

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO micro-QuEChERS PARA
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE AGROTÓXICOS EM FÍGADO BOVINO
USANDO UPLC-MS/MS***

**MARLON ROHR PIRES^{1,2}, MIQUEIAS DE CASTRO DA SILVA³, ENDI ADRIANO
FURES^{2,4}, LAURA TRENTIN PEREIRA⁵, TAINARA LENZ GOETTEMES⁶, JANAÍNA
ALANA DA SILVA DALLABRIDA⁷, LIZIARA DA COSTA CABRERA^{2,8}**

1 Introdução

O uso de agrotóxicos nas regiões agrícolas do Brasil e do mundo tem gerado grandes impactos ambientais. Nos últimos dez anos o Brasil se tornou o maior consumidor dessas substâncias no mundo, esse mercado teve uma expansão de 190%, assumindo o primeiro lugar em consumo mundial desde 2008 (Lopes, 2018).

O fígado é um órgão de suma importância para a análise e estudos de biomonitoramento de substâncias, em diversos trabalhos já se pode observar a bioacumulação de compostos orgânicos nesse tecido (Souza Caldas et al., 2013).

A idealização de métodos analíticos sensíveis e mais seletivos para a detecção simultânea de múltiplos agrotóxicos em tecidos biológicos, como no trabalho de Wang et al. (2017) têm se mostrado eficientes para detecção desses compostos. Porém, a análise de agrotóxicos em tecidos como o fígado se demonstra ainda um desafio analítico relevante uma vez que esse tecido concentra uma gama diversificada de interferentes que requerem técnicas de preparo de amostras, separação e detecção robustas e sensíveis. Nesse contexto, propõe-se no presente trabalho o desenvolvimento de um método para a análise de agrotóxicos em fígado

1 Graduando de Licenciatura em Química, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo-RS, marlon.pires@estudante.uffs.edu.br

2 Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos – NUSAACOI – UFFS.

3 Graduando de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo

4 Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental – PPGECA – UFSM.

4 Graduado em Licenciatura em Química, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo.

5 Graduando de Licenciatura em Química, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo-RS

6 Licenciada pelo Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo-RS

7 Graduanda em Engenharia Química. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, UNIJUI, campus Ijuí-RS.

8 Doutora em Química, docente na Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Cerro Largo, **Orientadora.**

* Desenvolvimento de um método micro-QuEChERS-DLLME para determinação simultânea de agrotóxicos em fígado usando LC-MS e LC-MS/MS.

bovino por meio da otimização da técnica miniaturizada QuEChERS por cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS).

2 Objetivos

Esse trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento de um método baseado em micro-QuEChERS para determinação de agrotóxicos em fígado bovino, por cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas sequencial (UPLC-MS/MS).

3 Metodologia

Foi adotado o preparo de amostras através da metodologia QuEChERS, técnica desenvolvida por Anastassiades e colaboradores (2003). Utilizou-se a metodologia micro-QuEChERS modificado, otimizada e validada por Goettems (2023). Utilizou-se para a determinação dos analitos o equipamento de Cromatografia Líquida de Ultra Performance acoplado a Espectrometria de Massas (UPLC-MS/MS) de modelo Xevo TQ-S Micro Waters®. Essa pesquisa foi conduzida na Central Analítica do *Campus* Cerro Largo da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS).

Utilizou-se como modelo o fígado bovino. Inicialmente o fígado foi triturado, para maior homogeneidade da amostra, e então pesado 1 g para o preparo. As amostras foram fortificadas em 5 níveis em triplicata, e, ainda analisou-se amostras controle (branco), totalizando assim 18 amostras. Para fortificação foi preparada uma solução padrão de concentração de 1 mg L⁻¹ contendo 34 compostos conhecidos, após, seguiu-se com o preparo detalhado por Goettems (2023), e a análise por UPLC-MS/MS.

Para otimização da etapa de limpeza por extração em fase sólida dispersiva foram utilizadas diferentes sorventes como C₁₈, PSA e florisil com e sem *overnight* a baixa temperatura. Totalizando 8 (oito) testes.

A validação do método seguiu as diretrizes do INMETRO (2020). A seletividade foi confirmada pela ausência de interferentes nos tempos de retenção, verificada em brancos analisados em triplicata. A linearidade foi avaliada por curvas em acetonitrila e curvas de trabalho, construídas em cinco níveis (0,5; 1,25; 2,5; 5 e 10 µg kg⁻¹), com coeficientes de correlação superiores a 0,99, conforme exigido pela RDC nº 166/2017 da ANVISA. A exatidão e a precisão foram avaliadas pelos critérios de recuperação (40 a 120%) e desvio padrão relativo

(RSD/CV) igual ou menor que 20%. O LOQ de cada composto correspondeu ao menor ponto da curva que atendeu simultaneamente a esses critérios, sendo o LOD obtido pela divisão do LOQ por 3,33. Também foi avaliado o efeito matriz, para verificar a supressão ou o enriquecimento do sinal causado pela matriz, considerando desprezíveis variações de até 20% e recomendando correção por curva de calibração em extrato branco diluído para efeitos moderados (20 a 50%) ou fortes (> 50%) (Ferrer et al., 2011; Raposo; Barceló, 2021).

