

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

RAQUEL JORGETA DE LIMA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A
ANÁLISE DE MULTIRRESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM TOMATE POR LC-MS/MS**

ALFENAS/MG

2025

RAQUEL JORGETA DE LIMA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A
ANÁLISE DE MULTIRRESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM TOMATE POR LC-MS/MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Toxicologia.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isarita Martins
Coorientador: Me. Luiz Filipe Costa

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Lima, Raquel Jorgeta de .

Desenvolvimento de método de preparo de amostras para a análise de multiresíduos de praguicidas em tomate por LC-MS/MS / Raquel Jorgeta de Lima. - Alfenas, MG, 2025.

52 f. : il. -

Orientador(a): Isarita Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. QuECHERS. 2. Praguicidas. 3. Tomate. 4. Preparo de amostra. I.
Martins, Isarita , orient. II. Título.

RAQUEL JORGETA DE LIMA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A
ANÁLISE DE MULTIRRESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM TOMATE POR LC-
MS/MS**

A banca examinadora abaixo-assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de bacharel em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas

Aprovada em: 05 de dezembro de 2025

Prof: Dr^a. Isarita Martins

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Assinatura: _____

Prof: Dr. Luiz Paulo de Aguiar Marciano

Instituição: Fundação de Ensino e Pesquisa de Itajubá (FEPI)

Assinatura: _____



Documento assinado digitalmente
LUIZ PAULO DE AGUIAR MARCIANO
Data: 11/12/2025 15:41:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof: Dr^a. Rafaela Figueiredo Rodrigues

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Assinatura: _____

Aos meus pais, que iluminaram o meu caminho mesmo quando eles próprios caminharam na penumbra. Por terem sido abrigo, impulso e horizonte, deixo registrada a minha mais sincera gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Alfenas e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de aprendizado e desenvolvimento acadêmico. À minha orientadora e ao meu coorientador, Prof.^a Dr.^a Isarita Martins e Me. Luiz Filipe Costa, pela orientação dedicada, paciência e valiosas contribuições durante todas as etapas deste trabalho.

Ao Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos (LATF) e à equipe de pesquisa, pelo suporte técnico e pela colaboração nas análises experimentais. À agência de fomento FAPEMIG, pelo apoio financeiro à realização do meu projeto de Iniciação Científica que culminou neste trabalho.

A meus colegas e amigos, pelo incentivo e companheirismo ao longo dessa jornada. E, por fim, à minha família, pelo amor, compreensão e apoio incondicional em todos os momentos.

RESUMO

O tomate é um alimento amplamente cultivado e consumido no Brasil, principalmente *in natura*, e, frente à baixa resistência do tomate contra pragas e doenças, o cultivo desse fruto demanda um manejo intensivo com a aplicação de praguicidas, o que pode resultar em resíduos dessas substâncias no alimento. Nesse contexto, a análise de resíduos de praguicidas em alimentos é essencial para avaliar a segurança alimentar, atender às exigências regulatórias e, conseqüentemente, contribuir para a saúde e bem-estar da população. O presente trabalho teve como objetivo otimizar, validar e aplicar um método de preparo de amostras baseado na técnica QuEChERS modificada para a determinação de resíduos de praguicidas em tomate por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). A etapa de validação foi conduzida de acordo com diretrizes nacionais, avaliando parâmetros de desempenho analítico como linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão, precisão, robustez e estabilidade. Para a etapa de robustez, foram propostas sete variações no procedimento de preparo, envolvendo alterações na massa de amostra, volumes de solvente, quantidade de sais e condições de centrifugação, a fim de avaliar a confiabilidade do método frente a pequenas modificações experimentais. O método desenvolvido apresentou coeficientes de correlação superiores a 0,99, limite de detecção de 0,03 mg/kg e limite de quantificação de 0,1 mg/kg, compatíveis com valores descritos na literatura, bem como variações nos ensaios de precisão e exatidão menores que 20%, confirmando sua adequação para a análise de resíduos de praguicidas em tomate. Além disso, mostrou-se robusto frente às pequenas variações testadas e estável no período avaliado. A aplicação em amostras comerciais revelou a presença de piraclostrobina em uma das doze amostras analisadas, em concentração entre o limite de detecção e o limite de quantificação, resultado que reforça a importância do monitoramento contínuo da presença de resíduos em alimentos, especialmente em culturas intensivas como o tomateiro. Assim, por tratar-

se de um método simples e acessível, permitirá, em análises futuras, sua aplicação em muitas amostras dentro de um curto espaço de tempo, se mostrando, portanto, com alto potencial de reprodutibilidade.

