

INVESTIGAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM MÚSCULO DE ANIMAIS SILVESTRES USANDO MICRO-QUECHERS E LC-MS

Endi Adriano Fures¹

Tainara Goettems²

Miqueias De Castro Da Silva³

Janaina Sarzi⁴

David Reynalte-Tataje⁵

Liziara Da Costa Cabrera⁶

Palabras clave: Pesticidas; Poluentes traço; Contaminação; Cromatografia líquida; Espectrometria de massas.

INTRODUCCIÓN

O monitoramento de resíduos de agrotóxicos em diferentes matrizes ambientais e biológicas é fundamental para compreender os riscos associados à exposição desses compostos e seus potenciais impactos à saúde e ao meio ambiente. Animais silvestres podem atuar como importantes bioindicadores de contaminação. Nesse contexto, métodos analíticos sensíveis e seletivos são essenciais para a detecção confiável de agrotóxicos em níveis traço (Rial-Berriel et al., 2020). O método QuEChERS tem se destacado como técnica versátil de preparo de amostras e aplicabilidade em análises multirresíduos. Entretanto, ajustes e modificações no protocolo original são frequentemente necessários para adaptar o método às diferentes matrizes, de modo a melhorar a eficiência da extração e minimizar a presença de interferentes (Santana-Mayor et al., 2023).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo otimizar um método QuEChERS miniaturizado modificado, aliado à detecção por LC-MS, para a análise multirresíduo de agrotóxicos em músculo de animais silvestres, utilizando como modelo

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul, endiadrianofures@gmail.com

² Universidade Federal da Fronteira Sul, taigoetems44@gmail.com

³ Universidade Federal da Fronteira Sul, miqueias.castro18@outlook.com

⁴ Universidade Federal da Fronteira Sul, janassarzi@gmail.com

⁵ Universidade Federal da Fronteira Sul, reynalted@hotmail.com

⁶ Universidade Federal da Fronteira Sul, liziara.cabrera@uffs.edu.br

a espécie *Leopardus wiedii*. A pesquisa buscou avaliar diferentes condições de sais, sorventes e temperatura de centrifugação, de modo a estabelecer um protocolo robusto para futuras aplicações em biomonitoramento.

DESARROLLO

O procedimento experimental envolveu a otimização do método QuEChERS miniaturizado modificado e a aplicação do método multirresíduo por HPLC-MS para analisar agrotóxicos em músculo de animais silvestres. Essa pesquisa foi conduzida no Laboratório de Química Instrumental do *Campus* Cerro Largo da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Utilizou-se o Cromatógrafo Líquido Shimadzu LC-MS 2020, que possui uma fonte de Ionização por Electrosprav (ESI), um analisador de massa do tipo simples quadrupolo e um sistema de aquisição de dados LabSolutions®. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna analítica Infinity Lab Poroshell 120 EC-C₁₈ 3 mm x 50 mm, 2.7 µm (Agilent®).

No estudo, utilizou-se músculo da espécie *Leopardus wiedii* para as amostras “branco” e fortificadas para realizar testes de otimização da metodologia estudada. Inicialmente foi avaliado em teste os melhores sorventes ou combinação destes para etapa de limpeza (clean-up) do método proposto. Tendo como tratamentos: T1- 0,150 g de MgSO₄ + 0,2 g de C₁₈; T2- 0,150 g de MgSO₄ + 0,2 g de C₁₈ + 0,005 g de carvão ativado; T3- 0,150 g de MgSO₄ + 0,1 g de C₁₈ + 0,1 g de Florisil; T4- 0,150 g de MgSO₄ + 0,2 g de Florisil; T5- 0,150 g de MgSO₄ + 0,2 g de Florisil + 0,005 g de carvão ativado; sendo: C₁₈: octadecilsilano, e PSA: amina primária e secundária. Os tratamentos foram avaliados com as condições do QuEChERS Acetato, pois este garante uma menor extração de co-extratos quando comparado com o QuEChERS-Original. Para o teste e suas quantidades de sais respectivamente conforme determinam os métodos: 0.6 g MgSO₄ + 0.1 g NaCl para Original e 0.4 g MgSO₄ + 0.35 g CH₃COONa. Em um terceiro experimento buscamos avaliar o efeito da temperatura de centrifugação, tanto na etapa de partição (5 minutos) quanto na etapa de clean-up (2 minutos), testando as seguintes temperaturas: -9, -4, 0 e 5 °C. Em um quarto teste, foi desenvolvido um modelo de planejamento experimental para otimizar as massas dos reagentes utilizados na fase de partição e clean-up e a temperatura de centrifugação a ser utilizada na validação do método micro-QuEChERS Acetato. Para tanto, foi realizado um

planejamento experimental composto com ponto central utilizando o software STATISTICA e os fatores estudados foram: temperatura (variou de -8,4 a 8,4 °C), CH₃COONa (variou de 0,805003 a 1,174997) e C₁₈ (variou de 0,032955 a 0,117045). Os valores de MgSO₄ foram fixados em 0,6 g (partição) e 0,03 g (clean-up). A variável resposta considerada foi a recuperação média (considerando a área do pico cromatográfico) dos analitos estudados.

