            |
| Flutriafol            | Triazol                       | F      | C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O                             |
| Fluzilazol            | Triazol                       | F      | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> Si                            |
| Foransulfurom         | Derivado da ureia             | H      | C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O <sub>7</sub> S                             |
| Forato                | Organofosforado               | A/I/N  | C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>                               |
| Forato sulfóxido      | Organofosforado               | A/I/N  | C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>3</sub>                               |
| Fosalona              | Organofosforado               | A/I    | C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>                           |
| Fosfamidona           | Organofosforado               | I      | C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>5</sub> P   |
| Fosmete               | Organofosforado               | I      | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>                             |
| Fostiazato            | Organofosforado               | I      | C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>                              |
| Furatiocarbe          | Carbamato                     | I      | C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S                             |
| Hexaconazol           | Triazol                       | F      | C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O                            |
| Hexitiazoxi           | Tiazolidinacarboxamida        | A      | C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S                           |
| Imazalil              | Fenilpiridinilamina           | F      | C <sub>13</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> |
| Imazapique            | Imidazolinona                 | H      | C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                               |
| Imidacloprido         | Neonicotinóide                | I      | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>                              |
| Indoxacarbe           | Oxadiazina                    | I      | C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>              |
| Iprodiona             | Dicarboxamidas                | F      | C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>               |
| Iprovalicarbe         | Carbamato                     | F      | C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>                               |
| Isoproturon           | Derivados da ureia            | H      | C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O  |
| Linuron               | Derivados da ureia            | H      | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                |
| Malationa             | Organofosforado               | I/A    | C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>                              |
| Metalaxil             | Fenilamida                    | F      | C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>   |
| Metamidofós           | Organofosforado               | I/A    | C <sub>2</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS  |

| Composto             | Grupo Químico     | Classe  | Fórmula Molecular        |
|----------------------|-------------------|---------|--------------------------|
| Metazaclor           | Cloroacetamida    | H       | $C_{14}H_{16}ClN_3O$     |
| Meticonazol          | Triazol           | F       | $C_{17}H_{22}ClN_3O$     |
| Metidationa          | Organofosforado   | I       | $C_6H_{11}N_2O_4PS_3$    |
| Metiocarbe           | Carbamato         | I       | $C_{11}H_{15}NO_2S$      |
| Metiocarbe sulfóxido | Carbamato         | F       | $C_9H_{11}NO_4S_2$       |
| Metissulfurom metil  | Derivado de ureia | H       | $C_{14}H_{15}N_5O_6S$    |
| Metomil              | Carbamato         | I       | $C_5H_{10}N_2O_2S$       |
| Metoxifenoazida      | Diacilhidrazina   | I       | $C_{22}H_{28}N_2O_3$     |
| Mevinfós             | Organofosforado   | I/A     | $C_7H_{13}O_6P$          |
| Miclobutanil         | Triazol           | F       | $C_{15}H_{17}ClN_4$      |
| Monocrotofós         | Organofosforado   | I/A     | $C_7H_{14}NO_5P$         |
| Monolinuron          | Derivado da ureia | H       | $C_9H_{11}ClN_2O_2$      |
| Nuarimol             | Pirimidina        | F       | $C_{17}H_{12}ClFN_2O$    |
| Ometoato             | Organofosforado   | I       | $C_5H_{12}NO_4PS$        |
| Oxadixil             | Fenilamida        | F       | $C_{14}H_{18}N_2O_4$     |
| Oxamil               | Carbamato         | A, N, I | $C_7H_{13}N_3O_3S$       |
| Oxassulfurom         | Derivado da ureia | H       | $C_{17}H_{18}N_4O_6S$    |
| Oxifluorfem          | Difenil eter      | H       | $C_{15}H_{11}ClF_3NO_4$  |
| Paclobutrazol        | Triazol           | F       | $C_{15}H_{20}ClN_3O$     |
| Paraoxom etil        | Organofosforado   | I/A     | $C_{10}H_{14}NO_6P$      |
| Parationa etílica    | Organofosforado   | I/A     | $C_{10}H_{14}NO_5PS$     |
| Pencicuron           | Derivado de ureia | F       | $C_{19}H_{21}ClN_2O$     |
| Penconazol           | Triazol           | F       | $C_{13}H_{15}Cl_2N_3$    |