Palavras-chave: praguicidas; tomate; QuEChERS; preparo de amostra.

ABSTRACT

Tomato is a widely cultivated and consumed food in Brazil, mainly fresh, and, due to the tomato's low resistance to pests and diseases, the cultivation of this fruit demands intensive management with the application of pesticides, which can result in residues of these substances in the food. In this context, the analysis of pesticide residues in food is essential to assess food safety, meet regulatory requirements, and, consequently, contribute to the health and well-being of the population. This study aimed to optimize, validate and apply a sample preparation method based on the modified QuEChERS technique for the determination of pesticide residues in tomatoes by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS). The validation step was conducted according to national guidelines, evaluating analytical performance parameters such as linearity, limits of detection and quantification, accuracy, precision, robustness and stability. For the robustness step, seven variations in the preparation procedure were proposed, involving changes in sample mass, solvent volumes, amount of salts and centrifugation conditions, in order to evaluate the reliability of the method against small experimental modifications. The developed method showed correlation coefficients higher than 0,99, a detection limit of 0,03 mg/kg, and a quantification limit of 0,1 mg/kg, consistent with values reported in the literature, as well as variations in precision and accuracy assays below 20%, confirming its suitability for the analysis of pesticide residues in tomatoes. In addition, it was robust against the small variations tested and stable in the period evaluated. The application in commercial samples revealed the presence of pyraclostrobin in only one of the twelve samples analyzed, in concentration between the limit of detection and the limit of quantification, a result that reinforces the importance of continuous monitoring of the presence of residues in food, especially in intensive cultures such as tomato. Thus, because it is a simple and accessible method, it will allow, in future analyses, its application in many samples within a short time, showing, therefore, high potential for reproducibility.

Keywords: pesticides; tomato; QuEChERS; sample preparation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
3.1	O USO DE PRAGUICIDAS NO BRASIL.....	13
3.2	MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM ALIMENTOS.....	14
3.3	REGULAMENTAÇÃO BRASILEIRA DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE PRAGUICIDAS EM ALIMENTOS.....	15
3.4	O TOMATE COMO MATRIZ DE ESTUDO: CONTEXTO, IMPORTÂNCIA E JUSTIFICATIVA DE ESCOLHA.....	19
3.5	TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA DE ALIMENTOS PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PRAGUICIDAS.....	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1	EXPERIMENTAL.....	22
4.1.1	Reagentes, equipamentos e padrões analíticos utilizados.....	22
4.1.2	Coleta de amostra de tomate para a otimização	23
4.1.3	Preparo de amostra.....	24
4.2	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROMÉTRICAS....	25
4.3	VALIDAÇÃO ANALÍTICA.....	26
4.3.1	Linearidade.....	26
4.3.2	Seletividade.....	26
4.3.3	Precisão e exatidão.....	27
4.3.4	Limite de detecção e limite de quantificação.....	27
4.3.5	Robustez.....	28
4.4	APLICAÇÃO EM AMOSTRAS COMERCIALIZADAS.....	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1	OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA	29
5.1.1	Massa de amostra utilizada	29

5.1.2	Escolha do solvente de extração	30
5.1.3	Adição de sais de separação	30
5.1.4	<i>Clean-up</i>	31
6.1	PARÂMETROS CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROMÉTRICOS.	31
6.2	VALIDAÇÃO ANALÍTICA.....	32
6.2.1	Linearidade.....	33
6.2.2	Precisão e exatidão.....	35
6.2.3	Limite de quantificação e limite de detecção.....	35
6.2.4	Robustez.....	36
6.3	APLICAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA VALIDADO EM AMOSTRAS DE TOMATE.....	38
7	CONCLUSÃO.....	42
7.1	CONCLUSÃO GERAL.....	42
7.2	CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS.....	42
	REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

O termo agrotóxico ou praguicida (termo usado na Toxicologia) abrange uma ampla gama de substâncias químicas, incluindo os inseticidas, os fungicidas e os herbicidas (Aktar; Sengupta; Chowdhury, 2009). Nesse sentido, A Lei Federal nº 7.802, de 11 de julho de 1989, define agrotóxicos da seguinte maneira:

Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, utilizados nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento dos produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade consiste em alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.