4 Resultados e Discussão

Em relação a otimização da etapa de limpeza no micro-QuEChERS foi escolhido o teste 1 (1g de amostra, 1 mL acetonitrila sem acidificação, cloreto de sódio e sulfato de magnésio na partição e *clean up* com 50 mg C₁₈ mais 50 mg de PSA e 50 mg de sulfato de magnésio sem *overnight*), devido aos maiores números de compostos com a recuperação entre 70-120%.

O método foi validado nas faixas de recuperação de 40–120% e $RSD \leq 20\%$, garantindo a exatidão e a precisão do método para os 26 de 34 agrotóxicos contemplados nessas faixas. Os valores de r^2 acima de 0,99 indicam a linearidade do método, sendo que 32 dos 34 compostos apresentaram valores superiores a esse limite tanto na curva de trabalho quanto na curva em solvente; apenas a atrazina-desetil e o metomil obtiveram 0,97 e 0,98, respectivamente. A seletividade foi assegurada, pois não foram observados interferentes nos tempos de retenção dos compostos, conforme determinado pela triplicata das amostras branco. A avaliação da precisão apresentou valores dentro do aceitável para a maioria dos compostos; os compostos diuron, malationa, profenofós, fluazifope-P-butílico, 2,4-D, carbendazim, iprodiona e imazapique não foram contemplados no método por não alcançarem os valores mínimos aceitáveis resultando em 26 agrotóxicos efetivamente validados.

O LOQ variou de 0,5 a 1,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$, sendo que 1,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ representou 82% dos compostos, enquanto os demais 18% apresentaram valores inferiores nesse intervalo; o LOD, por sua vez, variou de 0,15 a 0,37 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Esses valores de LOQ são muito próximos aos obtidos por Saint-Hilaire et al. (2018), que também desenvolveram método em fígado bovino, porém contemplando apenas dois pesticidas. A ANVISA, por meio da Instrução Normativa nº 162/2022 (Brasil, 2022), definiu parâmetros toxicológicos e regulatórios, como a ingestão diária aceitável, a dose de referência aguda e os limites máximos de resíduos (LMR) para princípios ativos de medicamentos veterinários presentes em alimentos de origem animal; de

forma semelhante, a União Europeia (Comissão Europeia, 2024) também estabelece esses parâmetros, ambas fixando em $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ o limite para alimentos sem LMR definido.

Na avaliação do efeito matriz dos 34 compostos, 33 apresentaram efeito menor que 20%, sendo, portanto, desprezíveis para o método validado, apenas a bentazona obteve efeito moderado (45%), neste caso de enriquecimento. De modo geral, a predominância de 97% de efeitos de matriz desconsiderados confirma a excelente eficiência do preparo de amostra e do processo de clean-up adotados, o que garante uma elevada seletividade ao método face à complexidade dos interferentes do tecido hepático.

5 Conclusão

Conclui-se que a metodologia micro-QuEChERS proposta para a determinação de agrotóxicos em fígado bovino por UPLC-MS/MS se mostrou eficaz, condizente com os parâmetros exigidos, e sensível, demonstrando potencial promissor para futuras análises de fiscalização e monitoramento de contaminantes. Para além, por ser miniaturizado o método desenvolvido utiliza menos solventes e demais reagentes, se comparados à técnica convencional, isso garante uma economia de custos e resíduos, e menos quantidade de amostra. Para trabalhos futuros, sugere-se a aplicação da metodologia em amostras reais de fígado bovino e avaliação da contaminação desses animais.

Referências Bibliográficas

ANASTASSIADES, M. et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Instrução Normativa-IN nº. 162, 1º de julho de 2022. Estabelece a ingestão diária aceitável (IDA), a dose de referência aguda (DRfA) e dá outras providências.** Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/instrucao-normativa-anvisa-2022_162.pdf. Acesso em: 16/08/26.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017(Publicada no DOU no.141, de 25 de julho de 2017). **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.** 2017. Disponível em: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412. Acesso em: 07/08/2026.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. de. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 117, p. 518-534, abr./jun. 2018.

FERRER, Carmen et al. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 42, p. 7634–7639, out. 2011.

GOETTEMS, T. L. **Otimização e validação de um método analítico para detecção de agrotóxicos em matriz tecidual de mamíferos silvestres**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo, Cerro Largo, 2023.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. 2020. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_08.pdf. Acesso em: 09/08/2023.

PRESTES, O. D. et al. QuEChERS: um método moderno de preparação de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química nova**, v. 6, pág. 1620–1634, 2009.

RAPOSO, Francisco; BARCELÓ, Damià. Challenges and strategies of matrix effects using chromatography-mass spectrometry: An overview from research versus regulatory viewpoints. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 134, p. 116068, jan. 2021.

SOUZA CALDAS, S. et al. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC-MS. **Talanta**, [s. l.], v. 112, p. 63–68, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.03.054>.

UNIÃO EUROPEIA. **Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de fevereiro de 2005, relativo aos limites máximos de resíduos de pesticidas nos géneros alimentícios e nas rações de origem vegetal e animal e que altera a Diretiva 91/414/CEE do Conselho**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32005R0396>. Acesso em: 26/08/26.

Palavras-chave: Pesticidas; Monitoramento; Amostras biológicas; Cromatografia líquida.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0338

Financiamento