| Pendimetalina        | Dinitroanilina    | H       | $C_{13}H_{19}N_3O_4$     |
| Picolinafem          | Piridínico        | H       | $C_{19}H_{12}F_4N_2O_2$  |
| Pimetrozina          | Triazina          | I       | $C_{10}H_{11}N_5O$       |
| Pinoxaden            | Fenilpirazol      | H       | $C_{23}H_{32}N_2O_4$     |
| Piraclofós           | Organofosforado   | I       | $C_{14}H_{18}ClN_2O_3PS$ |

| Composto               | Grupo Químico                 | Classe | Fórmula Molecular        |
|------------------------|-------------------------------|--------|--------------------------|
| Piraclostrobina        | Carbamato                     | F      | $C_{19}H_{18}ClN_3O_4$   |
| Pirazoassulfuron etil  | Derivados de ureia            | H      | $C_{14}H_{18}N_6O_7S$    |
| Pirazofós              | Fosforiato de heterociclo     | F/I    | $C_{14}H_{20}N_3O_5PS$   |
| Piridabem              | Piridazinona                  | I      | $C_{19}H_{25}ClN_2OS$    |
| Pirifenox              | Piridinas                     | F      | $C_{14}H_{12}Cl_2N_2O$   |
| Piriftalide            | Piridinas                     | F      | $C_{15}H_{14}N_2O_4S$    |
| Primetamina            | Diazinas                      | I      | $C_{12}H_{13}ClN_4$      |
| Pirimetanil            | Aminopirimidina               | A/F    | $C_{12}H_{13}N_3$        |
| Pirimicarbe            | Carbamato                     | I      | $C_{11}H_{18}N_4O_2$     |
| Pirimifós etil         | Organofosforado               | A/I    | $C_{13}H_{24}N_3O_3PS$   |
| Pirimifós metil        | Organofosforado               | A/I    | $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$   |
| Piriproxifem           | Éster Piridiloxipropílico     | I      | $C_{20}H_{19}NO_3$       |
| Piroquilon             | Quinilina                     | F      | $C_{11}H_{11}NO$         |
| Procloraz              | Imidazol                      | F      | $C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$ |
| Profam                 | Carbamato                     | H      | $C_{10}H_{13}NO_2$       |
| Profenofós             | Organofosforado               | I      | $C_{11}H_{15}BrClO_3PS$  |
| Promecarbe             | Carbamato                     | I      | $C_{12}H_{17}NO_2$       |
| Propaquizafope         | Ácido Ariloxifenoxipropiônico | H      | $C_{22}H_{22}ClN_3O_5$   |
| Propargito             | Sulfato de Alquila            | A      | $C_{19}H_{26}O_4S$       |
| Propiconazol           | Triazol                       | F      | $C_{15}H_{17}Cl_2N_3O_2$ |
| Propizamida            | Benzimidazol                  | H      | $C_{12}H_{11}Cl_2NO$     |
| Propoxur               | Carbamato                     | I      | $C_{11}H_{15}NO_3$       |
| Prossulfurom           | Derivado de ureia             | H      | $C_{15}H_{16}F_3N_5O_4S$ |
| Quinalfós              | Organofosforado               | A/I    | $C_{12}H_{15}N_2O_3PS$   |
| Quinoclamina           | Quinona                       | H      | $C_{10}H_6ClNO_2$        |
| Quizalofope – p - etil | Ester Fenoxipropiônico        | H      | $C_{19}H_{17}ClN_2O_4$   |
| Rinsulfurona           | Sulfonilureia                 | H      | $C_{14}H_{17}N_5O_7S_2$  |
| Sulfossulfuron         | Sulfonilureia                 | H      | $C_{16}H_{18}N_6O_7S_2$  |

| Composto            | Grupo Químico     | Classe | Fórmula Molecular         |
|---------------------|-------------------|--------|---------------------------|
| Sulfotepe           | Organofosforado   | I      | $C_8H_{20}O_5P_2S_2$      |
| Tebuconazol         | Triazol           | F      | $C_{16}H_{22}ClN_3O$      |
| Tebufempirade       | Pirazole          | A      | $C_{18}H_{24}ClN_3O$      |
| Tebufenozida        | Benzohidrazina    | I      | $C_{22}H_{28}N_2O_2$      |
| Temefós             | Organofosforado   | I      | $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$   |
| Terbufós            | Organofosforado   | I      | $C_9H_{21}O_2PS_3$        |
| Tetraconazol        | Triazol           | F      | $C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$ |
| Tiacloprido         | Neonicotinóide    | I      | $C_{10}H_9ClN_4S$         |
| Tiametoxam          | Neonicotinóide    | I      | $C_8H_{10}ClN_5O_3S$      |
| Tifensulfurom metil | Derivado da ureia | H      | $C_{12}H_{13}N_5O_6S_2$   |
| Tiobencarbe         | Carbamato         | H      | $C_{12}H_{16}ClNOS$       |
| Tiofanato metílico  | Benzimidazol      | F      | $C_{17}H_{14}N_4O_4S_7$   |
| Triadimefon         | Triazol           | F      | $C_{14}H_{16}ClN_3O_2$    |
| Triadimenol         | Triazol           | F      | $C_{14}H_{18}ClN_3O_2$    |
| Triassulfurom       | Derivado de ureia | H      | $C_{14}H_{16}ClN_5O_5S$   |
| Triazofós           | Organofosforado   | A/I/N  | $C_{12}H_{16}N_3O_3PS$    |
| Triciclazol         | Benzoatiol        | F      | $C_9H_7N_3S$              |
| Triclorfom          | Organofosforado   | I      | $C_4H_8Cl_3O_4P$          |
| Trifloxistrobina    | Oximinoacetato    | F      | $C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$   |
| Triflumizol         | Imidazol          | F      | $C_{15}H_{15}ClF_3N_3O$   |
| Triforin            | Triazol           | F      | $C_{10}H_{14}Cl_6N_4O_2$  |
| Triticonazol        | Triazol           | F      | $C_{17}H_{20}ClN_3O$      |

A: Acaricida; F: Fungicida; H: Herbicida; I: Inseticida; N: Nematicida  
 Fonte: Adaptado de ANVISA, 2012.