O uso de tais compostos trata-se de uma ferramenta de controle amplamente empregada por produtores rurais a fim de garantir maior produtividade e prevenir/corrigir ataques de pragas em plantações (Gaouar *et al.*, 2021). Tendo em vista que a agricultura ocupa um papel fundamental na economia do Brasil, a introdução do uso de praguicidas foi um marco significativo na modernização do setor (Da Silva *et al.*, 2020). Nesse contexto, segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária, MAPA, em 2024, o governo brasileiro aprovou 663 novos praguicidas para uso, configurando o maior número nos últimos anos (BRASIL, 2024). De acordo com dados do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, IBAMA, no ano de 2022, o Brasil ultrapassou a marca de 800 mil toneladas de ingredientes ativos vendidos, 11% a mais que no ano anterior. Dessa forma, frente ao aumento substancial de ativos agrícolas, torna-se possível observar uma certa relação entre o uso em larga escala dessas substâncias químicas e o surgimento de efeitos prejudiciais à saúde humana (Nunes *et al.*, 2021).

Assim, mesmo que os praguicidas tenham sua relevância na proteção das plantas para aumentar o rendimento das culturas, estudos apontam que menos de 15% dos praguicidas aplicados nas plantações atingem efetivamente os objetivos pretendidos, levando à dispersão indesejada destes produtos químicos em diferentes segmentos do ambiente (Singh *et al.*, 2023). Dessa forma, tais substâncias podem representar uma ameaça significativa ao ecossistema e à saúde animal, incluindo a

humana, visto que têm uma seletividade limitada (Farcas *et al.*, 2013; Parlakidis, P. *et al.*, 2023). Nesse aspecto, os seres humanos podem estar sujeitos à exposição a esses xenobióticos por meio das atividades ocupacionais bem como através da ingestão diária de alimentos/água contaminados (De Moraes Valentim *et al.*, 2023). A ingestão de resíduos de praguicidas em quantidades suficientes pode levar a intoxicações agudas, no entanto, a maioria dos efeitos adversos nos consumidores é causada pela ingestão a longo prazo desses resíduos nos alimentos (Oates *et al.*, 2014). Alguns efeitos indesejáveis (agudos e crônicos) à saúde humana decorrentes da exposição a tais compostos são: alergias e irritações na pele; problemas respiratórios; problemas hepáticos; problemas endócrinos e efeitos mutagênicos a longo prazo, bem como um risco elevado do desenvolvimento de câncer (Munir *et al.*, 2024). Diante do potencial risco associado à exposição aos praguicidas por alimentos contaminados, no Brasil, o controle do uso dessas substâncias é realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio do Programa de Análise de Resíduos de Praguicidas (PARA), e os dados de monitoramento são utilizados para avaliar a exposição alimentar aos compostos, os quais apresentaram, recentemente, um impacto e risco significativo à saúde humana (BRASIL, 2019).

Sendo um dos frutos mais cultivados no mundo, o tomate faz parte da dieta da maioria dos brasileiros e, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), menos da metade da produção de tomate em território nacional é destinada à industrialização, sendo, portanto, a maior parcela atribuída ao consumo desse alimento *in natura* (Nagata. *et al.*, 2021; Costa *et al.*, 2023). Desse modo, frente à baixa resistência do tomate contra pragas, o cultivo desse fruto demanda um manejo intensivo, feito, muitas vezes, com uso de compostos químicos. Atualmente, o uso dessa ferramenta de controle é restringido pelo chamado Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido nos alimentos (Nazarloo *et al.*, 2021). Contudo, esse limite é variável entre países, de modo que é possível observar maior rigor regulamentar nos países desenvolvidos, quando comparados com aqueles em desenvolvimento (Zikankuba *et al.*, 2019). Dessa maneira, a determinação de resíduos de praguicidas em alimentos é fundamental para que haja um melhor conhecimento dos riscos de exposição através da alimentação, visto que, conhecendo a fonte de exposição, torna-se possível estabelecer medidas preventivas/corretivas para a saúde dos indivíduos