RESULTADOS, AVANCES Y REFLEXIONES

Em relação a otimização da fase de limpeza, o tratamento 1 obteve melhores resultados em termos de maior número de analitos com recuperação adequada (70-120%) e DPR ≤ 20%, com 17 compostos na faixa de recuperação. Isso resultou em uma recuperação média de 102,75%, dos 17 compostos com DPR médio de ± 13%. Para testes posteriores o tratamento 1 foi escolhido por ser o método mais rápido, barato e eficaz para a condução da pesquisa.

Quando comparada a metodologia tamponada com a não, o QuEChERS Acetato foi o tratamento que apresentou as maiores recuperações de analitos com um total de 19, na faixa de 70-120% e DPR ≤ 20%. Os sais MgSO₄ e CH₃COONa com acetonitrila acidificada (ácido acético a 1% v/v) foram utilizados para extração e partição.

Tanto para a maior temperatura (5 °C) quanto para a menor (-9 °C) testadas, 17 compostos foram obtidos na faixa aceitável. Já para as temperaturas intermediárias (-4 e 0 °C), os resultados foram menos eficientes, com 14 compostos recuperados na faixa (70-120%) e DPR ≤ 20%. Como não foi possível definir a melhor temperatura neste teste, foi utilizado um planejamento experimental para otimizar o parâmetro temperatura.

Os resultados gerais do delineamento experimental composto com ponto central mostraram que a variável CH₃COONa + MgSO₄ teve efeito significativo na recuperação dos compostos ($p = 0,0379$), com valores variando entre 70% e 120%, e que sua interação com a Temperatura também foi relevante ($p = 0,0207$), evidenciando a importância do controle térmico. Já a variável C₁₈ + MgSO₄ e suas interações não apresentaram impacto significativo. Diante disso, a configuração com 0,99 CH₃COONa + MgSO₄; 0,075 C₁₈ + MgSO₄ e 8,4°C, foi selecionada como a condição ótima para a validação do método, por ter proporcionado o maior número de compostos com recuperação adequada, demonstrando maior robustez e precisão frente às demais

condições testadas. Metodologias semelhantes foram propostas nos trabalhos de Rial-Berriel et al. (2020) e Shanzer et al. (2021), porém a que apresentamos foi considerada ligeiramente mais simplificada. O próximo passo é a validação da metodologia considerando as figuras de mérito pertinentes e seus padrões de acordo com as diretrizes nacionais e internacionais de qualidade analítica, como por exemplo as dispostas no documento DOQ-CGCRE-008 – Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos (INMETRO, 2020).

CONSIDERACIONES FINALES Y PROYECCIONES

O estudo permitiu estabelecer uma condição otimizada para o método micro-QuEChERS Acetato, adequada para a análise multirresíduo de agrotóxicos em músculo de animais silvestres. A combinação de 0,99 g de $\text{CH}_3\text{COONa} + \text{MgSO}_4$; 0,075 g de $\text{C}_{18} + \text{MgSO}_4$ e centrifugação a 8,4 °C apresentou o melhor desempenho, garantindo maior número de compostos com recuperação dentro da faixa considerada aceitável (70–120%) e precisão adequada ($\text{DPR} \leq 20\%$).

Os resultados evidenciam que a escolha apropriada dos sais e o controle da temperatura de centrifugação são fatores determinantes para a eficiência do método. Assim, o método desenvolvido mostrou-se robusto, eficiente e aplicável para análises de rotina em laboratórios ambientais e toxicológicos, representando uma contribuição relevante para o monitoramento de contaminantes em animais silvestres e, consequentemente, para a avaliação da qualidade ambiental.

Financiamento (Se for o caso) / Financiación: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

REFERENCIAS

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Revisão 09. Rio de Janeiro: Inmetro, 2020.

Rial-Berriel, C., Acosta-Dacal, A., Zumbado, M., & Luzardo, O. P. (2020). Micro QuEChERS-based method for the simultaneous biomonitoring in whole blood of 360 toxicologically relevant pollutants for wildlife. *Science of the Total Environment*, 736, 139444.

Santana-Mayor, A., Rodríguez-Ramos, R., Herrera-Herrera, A. V., Socas-Rodríguez, B., & Rodríguez-Delgado, M. A. (2023). Updated overview of QuEChERS applications in food, environmental and biological analysis (2020–2023). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 169, 117375.

Schanzer, S., Kröner, E., Wibbelt, G., Koch, M., Kiefer, A., Bracher, F., & Müller, C. (2021). Miniaturized multiresidue method for the analysis of pesticides and persistent organic pollutants in non-target wildlife animal liver tissues using GC-MS/MS. *Chemosphere*, 279, 130434.