## APÊNDICE A

Tabela 12 - Tempos de retenção (TR), condições operacionais do espectrômetro de massas e transições MRM (1ª transição/íon precursor e a 2ª transição/íon produto) utilizadas

| Composto             | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor | Íons produtos         | DP (V)  | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|----------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|-----------------------|---------|---------------------|----------------------|
| 3-hidroxicarbofurano | 0,76-0,80           | [M + H] <sup>+</sup>                | 238,1         | 163,1 / 181,2         | 82      | (21, 15)            | (4, 2)               |
| Acefato              | 0,45-0,48           | [M + H] <sup>+</sup>                | 183,9         | 143,0 / 125,0 / 95,0  | 51      | (13, 25, 31)        | (12, 10, 12)         |
| Acetamiprido         | 0,74-0,78           | [M + H] <sup>+</sup>                | 223,1         | 126,0 / 73,0          | 51      | (29, 71)            | (12, 8)              |
| Alacloro             | 5,55-5,75           | [M + H] <sup>+</sup>                | 270,1 / 272,1 | 238 / 162,1 / 240     | 76 / 71 | (15 / 27 / 15)      | (22, 14, 22)         |
| Aldicarbe            | 1,18-1,25           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 208,1         | 116,0 / 88,9          | 51      | (11, 20)            | (3, 3)               |
| Aldicarbe sulfona    | 0,50-0,53           | [M + H] <sup>+</sup>                | 223,1         | 86,1 / 76,1           | 101     | (21, 11)            | (8, 8)               |
| Aldicarbe sulfóxido  | 0,47-0,50           | [M + H] <sup>+</sup>                | 207,1         | 132,0 / 89,0          | 86      | (9, 21)             | (12, 8)              |
| Aletrina             | 7,99-8,41           | [M + H] <sup>+</sup>                | 303,1         | 135,1 / 91,1          | 106     | (17,55)             | (12, 8)              |
| Ametrina             | 4,20-4,40           | [M + H] <sup>+</sup>                | 228,0         | 186 / 116             | 71      | (25, 35)            | (16, 10)             |
| Avermectina B1a      | 10,08-10,60         | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 890,5         | 305,2 / 145,1         | 91 / 81 | (33, 53)            | (28, 28)             |
| Azinfós etil         | 5,07-5,33           | [M + H] <sup>+</sup>                | 346,0         | 132,2 / 160,2         | 76      | (23, 15)            | (12, 12)             |
| Azinfós metil        | 3,34-3,52           | [M + H] <sup>+</sup>                | 318,1         | 132,1 / 261,1 / 160,0 | 106     | (23, 9, 11)         | (12, 24, 16)         |
| Azoxistrobina        | 3,99-4,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 404,1         | 371,9 / 343,9         | 101     | (21, 29)            | (34, 34)             |
| Barban               | 4,41-4,64           | [M + H] <sup>+</sup>                | 258,1         | 178,0 / 143,1         | 81      | (13, 27)            | (16, 14)             |
| Benalaxil            | 6,21-6,52           | [M + H] <sup>+</sup>                | 326,0         | 148,0 / 294,0         | 81      | (31, 15)            | (12, 28)             |
| Benfuracarbe         | 7,57-7,96           | [M + H] <sup>+</sup>                | 411,1         | 190,1 / 102,1         | 86      | (17, 43)            | (18, 8)              |
| Benomil              | 0,58-0,62           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 382,1         | 167,0 / 198,9         | 61      | (18, 38)            | (3, 3)               |
| BF 500-3             | 6,42-6,75           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 358,0         | 132,1 / 164,1         | 56      | (41, 19)            | (12, 16)             |
| Bitertanol           | 6,53-6,87           | [M + H] <sup>+</sup>                | 338,1         | 269,1 / 99,0          | 51      | (13, 21)            | (24, 10)             |
| Boscalida            | 4,36-4,92           | [M + H] <sup>+</sup>                | 343,0         | 307,0 / 139,9         | 126     | (27, 27)            | (28, 28)             |
| Buprofenzina         | 8,15-8,30           | [M + H] <sup>+</sup>                | 306,2         | 201,1 / 116           | 56      | (17,21)             | (18,10)              |
| Cadusafos            | 7,17-7,30           | [M + H] <sup>+</sup>                | 271,1         | 159 / 215             | 76      | (19, 13)            | (18,10)              |
| Carbaril             | 1,95-2,05           | [M + H] <sup>+</sup>                | 202,2         | 145,1 / 127,1         | 66      | (15, 39)            | (14, 12)             |
| Carbendazim          | 0,95-1,00           | [M + H] <sup>+</sup>                | 192,0         | 160,1 / 132,1         | 56      | (25, 41)            | (14, 12)             |
| Carbofurano          | 1,75-1,84           | [M + H] <sup>+</sup>                | 222,1         | 165,2 / 123,0         | 70      | (17, 29)            | (2, 2)               |
| Carbossulfano        | 10,21-10,74         | [M + H] <sup>+</sup>                | 381,2         | 118,0 / 160,2         | 72      | (27, 20)            | (3, 3)               |

| Composto             | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor  | Íons produtos            | DP (V) | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|----------------------|---------------------|-------------------------------------|----------------|--------------------------|--------|---------------------|----------------------|
| Carpropamida         | 6,32-6,46           | [M + H] <sup>+</sup>                | 334,0          | 139 / 103                | 81     | (25,59)             | (12,10)              |
| Cialofope butil      | 7,42-7,52           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 375,1          | 256 / 120                | 61     | (23,41)             | (22,10)              |