possivelmente expostos (Divyashree; Tomar, 2021).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral do estudo centrou-se em otimizar uma técnica de preparo de amostras de tomate para posterior análise de multiresíduos de praguicidas nesse fruto, contribuindo para a avaliação da exposição a essas substâncias químicas pela ingestão de alimentos contaminados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Otimizar uma técnica de preparo de amostra para análise multiresidual de praguicidas em amostras de tomate;
- b) Validar o preparo de amostra otimizado;
- c) Aplicar o método desenvolvido e validado em amostras de tomate de comércios locais.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O USO DE PRAGUICIDAS NO BRASIL

A agricultura ocupa um papel fundamental na economia do Brasil, sendo considerado referência no cultivo de alimentos de origem vegetal, o setor de produção agrícola brasileiro teve a introdução do uso de praguicidas como um marco significativo na modernização do setor (Da Silva *et al.*, 2020). Nesse contexto, frente à intensificação da produção em larga escala, estimulada pelo aumento da demanda por alimentos, é possível observar o incentivo ao uso maciço de compostos químicos, principalmente em monoculturas, em todo o território nacional (Gaboardi; Candioto; Panis, 2023). Tal observação é preocupante, visto que o Brasil é o terceiro maior exportador de frutas e vegetais no mundo (De Andrade *et al.*, 2023). Dessa forma, frente ao aumento substancial desses agentes químicos, Nunes *et al.* (2021)

destacam a relação entre o uso em larga escala e o surgimento de efeitos prejudiciais à saúde humana (Nunes *et al.*, 2021). Entre os principais alimentos cultivados no mundo e que estão sujeitos à contaminação por praguicidas, cita-se o tomate, fruto comumente cultivado e consumido pela população brasileira em geral (Costa *et al.*, 2023). Em escala global, a China ocupa a primeira posição entre os maiores produtores deste fruto e o Brasil, a nona posição, atingindo aproximadamente 65 toneladas cultivadas por hectare (FAO, 2023), sendo a maior parte destinada ao consumo *in natura* (Costa *et al.*, 2023). Diversos estudos recentes identificaram a presença de resíduos de compostos químicos em tomate, entre eles, o de Gaour *et al.* (2021), que avaliou os níveis de resíduos comumente usados em plantações de tomate na Argélia Ocidental, detectando um uso significativo (Gaour *et al.*, 2021). Além deste, Rathod *et al.* (2021) conseguiram determinar 77 classes de praguicidas em amostras de vegetais e de tomate na Índia, evidenciando os riscos existentes a esta exposição (Rathod *et al.*, 2021). No Brasil, ainda são necessárias maiores informações sobre a contaminação de alimentos por praguicidas e seus consequentes riscos à população consumidora (De Moraes Valentim *et al.*, 2023).

3.2 MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE PRAGUICIDAS EM ALIMENTOS

A presença de resíduos de praguicidas em alimentos tem sido relacionada a uma ampla gama de prejuízos à saúde humana, compreendendo efeitos nocivos de curto a longo prazo. Logo, é necessário monitorar constantemente a exposição ou o conteúdo dessas substâncias nos alimentos (Dasriya *et al.*, 2021). Pensando nisso, a harmonização internacional das regulamentações sobre os limites permitidos de praguicidas em alimentos cumpriria papel crucial na garantia do monitoramento confiável desses resíduos em matrizes alimentares (Beyuo *et al.*, 2024).

Nesse sentido, a Reunião Conjunta FAO/OMS sobre Resíduos de Praguicidas (JMPPR) avalia os riscos de resíduos desses compostos nos alimentos e propõe limites máximos de resíduos (LMR) à Comissão do *Codex Alimentarius* (Crépet *et al.*, 2021). Contudo, ainda existem divergências na legislação sobre praguicidas entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, o que causa preocupações sobre a proteção da saúde humana, especialmente quando os países em desenvolvimento utilizam

materiais não autorizados ou têm um monitoramento de resíduos menos rigorosa (Beyuo *et al.*, 2024).

