

## OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM SOJA NO MUNICÍPIO DE CERRO LARGO (RS) E REGIÃO

LAILA S. C. BARCELOS<sup>1</sup>, GABRIELE S. LEITE<sup>2</sup>, ENDI A. FURES<sup>3</sup>, RAFAELA R. MORELATO<sup>4</sup>, JONAS S. DUGATTO<sup>5</sup>, LIZIARA C. CABRERA<sup>6</sup>.

### 1 Introdução

O estudo do monitoramento de agrotóxicos em matrizes alimentícias têm se tornado uma preocupação emergente nos grupos de pesquisas da área da toxicologia, visando a segurança alimentar. A utilização de agrotóxicos em alimentos tornou-se necessária e intensificada desde a Revolução Verde em 1960, e no Brasil após a década de 70, apesar de ser uma prática vantajosa e necessária para o combate de pragas agrícolas em vários estágios de cultivo. O uso indiscriminado ocasiona a contaminação de compartimentos ambientais e alimentos podendo causar danos à saúde humana (ANVISA, 2021)

Segundo Hirakuri e Lazzaroto (2014), a soja é o quarto grão mais consumido e produzido globalmente, atrás de milho, trigo e arroz. O principal estado produtor nacional de soja é o Mato Grosso e, o Rio Grande do Sul, possui a terceira maior área de produção de soja do Brasil. Além disso, esses estados de acordo com o boletim anual sobre comercialização de agrotóxicos para o ano de 2020 (IBAMA, 2021), são respectivamente, o primeiro e o quarto maior estado consumidor de agrotóxicos.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) mantém o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), este que monitora os alimentos consumidos pelas famílias brasileiras, medindo o limite máximo residual (LMR) presente no

1 Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, Ciências exatas e da Terra, contato: [laila.barcelos@estudante.uffs.edu.br](mailto:laila.barcelos@estudante.uffs.edu.br).

2 Acadêmica do Curso de Química Licenciatura, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

3 Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

4 Acadêmica do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

5 Técnico de Laboratório, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

6 Doutora em Química Analítica, Professora na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, orientadora. Contato [liziara.cabrera@uffs.edu.br](mailto:liziara.cabrera@uffs.edu.br).

produto analisado. Entretanto, como a soja não é considerada agradável ao paladar quando está in natura, não há fiscalização e medidas de controle acerca da presença de agrotóxicos no grão da soja e nem em seus subprodutos (Gaboardi, 2022; May, 2016).

Gaboardi (2022), a partir de uma análise dos relatórios do PARA entre os anos de 2001 à 2018, relatou que, em média 63% das amostras de alimentos analisadas contêm algum resíduo de agrotóxicos, isso aponta que alimentos consumidos no Brasil possuem traços de ingredientes ativos de agrotóxicos.

Em estudos de Galani *et al.* (2020), foram monitorados 81 resíduos de compostos orgânicos em amostras de produtos agrícolas utilizando como método multirresíduo de preparo de amostras, e como técnica de determinação a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS). Para os autores, a principal finalidade da pesquisa é a avaliação da exposição humana, através da produção e consumo de alimentos. Trabalhos dessa natureza são essenciais para a segurança alimentar.

## 2 Objetivos

Otimizar e validar uma metodologia, utilizando QuEChERS e LC-MS para determinação de agrotóxicos em soja.

## 3 Metodologia

### 3.1 Preparo das amostras

Inicialmente preparou-se o padrão de cada agrotóxico na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>. Logo a seguir foi preparada uma mistura de 21 compostos agrotóxicos diluídos em metanol (CH<sub>3</sub>OH) com concentrações de 5 e 10 mg L<sup>-1</sup>. Os compostos presentes na mistura foram: 2,4-D, azoxistrobina, bentazona, ciproconazol, clomazone, clorpirifós, difenoconazol, diuron, epoxiconazol, fipronil, flutriafol, imazapique, imazetapir, imidacloprido, malationa, piraclostrobina, profenofós, propiconazol simazina, tebuconazol, tiametoxam e trifloxistrobina.

A soja utilizada para os testes de validação é proveniente de cultivo orgânico. Foram utilizados os grãos sem tratamento de sementes, no qual passou por secagem na estufa a 110 °C por 30 minutos, então, foi triturado e pesado 5 g em tubos falcon de 50 mL. Para extração

e limpeza do sobrenadante formado nas amostras foram utilizados os sais de sulfato de magnésio  $MgSO$  ( $MgSO_4$ ) e cloreto de sódio ( $NaCl$ ) na extração, e para limpeza  $MgSO$   $MgSO_4$  combinado com outros sorventes sendo C18, Florisil e PSA.

A metodologia adotada foi o método QuEChERS original e acetato por apresentar bons resultados na análise de multirésíduos de agrotóxicos de acordo com Anastassiades. *et al.* (2003). As etapas do método consistem na escolha do solvente adequado, adição de sais e separação de fase com efeito *salting out*, etapa de *clean up* com sorventes.