| Ciazofamida          | 5,25-5,52           | [M + H] <sup>+</sup>                | 324,9          | 108,0 / 261,0            | 66     | (19, 13)            | (10, 24)             |
| Ciflufenamida        | 7,02-7,16           | [M + H] <sup>+</sup>                | 413,1          | 294,9 / 241              | 56     | (21,31)             | (26,22)              |
| Cimoxanil            | 0,91-0,96           | [M + H] <sup>+</sup>                | 199,1          | 128,0 / 110,9            | 96     | (13, 25)            | (12, 12)             |
| Cinidon etílico      | 7,68-8,10           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 410,9          | 347,9 / 365,9            | 51     | (31, 25)            | (32, 34)             |
| Cipermetrina         | 9,40-9,80           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 433,1<br>435,1 | 190,9 / 193              | 66,61  | (21,21)             | (16,18)              |
| Ciproconazol         | 4,74-5,00           | [M + H] <sup>+</sup>                | 292,1          | 70,1 / 125,0             | 81     | (23, 37)            | (8, 12)              |
| Ciprodinil           | 5,98-6,28           | [M + H] <sup>+</sup>                | 226,1          | 92,9 / 76,9              | 71     | (45, 63)            | (34, 34)             |
| Ciromazina           | 0,45-0,48           | [M + H] <sup>+</sup>                | 167,1          | 85 / 68,1                | 61     | (25, 45)            | (8, 8)               |
| Clofentezina         | 6,82-6,97           | [M + H] <sup>+</sup>                | 303,0          | 137,9 / 102              | 21     | (21,53)             | (12,8)               |
| Clorbufan            | 3,86-4,06           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 241,1          | 172,0 / 154,0            | 51     | (17, 29)            | (16, 14)             |
| Clorfenvinfós        | 6,53-6,86           | [M + H] <sup>+</sup>                | 358,9          | 155,0 / 99,2             | 111    | (17, 43)            | (14, 14)             |
| Cloroxuron           | 4,68-4,92           | [M + H] <sup>+</sup>                | 291,2          | 72,0 / 218,0             | 96/91  | (53, 33)            | (8, 20)              |
| Clorpirifós          | 8,13-8,54           | [M + H] <sup>+</sup>                | 350,1          | 97,0 / 197,9             | 91     | (45, 25)            | (10, 10)             |
| Clorpirifós metil    | 6,77-7,12           | [M + H] <sup>+</sup>                | 321,9          | 125,0 / 289,8            | 106    | (27, 23)            | (12, 26)             |
| Clortiofós           | 8,80-8,92           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 361,0          | 304,8 / 192              | 86     | (23, 39)            | (28,16)              |
| Cresoxim metil       | 5,95-6,26           | [M + H] <sup>+</sup>                | 314,1          | 222,1 / 116,0            | 76     | (21, 19)            | (20, 10)             |
| Deltametrina         | 9,33-9,80           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 522,9          | 280,7 / 181,3 /<br>172,1 | 61     | (23, 51,<br>40)     | (26, 26, 26)         |
| Desmedifam           | 3,35-3,60           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 318,1          | 182 / 136                | 46     | (19,37)             | (16,12)              |
| Dialato              | 7,27-7,64           | [M + H] <sup>+</sup>                | 271,0          | 86,1 / 87,1              | 71     | (21, 21)            | (8, 8)               |
| Diazinona            | 6,32-6,65           | [M + H] <sup>+</sup>                | 305,1          | 97,0 / 169,1             | 71     | (49, 31)            | (10,16)              |
| Diclorvós            | 1,60-1,69           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 223,0          | 109,0 / 79,0             | 61     | (23, 37)            | (10, 8)              |
| Dicrotofós           | 0,47-0,83           | [M + H] <sup>+</sup>                | 238,1          | 112 / 193                | 71     | (17,23)             | (10,18)              |
| Difenoconazol        | 6,63-6,97           | [M + H] <sup>+</sup>                | 406,1          | 250,9 / 337,2            | 96     | (35, 23)            | (24, 24)             |
| Diflufenicam         | 7,40-7,52           | [M + H] <sup>+</sup>                | 395,1          | 266 / 246                | 141    | (35,51)             | (24,22)              |
| Dimetoato            | 0,78-0,82           | [M + H] <sup>+</sup>                | 230,0          | 125,0 / 198,8            | 71     | (31, 13)            | (12, 12)             |
| Dimetomorfe          | 4,52-4,92           | [M + H] <sup>+</sup>                | 388,1          | 300,9 / 165,1            | 66     | (29 ,43)            | (26,14)              |
| Diniconazol          | 6,86-7,00           | [M + H] <sup>+</sup>                | 326,1<br>238,1 | 70,0 / 70,1              | 76     | (59,61)             | (12,8)               |
| Dissulfotona         | 6,64-6,99           | [M + H] <sup>+</sup>                | 275,1          | 89,1 / 61,1              | 66     | (19, 45)            | (8, 10)              |
| Dissulfotona sulfona | 2,57-2,71           | [M + H] <sup>+</sup>                | 307,0          | 153,0 / 171,0            | 91     | (17, 17)            | (14, 14)             |

| Composto               | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor | Íons produtos | DP (V)   | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|------------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|----------|---------------------|----------------------|
| Dissulfotona sulfóxido | 2,45-2,58           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 291,0         | 185,0 / 157,0 | 61       | (21, 31)            | (18, 18)             |
| Diurom                 | 3,00-3,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 233,1         | 72,0 / 159,9  | 81       | (23,35)             | (8,14)               |