No Brasil, o monitoramento desses resíduos em alimentos de origem vegetal é competência do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), institucionalizado como Programa no ano de 2003, e que, por meio das análises de amostras coletadas, realiza a avaliação do cenário de irregularidades e risco à saúde (BRASIL, 2023). Analisando o monitoramento em alimentos feito em território nacional, é possível notar um avanço significativo nos últimos anos, como aumento no número de amostras analisadas, aumento no número de ingredientes ativos analisados e novos alimentos foram incluídos para análise (Lopes; Albuquerque, 2021).

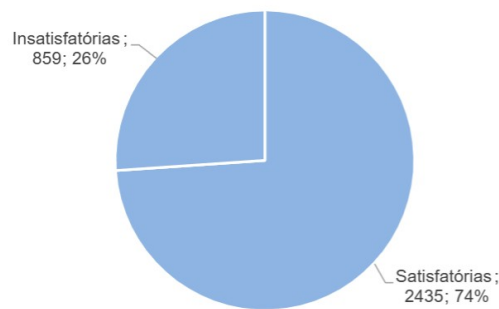
Entretanto, a regulamentação de alimentos no Brasil ainda é menos rigorosa quando comparada aos países europeus, evidenciando a necessidade de se aprofundar o debate sobre os parâmetros utilizados pela legislação brasileira nesse âmbito (Lopes; Albuquerque, 2021).

3.3 REGULAMENTAÇÃO BRASILEIRA DOS NÍVEIS RESIDUAIS DE PRAGUICIDAS EM ALIMENTOS

Diante da relevância do agronegócio para a economia brasileira, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) vem atuando nos últimos anos na amplificação da participação do Brasil nas exportações de insumos agrícolas. Nesse sentido, a grande produção agrícola no país, impulsionada pelo aumento da demanda global por esses produtos, aumentou consideravelmente o uso de praguicidas em território nacional, a fim de elevar a produtividade e manter as plantações saudáveis e longe de pragas (Nougadère *et al.*, 2020). Contudo, os seres humanos, uma vez em contato por diferentes vias (inalatória, oral, dérmica) e formas (ocupacional e/ou ambiental), também ficam sujeitos à exposição por estas substâncias, ressaltando os riscos existentes pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente os consumidos *in natura*, como o tomate (Gaboardi, 2022). Dessa maneira, torna-se evidente a necessidade da adoção de programas de monitoramento no que se trata da aprovação de ingredientes ativos utilizados na agricultura, bem como dos resíduos

máximos permitidos nos alimentos (Silva *et al.*, 2021). Nesse sentido, as autoridades reguladoras nacionais são responsáveis por estabelecer os Limites Máximos de Resíduos (LMR), por meio da verificação regular dos níveis de resíduos de praguicidas existentes, bem como a Ingestão Diária Aceitável (IDA). O LMR representa o valor máximo de resíduos dessas substâncias químicas que é esperado encontrar em determinado alimento tratado de acordo com as normas estabelecidas (Zikankuba *et al.*, 2019). Já o IDA é um parâmetro utilizado para definir a quantidade máxima de dado praguicida que pode ser ingerida por dia, durante toda a vida, e que não cause prejuízos à saúde (BRASIL, 2020). No Brasil, o registro de praguicidas envolve três órgãos regulamentadores: a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente (IBAMA); e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo a ANVISA responsável por realizar o dossiê toxicológico, avaliar o grau de toxicidade, bem como estabelecer as condições de uso seguro, sendo também da sua competência estabelecer os LMRs dessas substâncias nos alimentos (Centurión, 2023). Nesse contexto, coordenado pela ANVISA, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) configura-se como uma ação de vigilância, cujo intuito, estabelecido pelo próprio PARA, é monitorar resíduos de praguicidas em alimentos de origem vegetal, visando mitigar o risco à saúde decorrente da exposição a essas substâncias pela dieta (BRASIL, 2023). O Gráfico 1 apresenta os resultados obtidos nas análises dos alimentos monitorados durante o ciclo 2023 do Plano Plurianual 2023-2025.