Inicialmente em todas as amostras foram pesadas nos tubos falcon é acrescentado 10 mL de água ultrapura para formação do *slurry* (pasta), em seguida, amostras foram fortificadas através da adição de 100  $\mu L$  da mistura de padrões de agrotóxicos, enquanto as amostras do branco receberam a mesma quantidade de metanol, posteriormente foram adicionados 10 mL de acetonitrila ( $CH_3CN$ ) em todas as amostras e então feita a agitação manual. Após, foram adicionados os sais de extração (6 g de  $MgSO_4$  e 1 g de  $NaCl$ ), nas amostras. As amostras foram agitadas manualmente, em seguida centrifugadas por 5 minutos a 3000 rpm. Para o método tamponado (acetato), a acetonitrila foi acidificada com ácido acético ( $CH_3COOH$ ) a 1% e foi utilizado 1,5 g de acetato de sódio ( $CH_3COONa$ ). Do sobrenadante formado no tubo falcon de 50 mL, foram retirados 4 mL e transferidos para tubos falcon de 15 mL que contém os sais de limpeza (*clean up*). Os tubos falcon com sais de limpeza mais o sobrenadante foram agitados, e então centrifugados por mais 5 minutos. Após, 2 mL de sobrenadante foi filtrado e encaminhado para injeção no sistema cromatográfico líquido com detector de massa LC-MS. A separação dos compostos se deu em uma coluna de C18 (50 mm x 2,1 mm di. x 3,0  $\mu m$ ). A fase móvel utilizada foi metanol, grau HPLC e água ultrapura, ambos acidificados com ácido fórmico ( $HCOOH$ ), grau HPLC a 0,1% e formiato de amônio ( $NH_4HCO_2$ ) 5 mmol .  $L^{-1}$ . Realizou-se eluição por gradiente com vazão de 0,2  $mL \cdot min^{-1}$ , com um tempo de análise de 13 minutos. A curva de calibração foi construída com 12 pontos, com concentrações entre 0,5 a 1000  $\mu g \cdot L^{-1}$ . As principais condições do sistema de detecção foram: voltagem capilar de 4500 eV; vazão do gás de nebulização ( $N_2$ ): 3  $L \cdot min^{-1}$ ; vazão do gás de secagem ( $N_2$ ): 15  $L \cdot min$   $L \cdot min^{-1}$ ; temperatura de interface: 250  $^{\circ}C$ ; temperatura de dessolvatação: 300  $^{\circ}C$ . O sistema de ionização foi alternado no modo positivo e negativo dependendo do analito.

#### 4 Resultados e Discussão

No primeiro teste realizado com a mistura de 22 compostos foi feito o QuEChERS acetato, baseado no método proposto por Gouvêa (2015) e May (2016) com adaptações. A partir dos resultados da revisão já se tem um panorama do desafio que seria esse objetivo, pois a soja é uma matriz bastante complexa. Os parâmetros avaliados na otimização foram a exatidão (em termos recuperação) e a precisão intermediária (em termos de desvio padrão relativo). Os resultados desse primeiro teste indicaram melhores parâmetros de recuperação para o QuEChERS original, sendo considerados os resultados de 70 a 120% de recuperação.

Em um segundo teste, verificou-se qual sorvente de limpeza obteve melhor recuperação dos compostos agrotóxicos nas amostras fortificadas com a mistura de 21 compostos. Os resultados de recuperação e desvio padrão relativo das amostras indicaram que, nas amostras onde houve maior número de recuperação dos compostos o sorvente utilizado foi o C18 combinado com Florisil.

#### 5 Conclusão

É necessário que haja mais testes, pesquisando quais características da soja influenciam para que haja tamanha dificuldade na obtenção de resultados satisfatórios, também analisando se o preparo de amostras feito até agora é realmente o mais eficiente. A próxima etapa seria a validação total do método, a qual não foi realizada por problemas no equipamento.

#### Referências Bibliográficas

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Contaminantes em alimentos. Disponível em: ><https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/contaminantes><.

ANASTASSIADES *et al.* Método multirésíduo rápido e fácil empregando extração/particionamento de acetonitrila e “extração dispersiva em fase sólida” para a determinação de resíduos de pesticidas em produtos. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003.

GABOARDI, S. C. Resíduos de agrotóxicos em alimentos no Brasil: Considerações acerca do monitoramento do PARA (2001-2018): Pesticides residues in food products in Brazil: Considerations about PARA monitoring (2001-2018). **AMBIENTES: Revista de Geografia e Ecologia Política**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 160–200, 2022. DOI: 10.48075/amb.v4i1.28294.



Disponível em: <https://saber.unioeste.br/index.php/ambientes/article/view/28294>. Acesso em: 27 ago. 2022.

GALANI, Yamdeu Joseph Hubert. *et al.* Monitoramento e avaliação de risco alimentar de 81 resíduos de pesticidas em 11 produtos agrícolas locais das 3 maiores cidades de Camarões. **Food Control**, v. 118, p.107416, dezembro, 2020.

GOUVÊA, Adherlene Vieira *et al.* Avaliação da contaminação de amostras de soja com resíduos de agrotóxicos pelo método QuEChERS acetato com análise por meio de CLAE-EM/EM. **Instituto Adolfo Lutz. São Paulo**, v. 74(3) p. 225-38, 2015.

HIRAKURI, Marcelo Hiroshi; LAZZAROTTO, Joelsio José. O agronegócio da soja nos contextos mundial e brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2014.

IBAMA. **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.** Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. 2021.

MAY, Marília Melina. *et al.* Determinação multirresíduo de agrotóxicos em bebidas à base de soja empregando método QuEChERS e UHPLC-MS/MS. 2016.

PRESTES, Osmar D. *et al.* QuEChERS: um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**. 2009, v. 32, n. 6, pp. 1620-1634. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600046>>.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos; Soja; Cromatografia líquida; Otimização.

**Nº de Registro no sistema Prisma:** PES-2021-0464.

**Financiamento:** UFFS.