| Dodemorfe              | 10,6-10,8           | [M + H] <sup>+</sup>                | 281,7         | 116,1 / 98,1  | 51       | (29,35)             | (10,10)              |
| Epoxiconazol           | 5,52-5,67           | [M + H] <sup>+</sup>                | 330,0         | 121/101       | 66       | (27,65)             | (10,10)              |
| Espiromesifeno         | 8,80-8,92           | [M + H] <sup>+</sup>                | 371,1         | 273/ 255,1    | 141      | (21,31)             | (22,20)              |
| Espiroxamina           | 7,30-7,67           | [M + H] <sup>+</sup>                | 298,2         | 144,2 / 100,1 | 61       | (27, 41)            | (14, 10)             |
| Etiofencarbe sulfona   | 0,60-0,80           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 275,0         | 107 / 201     | 51       | (29,15)             | (10,18)              |
| Etiofencarbe sulfóxido | 0,50-0,87           | [M + H] <sup>+</sup>                | 242,0         | 107 / 185     | 66       | (25,11)             | (10,16)              |
| Etiona                 | 7,93-8,34           | [M + H] <sup>+</sup>                | 385,0         | 199,1 / 171,0 | 91       | (15, 23)            | (18, 18)             |
| Etiprole               | 4,36-4,55           | [M + H] <sup>+</sup>                | 397,0         | 350,9/ 254,9  | 156      | (29,47)             | (30,22)              |
| Etofumesato            | 3,93-4,14           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 304,1         | 121,1 / 161,2 | 71       | (29, 31)            | (12, 12)             |
| Etoprofós              | 5,29-5,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 243,1         | 131,0 / 96,6  | 91       | (27, 41)            | (12, 10)             |
| Etoxissulfurom         | 1,60-1,69           | [M + H] <sup>+</sup>                | 399,0         | 261,0 / 218,0 | 81       | (23, 35)            | (24, 20)             |
| Etrinfós               | 5,98-6,29           | [M + H] <sup>+</sup>                | 293,1         | 125,0 / 265,1 | 66       | (33, 21)            | (12, 12)             |
| Fenamidona             | 4,26-4,48           | [M + H] <sup>+</sup>                | 312,1         | 92,1 / 236,1  | 71       | (35, 19)            | (8, 22)              |
| Fenamifós              | 5,58-5,87           | [M + H] <sup>+</sup>                | 304,1         | 217,1 / 202,0 | 11       | (29, 45)            | (20, 20)             |
| Fenamifós sulfona      | 1,82-1,92           | [M + H] <sup>+</sup>                | 336,0         | 188,0 / 266,0 | 131      | (39, 27)            | (16, 24)             |
| Fenamifós sulfóxido    | 1,66-1,75           | [M + H] <sup>+</sup>                | 320,1         | 232,9 / 171,1 | 131      | (33,31)             | (20, 16)             |
| Fenarimol              | 5,07-5,34           | [M + H] <sup>+</sup>                | 330,9         | 268,0 / 139,0 | 101      | (31, 47)            | (24, 12)             |
| Fenazaquina            | 9,60-9,75           | [M + H] <sup>+</sup>                | 307,2         | 57 / 91       | 66       | (37,87)             | (10,14)              |
| Fenexamida             | 5,13-5,40           | [M + H] <sup>+</sup>                | 302,1         | 97,2 / 55,1   | 116      | (31, 55)            | (10, 8)              |
| Fenpiroximato          | 9,15-9,27           | [M + H] <sup>+</sup>                | 422,1         | 366,1 / 135   | 81       | (25,41)             | (34,12)              |
| Fenpropimorfe          | 10,47-11,00         | [M + H] <sup>+</sup>                | 304,3         | 147,1 / 117,1 | 66       | (37, 73)            | (14, 10)             |
| Fentiona               | 5,97-6,28           | [M + H] <sup>+</sup>                | 279,0         | 247,0 / 169,0 | 58       | (19, 25)            | (22, 14)             |
| Fentoato               | 5,80-6,10           | [M + H] <sup>+</sup>                | 321,0         | 79,1 / 163,1  | 96 / 101 | (51, 17)            | (16, 16)             |
| Fipronil               | 5,66-5,96           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 453,9         | 368,1 / 255,1 | 56       | (31,51)             | (34, 34)             |
| Flazassulfurom         | 0,90-1,25           | [M + H] <sup>+</sup>                | 408,1         | 182 / 301     | 71       | (27,19)             | (16,26)              |
| Fluasifope p-butílico  | 7,75-8,15           | [M + H] <sup>+</sup>                | 384,1         | 282,0 / 328,0 | 116      | (29, 23)            | (26, 30)             |
| Flumetrina             | 10,68-11,2          | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 527,0         | 267,0 / 239,0 | 46       | (21, 31)            | (24, 22)             |

| Composto             | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor | Íons produtos         | DP (V) | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|----------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|-----------------------|--------|---------------------|----------------------|
| Fluquinconazol       | 4,92-5,17           | [M + H] <sup>+</sup>                | 376,0         | 307,0-349,0           | 11     | (33, 33)            | (28, 28)             |
| Flutriafol           | 2,70-2,83           | [M + H] <sup>+</sup>                | 302,1         | 122,9 / 109,0         | 85     | (35, 43)            | (12, 12)             |
| Fluzilazol           | 5,88-6,02           | [M + H] <sup>+</sup>                | 316,1         | 247 / 165,1           | 86     | (25,37)             | (22,14)              |
| Foransulfurom        | 0,74-0,78           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 453,1         | 182,1 / 272,1         | 86     | (27, 19)            | (16, 26)             |
| Forato               | 2,47-2,60           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 278,1         | 97,0 / 171,0          | 21     | (43, 25)            | (10,16)              |