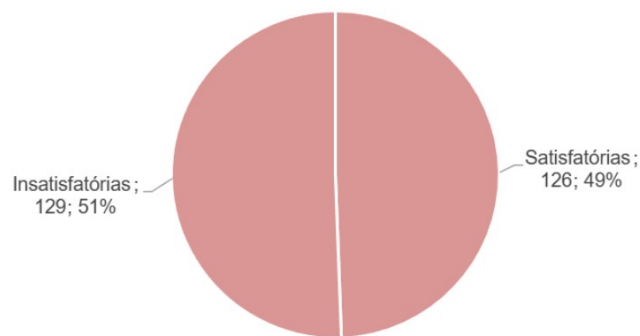
Gráfico 1 - Distribuição das amostras analisadas segundo a presença ou ausência de resíduos de praguicidas e a situação de conformidade – ciclo 2023.



Fonte: Brasil (2023).

As amostras satisfatórias (74%) apresentam concentrações de resíduos de praguicidas inferiores ou iguais ao LMR. De acordo com a ANVISA, no Brasil, o tomate está incluído no grupo de vegetais que representa 30,86% do consumo nacional (BRASIL, 2021). As amostras insatisfatórias apresentadas (cerca de 26%) incluem aquelas que apresentaram resíduos acima do LMR, as que apresentaram resíduos não permitidos para a cultura e as com ingredientes ativos proibidos ou não permitidos para uso no Brasil. Com base no mesmo documento, o Gráfico 2 apresenta a proporção do perfil das amostras analisadas do tomate.

Gráfico 2 - Distribuição das amostras de tomate analisadas segundo a presença ou ausência de resíduos de praguicidas e a situação de conformidade – ciclo 2023



Fonte: Brasil (2023).

Embora, em escala geral, a maioria das amostras analisadas tenha sido considerada satisfatória em relação aos limites de resíduos de praguicidas, como mostra o Gráfico 1, esse dado isolado pode não condizer com a realidade de algumas amostras, como o tomate, visto que os dados referentes a esse alimento em específico chamam a atenção pela alta frequência de não conformidade. Dos 255 tomates analisados, mais da metade apresentaram resultados insatisfatórios, evidenciando a necessidade de um monitoramento mais específico e rigoroso dessa matriz.

O tomate, devido à sua composição e textura macia, torna-se mais propenso a pragas de insetos e doenças. Dessa forma, agricultores fazem uso de ferramentas químicas com o intuito de assegurar a qualidade desse alimento (Saljoqi *et al.*, 2022). Na Tabela 1 estão apresentados os LMRs permitidos no tomate e valores de IDA (Ingestão Diária Aceitável), em acordo com a legislação brasileira, levando em consideração os principais praguicidas utilizados em suas culturas.

Tabela 1 – Classificações, LMRs e IDAs de praguicidas comumente aplicados em culturas de tomate.

Praguicida	Função e classe química	Classe toxicológica	LMR (mg/kg)	IDA (mg/kg p.c.)
Clorpirifós	Acaricida organofosforado	Classe II	0,500	0,010
Difenoconazol	Fungicida triazol	Classe I	0,500	0,600
Fenpropatrina	Inseticida Triazol	Classe II	0,200	0,030
Imidacloprida	Inseticida neonicotinoide	Classe II	0,500	0,050
Metconazol	Inseticida Triazol	Classe I	0,050	0,050
Piraclostrobina	Fungicida estrobilurínico	Classe IV	0,400	0,040
Tebuconazol	Fungicida triazol	Classe IV	0,300	0,030

Fonte: BRASIL (2021).