| Forato sulfóxido     | 2,46-2,60           | [M + H] <sup>+</sup>                | 276,9         | 199,0 / 142,9         | 111    | (13, 27)            | (18, 12)             |
| Fosalona             | 6,54-6,88           | [M + H] <sup>+</sup>                | 367,9         | 182,0 / 111,0         | 121    | (21, 57)            | (16, 10)             |
| Fosfamidona          | 1,25-1,55           | [M + H] <sup>+</sup>                | 300,0         | 127/ 226,9            | 91     | (27,19)             | (12,20)              |
| Fosmete              | 3,42-3,59           | [M + H] <sup>+</sup>                | 318,0         | 133,0 / 130,1 / 160,0 | 96     | (51, 51, 19)        | (12, 12, 14)         |
| Fostiazato           | 2,55-2,80           | [M + H] <sup>+</sup>                | 284,1         | 104 / 227,9           | 91     | (27,11)             | (10,20)              |
| Furatiocarbe         | 7,64-8,04           | [M + H] <sup>+</sup>                | 383,2         | 195,2 / 252,2         | 72     | (17, 24)            | (3, 3)               |
| Hexaconazol          | 6,29-6,61           | [M + H] <sup>+</sup>                | 314,2         | 70,0 / 159,2          | 86     | (53, 37)            | (12, 12)             |
| Hexitiazoxi          | 8,18-8,60           | [M + H] <sup>+</sup>                | 353,0         | 228,0 / 168,1         | 61     | (21, 35)            | (20, 16)             |
| Imazalil             | 5,92-6,23           | [M + H] <sup>+</sup>                | 297,0         | 159,0 / 200,9         | 81     | (29, 23)            | (14, 14)             |
| Imazapique           | 0,45-0,75           | [M + H] <sup>+</sup>                | 276,1         | 231 / 216             | 51     | (27,33)             | (20,20)              |
| Imidacloprido        | 0,62-0,66           | [M + H] <sup>+</sup>                | 256,2         | 175,1 / 209,1         | 66     | (27, 21)            | (16, 20)             |
| Indoxacarbe          | 7,15-7,52           | [M + H] <sup>+</sup>                | 528,0         | 203,1 / 150,1         | 136    | (59, 31)            | (18, 14)             |
| Iprodiona            | 5,55-5,84           | [M + H] <sup>+</sup>                | 329,9 / 331,9 | 245,0 / 246,9         | 111    | (21, 21)            | (22, 22)             |
| Iprovalicarbe        | 5,14-5,41           | [M + H] <sup>+</sup>                | 321,2         | 119 / 203,2           | 61     | (23, 12)            | (3, 2)               |
| Isoproturon          | 2,86-3,01           | [M + H] <sup>+</sup>                | 207,3         | 72,1 / 165,1          | 71     | (23, 19)            | (8, 14)              |
| Linuron              | 3,71-3,90           | [M + H] <sup>+</sup>                | 249,1         | 159,9 / 182,0         | 76     | (25, 21)            | (4, 4)               |
| Malationa            | 4,48-4,72           | [M + H] <sup>+</sup>                | 330,9         | 127,1 / 285,1         | 111    | (17, 11)            | (12, 26)             |
| Metalaxil            | 3,05-3,21           | [M + H] <sup>+</sup>                | 280,2         | 220,1 / 192,2         | 66     | (19, 25)            | (20, 18)             |
| Metamidofós          | 0,44-0,47           | [M + H] <sup>+</sup>                | 142,0         | 93,9 / 124,9          | 76     | (19, 19)            | (12, 12)             |
| Metazaclor           | 2,89-3,04           | [M + H] <sup>+</sup>                | 278,1         | 134,1 / 210,1         | 51     | (29, 15)            | (12, 18)             |
| Meticonazol          | 6,39-6,72           | [M + H] <sup>+</sup>                | 320,1         | 70,1 / 125,1          | 96     | (59, 57)            | (6, 12)              |
| Metidationa          | 3,15-3,32           | [M + H] <sup>+</sup>                | 303,0         | 145,0 / 85,1          | 86     | (13, 29)            | (14, 8)              |
| Metiocarbe           | 3,90-4,10           | [M + H] <sup>+</sup>                | 226,1         | 169,1 / 121,1         | 76     | (13, 25)            | (14, 10)             |
| Metiocarbe sulfóxido | 0,68-0,72           | [M + H] <sup>+</sup>                | 242,1         | 185,1 / 122,1         | 81     | (19, 39)            | (16, 12)             |
| Metissulfurom metil  | 0,57-0,60           | [M + H] <sup>+</sup>                | 383,0         | 167,1 / 168,1         | 51     | (23, 21)            | (16, 16)             |
| Metomil              | 0,55-0,58           | [M + H] <sup>+</sup>                | 163,1         | 88,1 / 106,1          | 55     | (13, 13)            | (3, 3)               |



| Composto              | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor | Íons produtos       | DP (V)  | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|-----------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|---------------------|---------|---------------------|----------------------|
| Metoxifenoazida       | 4,90-5,04           | [M + H] <sup>+</sup>                | 369,1         | 149 / 313,1         | 71      | (23,11)             | (14,28)              |
| Mevinfós              | 0,83-0,89           | [M + H] <sup>+</sup>                | 225,1         | 127,1 / 193,0       | 66      | (21, 11)            | (12, 16)             |
| Miclobutanil          | 4,64-4,88           | [M + H] <sup>+</sup>                | 289,1         | 70,1 / 125,1        | 91      | (33, 39)            | (10, 10)             |
| Monocrotofós          | 0,54-0,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 224,1         | 127,0 / 98,0        | 71      | (23, 17)            | (12, 12)             |
| Monolinuron           | 2,16-2,28           | [M + H] <sup>+</sup>                | 215,1         | 125,9 / 148,0       | 91      | (27, 19)            | (12, 12)             |
| Nuarimol              | 3,90-4,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 314,9         | 252,0 / 81,1        | 81      | (31, 51)            | (22, 8)              |