Nesse sentido, Moreira *et al.* (2023) investigaram o nível de contaminação por resíduos de praguicidas em amostras de tomate fresco do município de Diadema, Brasil: resultados mostraram a identificações abaixo dos LMR's, entretanto o estudo também prova que a escolha do fruto apenas com base nas qualidades sensoriais não garante a não presença de praguicidas nele (considerando que o agricultor tenha respeitado a dose recomendada de aplicação e o tempo de carência). Portanto, fica evidente a relevância de políticas públicas na promoção de boas práticas de agricultura e, conseqüentemente, na garantia da segurança alimentar, bem como da importância do monitoramento da exposição, através das análises nos alimentos e no próprio indivíduo exposto (Moreira *et al.*, 2023).

3.4 O TOMATE COMO MATRIZ DE ESTUDO: CONTEXTO, IMPORTÂNCIA E JUSTIFICATIVA DE ESCOLHA

O tomate é uma fruta nativa da América do Sul e, nos últimos anos, vem ocupando cenário de destaque na agricultura mundial. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil produziu 4.084.910 toneladas em 2018 e, em janeiro de 2019, a produção foi de 4.333.609 toneladas do fruto (Mazzei *et al.*, 2021). Sendo, portanto, um dos frutos mais cultivados no mundo, o tomate faz parte da dieta da maioria dos brasileiros, possuindo a maior parcela da produção em território nacional atribuída ao consumo desse alimento *in natura* (Nagata *et al.*, 2021; Costa *et al.*, 2023).

Nesse sentido, frente à popularização do tomate, para serem comercializados, esses frutos devem estar em perfeitas condições de peso e aparência e, para se conseguir esse resultado, no sistema convencional de produção, a lavoura precisa ser pulverizada com inseticidas e fungicidas de três a quatro vezes por semana (Junior, 2019). Fica perceptível, portanto, que existem alguns parâmetros que são levados em consideração na avaliação da qualidade e segurança de um alimento consumido *in natura*. Dentre os mais relevantes, destacam-se a presença de resíduos de praguicidas com risco potencial à saúde humana (Jardim; Andrade; De Queiroz, 2009).

Portanto, a escolha do tomate como matriz para o presente estudo se justifica pela sua popularidade no mercado brasileiro e consequente relevância econômica, associada à importância de assegurar a conformidade com os limites máximos de resíduos estabelecidos por órgãos de fiscalização.

3.5 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA DE ALIMENTOS PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PRAGUICIDAS

A análise de resíduos de praguicidas em alimentos é uma tarefa árdua, visto a complexidade dessas matrizes, como a do tomate, as concentrações dos analitos serem geralmente muito baixas e apresentarem propriedades químicas distintas, fazendo, assim, com que ocorra a necessidade de uma etapa prévia de preparo da

amostra (Prestes *et al.*, 2009). Os principais objetivos do preparo da amostra são, portanto, promover a extração e o enriquecimento dos analitos de interesse, e a remoção, tanto quanto possível, dos interferentes. Dessa maneira, mesmo que seja observado um considerável avanço nos instrumentos analíticos, o preparo da amostra tem papel fundamental para melhor avaliar a presença de xenobióticos nas amostras de alimentos analisadas (Prestes *et al.*, 2009; Musarurwa *et al.*, 2019). Nesse sentido, existem diversos trabalhos publicados que propõem diferentes estratégias de extração e detecção de praguicidas em diversos alimentos de origem vegetal, considerando desde a extração até a detecção. Em suma, a análise dessas substâncias químicas em vegetais e frutas é examinada em duas etapas: a extração e limpeza do analito de interesse da matriz, seguida de sua determinação (Wahab *et al.*, 2022).

A extração do analito cumpre o papel de separar esse do restante da amostra, isto é, da matriz, utilizando um solvente de extração. Contudo, vale mencionar que o que pode ser extraído do substrato depende do método de extração e do tipo de solvente empregado na análise (Wahab *et al.*, 2022). Assim, existe uma gama de técnicas laboratoriais que podem ser aplicadas para a extração de analitos de uma matriz, a microextração em fase sólida (SPME), extração QuEChERS (rápida, fácil, barata, eficaz, robusta e segura), extração em fase sólida (SPE) e extração líquido-líquido (LLE) são exemplos de técnicas comuns utilizadas para essa finalidade. Ademais, é válido dizer que, independentemente da técnica de escolha, requisitos como boa precisão, sensibilidade e seletividade devem ser atendidos a fim de se obter uma análise verdadeiramente satisfatória (Wahab *et al.*, 2022). A Tabela 2 compara alguns dos métodos descritos na literatura para a análise de resíduos de praguicidas no tomate.