| Ometoato              | 0,44-0,47           | [M + H] <sup>+</sup>                | 214,1         | 183,0 / 125,0       | 56      | (15, 29)            | (16, 12)             |
| Oxadixil              | 1,17-1,23           | [M + H] <sup>+</sup>                | 279,1         | 219,0 / 132,1       | 66      | (15, 41)            | (20, 12)             |
| Oxamil                | 0,50-0,53           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 237,1         | 72,1 / 90,0         | 51      | (25, 11)            | (8, 10)              |
| Oxassulfurom          | 0,70-0,74           | [M + H] <sup>+</sup>                | 407,1         | 150,1 / 107,1       | 111     | (25, 63)            | (14, 10)             |
| Oxifluorfem           | 7,64-8,04           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 378,9         | 315,9 / 237,1       | 36      | (25, 39)            | (28, 22)             |
| Paclobutazol          | 4,48-4,72           | [M + H] <sup>+</sup>                | 294,0         | 70,1 / 125,0 / 70,0 | 81 / 51 | (55, 55, 57)        | (6, 12, 6)           |
| Paraoxom etil         | 2,75-3,00           | [M + H] <sup>+</sup>                | 276,0         | 220 / 174           | 81      | (21,33)             | (20,16)              |
| Parationa etílica     | 5,66-5,95           | [M + H] <sup>+</sup>                | 292,0         | 235,9 / 97,0        | 66      | (21, 37)            | (22, 10)             |
| Pencicuron            | 6,72-7,07           | [M + H] <sup>+</sup>                | 329,0         | 125,0 / 218,0       | 91      | (31, 23)            | (12, 20)             |
| Penconazol            | 5,90-6,21           | [M + H] <sup>+</sup>                | 284,2         | 70,1 / 159,0        | 46      | (21, 41)            | (8, 14)              |
| Pendimetalina         | 8,15-8,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 282,2         | 212,1 / 91,0        | 36      | (15, 33)            | (20, 8)              |
| Picolinafem           | 7,71-8,10           | [M + H] <sup>+</sup>                | 377,2         | 238,3 / 145,0       | 91      | (35, 69)            | (14, 14)             |
| Pimetrozina           | 0,44-0,47           | [M + H] <sup>+</sup>                | 218,0         | 105,0 / 79,0        | 16      | (25, 47)            | (12, 12)             |
| Pinoxaden             | 6,86-6,98           | [M + H] <sup>+</sup>                | 401,2         | 317,0 / 57,1        | 76      | (29,59)             | (28,8)               |
| Piraclofós            | 6,84-6,94           | [M + H] <sup>+</sup>                | 361,0         | 256,9 / 111,0 / 138 | 111     | (31,81,55)          | (24,10,12)           |
| Piraclostrobina       | 6,46-6,80           | [M + H] <sup>+</sup>                | 388,0         | 194,1 / 163,1       | 51      | (17, 33)            | (18, 14)             |
| Pirazoassulfuron etil | 1,20-1,55           | [M + H] <sup>+</sup>                | 415,1         | 182,0 / 139,0       | 86      | (25,59)             | (14,12)              |
| Pirazofós             | 6,51-6,85           | [M + H] <sup>+</sup>                | 374,1         | 222,1 / 194,1       | 86 / 91 | (29, 43)            | (20, 20)             |
| Piridabem             | 9,43-9,95           | [M + H] <sup>+</sup>                | 365,1         | 309,1 / 147,2       | 41 / 21 | (17, 31)            | (30, 30)             |
| Pirifenox             | 7,99-8,40           | [M + H] <sup>+</sup>                | 294,9 / 297,0 | 93,1 / 92,1 / 93,1  | 86 / 66 | (27, 83) / 27       | (8, 8) / 8           |
| Pirifalide            | 3,81-3,97           | [M + H] <sup>+</sup>                | 319,0         | 139 / 220,1         | 96      | (37,33)             | (12,20)              |
| Pirimetamina          | 2,03-2,30           | [M + H] <sup>+</sup>                | 249,1         | 176,9 / 198,0       | 121     | (39,53)             | (14,16)              |
| Pirimetamil           | 4,00-4,21           | [M + H] <sup>+</sup>                | 200,2         | 107,1 / 80,0        | 41      | (33, 39)            | (10, 8)              |
| Pirimicarbe           | 2,71-2,84           | [M + H] <sup>+</sup>                | 239,2         | 72,1 / 182,2        | 73      | (34, 21)            | (3, 2)               |
| Pirimifós etil        | 7,85-8,26           | [M + H] <sup>+</sup>                | 334,2         | 198,0 / 182,1       | 61      | (32, 31)            | (18, 18)             |

| Composto               | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador       | Íon precursor | Íons produtos  | DP (V)   | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|------------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------|----------------|----------|---------------------|----------------------|
| Pirimifós metil        | 6,63-6,97           | [M + H] <sup>+</sup>                | 306,1         | 164,1 / 108,1  | 51       | (29, 39)            | (14, 10)             |
| Piriproxifem           | 7,99-8,40           | [M + H] <sup>+</sup>                | 322,0         | 96,0 / 78,1    | 71       | (21, 75)            | (10, 6)              |
| Piroquilon             | 1,60-1,85           | [M + H] <sup>+</sup>                | 174,1         | 132,0 / 117    | 91       | (33,41)             | (12,12)              |
| Procloraz              | 6,51-6,85           | [M + H] <sup>+</sup>                | 376,0         | 308,0 / 265,9  | 61       | (17, 25)            | (28, 28)             |
| Profam                 | 2,61-2,74           | [M + H] <sup>+</sup>                | 180,1         | 138,1 / 120,1  | 61       | (13, 25)            | (14, 14)             |
| Profenofós             | 7,42-7,81           | [M + H] <sup>+</sup>                | 372,9         | 302,9 / 97,0   | 126      | (25, 35)            | (28, 28)             |
| Promecarbe             | 4,55-4,75           | [M + H] <sup>+</sup>                | 208,1         | 109,1 / 151,1  | 56       | (23,13)             | (10,14)              |
| Propaquizafope         | 8,07-8,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 444,1 / 446,2 | 370,9 / 100,0  | 111 / 86 | (21,23)             | (34,10)              |
| Propargito             | 8,56-9,00           | [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | 368,1         | 231,1 / 175,1  | 41       | (15, 23)            | (20, 16)             |
| Propiconazol           | 6,24-6,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 342,1         | 159,1 / 89,1   | 76       | (37, 99)            | (14, 8)              |
| Propizamida            | 4,36-4,59           | [M + H] <sup>+</sup>                | 256,1         | 190,0 / 173,0  | 61       | (19, 31)            | (16, 16)             |
| Propoxur               | 1,68-1,77           | [M + H] <sup>+</sup>                | 210,1         | 111,0 / 168,1  | 61       | (19, 11)            | (3, 3)               |
| Prossulfurom           | 1,77-1,87           | [M + H] <sup>+</sup>                | 419,9         | 167,1 / 109,1  | 86       | (25, 69)            | (16, 10)             |
| Quinalfós              | 5,73-6,03           | [M + H] <sup>+</sup>                | 299,1         | 163,1 / 147,1  | 61       | (33, 31)            | (14, 14)             |
| Quinoclamina           | 1,40-1,65           | [M + H] <sup>+</sup>                | 208,1         | 105,0 / 89,0   | 106      | (33,51)             | (10,8)               |
| Quizalofope – p - etil | 7,77-7,88           | [M + H] <sup>+</sup>                | 373,0         | 299,0 / 271,0  | 151      | (27,35)             | (26,22)              |
| Rinsulfurona           | 0,60-0,80           | [M + H] <sup>+</sup>                | 432,1         | 182,0 / 325,0  | 81       | (31,21)             | (16,30)              |
| Sulfossulfuron         | 0,80-0,84           | [M + H] <sup>+</sup>                | 470,9         | 210,9/260,9    | 81       | (19, 25)            | (18, 22)             |
| Sulfotepe              | 6,22-6,34           | [M + H] <sup>+</sup>                | 323,0         | 96,9 / 171,0   | 91       | (57,21)             | (10,16)              |
| Tebuconazol            | 5,98-6,29           | [M + H] <sup>+</sup>                | 308,1         | 70,1 / 125,1   | 71       | (57, 53)            | (8, 12)              |
| Tebufempirade          | 7,80-8,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 334,1         | 145,1 / 117,1  | 111      | (39, 67)            | (4, 6)               |
| Tebufenozida           | 5,73-6,03           | [M + H] <sup>+</sup>                | 353,1         | 133,1 / 297,1  | 56       | (25, 11)            | (12, 28)             |
| Temefós                | 8,10-8,20           | [M + H] <sup>+</sup>                | 466,9         | 418,9 / 125,0  | 86       | (25,41)             | (34,12)              |
| Terbufós               | 7,91-8,05           | [M + H] <sup>+</sup>                | 289,0         | 57,1 / 103,1   | 71       | (31,13)             | (8,10)               |
| Tetraconazol           | 5,45-5,60           | [M + H] <sup>+</sup>                | 372,0 / 374,0 | 159,0 / 161,0  | 101 / 81 | (39,39)             | (14,14)              |
| Tiacloprido            | 0,80-0,85           | [M + H] <sup>+</sup>                | 253,3         | 126,0 / 186, 0 | 101      | (29, 21)            | (12, 12)             |
| Tiametoxam             | 0,54-0,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 292,1         | 211,1 / 181,1  | 76       | (17,31)             | (20, 16)             |
| Tifensulfurom metil    | 0,54-0,57           | [M + H] <sup>+</sup>                | 388,0         | 167,1 / 205,0  | 51       | (21, 37)            | (14, 18)             |
| Tiobencarbe            | 6,96-7,08           | [M + H] <sup>+</sup>                | 258,0 / 260,1 | 125,0 / 127,0  | 56       | (23,25)             | (12,14)              |
| Tiofanato metílico     | 0,47-0,50           | [M + H] <sup>+</sup>                | 342,9         | 151,1 / 93,1   | 86       | (29, 69)            | (14, 8)              |

| Composto         | TR (min) aproximado | Natureza do íon quantificador | Íon precursor | Íons produtos | DP (V)  | CE (MRM1, MRM2) (V) | CXP (MRM1, MRM2) (V) |
|------------------|---------------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------|---------------------|----------------------|
| Triadimefon      | 4,67-4,91           | [M + H] <sup>+</sup>          | 294,0         | 197,0 / 225,0 | 66      | (21, 17)            | (18, 20)             |
| Triadimenol      | 4,84-5,09           | [M + H] <sup>+</sup>          | 296,1 / 298,0 | 70,1 / 70,0   | 46      | (31, 33)            | (8, 8)               |
| Triassulfurom    | 0,80-0,85           | [M + H] <sup>+</sup>          | 402,0         | 167,1 / 141,1 | 76      | (23, 27)            | (14, 12)             |
| Triazofós        | 4,80-5,05           | [M + H] <sup>+</sup>          | 314,1         | 97,0 / 65,1   | 81      | (45, 85)            | (10, 10)             |
| Triciclazol      | 1,00-1,25           | [M + H] <sup>+</sup>          | 190,1         | 163,0 / 136,0 | 61      | (31,39)             | (14,12)              |
| Triclorfon       | 0,79-0,84           | [M + H] <sup>+</sup>          | 257,0         | 109,0 / 221,0 | 101     | (23, 15)            | (10, 20)             |
| Trifloxistrobina | 7,20-7,57           | [M + H] <sup>+</sup>          | 409,1         | 186,1 / 145,1 | 66      | (23, 63)            | (16, 14)             |
| Triflumizol      | 7,12-7,48           | [M + H] <sup>+</sup>          | 346,0         | 278,0 / 73,1  | 51      | (15, 21)            | (26, 8)              |
| Triforin         | 3,51-3,69           | [M + H] <sup>+</sup>          | 434,9         | 389,8 / 215,1 | 56      | (17, 37)            | (36, 20)             |
| Triticonazol     | 5,45-5,60           | [M + H] <sup>+</sup>          | 318,1 / 320,1 | 70,0 / 69,9   | 61 / 71 | (43,43)             | (12,12)              |