Tabela 2 – Comparação de métodos de preparo e análise de amostras de tomate descritos na literatura.

(continua)

Autor e ano	Técnica de preparo de amostra	Método instrumental	Observação
-------------	-------------------------------	---------------------	------------

Tabela 2 – Comparação de métodos de preparo e análise de amostras de tomate descritos na literatura.

(conclusão)

Autor e ano	Técnica de preparo de amostra	Método instrumental	Observação
Andrade <i>et al.</i> (2011)	QuEChERS original	GC-MS/MS	Baseado em protocolo QuEChERS padrão, sem modificações
Nazish-Ali <i>et al.</i> (2025)	QuEChERS tamponado com citrato	LC-MS/MS	Utiliza maior volume de solventes.
Negussie; Dube; Nindi (2021)	DLLME	HPLC	Foco em analitos polares.

Fonte: Autora (2025).

Em um primeiro momento, a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE) ocupavam posição de destaque nas análises de resíduos de praguicidas devido à sua simplicidade. No entanto, na última década, o uso do QuEChERS mostrou-se promissor, visto que se trata de uma técnica em microescala e, considerando que a extração de compostos orgânicos de diferentes matrizes é um processo demorado, o QuEChERS reduz o tempo de análise, minimiza o número de etapas de análise com o uso de menos reagentes em quantidades menores, ao mesmo tempo que fornece resultados satisfatórios (Narendran; Meyeynathan; Babu, 2020).

A técnica QuEChERS foi proposta pela primeira vez por Anastassiades *et al.*, em 2003, com a premissa de se tratar de técnica rápida, fácil, barata, eficaz, robusta e segura, ou seja, seria um procedimento simples, rápido e econômico para preparação de amostras na remoção de praguicidas em alimentos e vegetais (Lu *et al.*, 2021). Em linhas gerais, o método é baseado na dispersão de sais de extração (efeito *salting-out*), isolamento de vários analitos presentes em uma matriz de elevada complexidade e, por fim, limpeza do extrato (etapa de *clean-up*) (Perestrelo *et al.*, 2019).

Há, na literatura, diversos trabalhos que explicitam algumas vantagens da QuEChERS em relação a outras técnicas de extração em outras matrizes alimentares além do tomate. Liu *et al.*, em estudo publicado em 2016, evidenciaram uma melhor performance do QuEChERS na extração de praguicidas em raízes e rizomas, quando comparado à LLE e à SPE (Liu *et al.*, 2016). De modo análogo, Calatayud-Vernich *et al.*, concluíram que o protocolo da técnica QuEChERS foi mais eficiente na extração de praguicidas de amostras de mel, quando comparado a outras técnicas (Calatayud-Vernich *et al.*, 2016).

Dessa forma, as técnicas de extração de resíduos de praguicidas em alimentos vêm buscando maior eficiência, simplicidade e redução no uso de solventes. Entre as técnicas abordadas, o protocolo QuEChERS destacou-se por sua aplicabilidade em diferentes matrizes alimentares, pela eficiência na recuperação dos analitos e pela praticidade na execução.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 EXPERIMENTAL

4.1.1 Reagentes, equipamentos e padrões analíticos utilizados

As análises foram feitas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (UHPLC) (LCMS-8030, Shimadzu®, Quito, Japão), acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo com ionização por interface *electrospray* (ESI) em modo positivo. Para a separação cromatográfica, utilizou-se uma coluna C18 de fase reversa (Thermo Fisher, 100 mm × 4,6 mm, 5 µm). A injeção foi feita por um injetor automático de amostras acoplado. A água ultrapura foi obtida no equipamento de purificação de água Milli-Q Plus® (Millipore, Milford, MA), disponível no Laboratório de Toxicantes e Fármacos (LATF) da Universidade Federal de Alfenas – MG (UNIFAL-MG). O vórtex utilizado foi da marca Thermolyne® (Maxi Mix II 37600), a centrífuga da marca Novatecnica® (NT 815). Os padrões analíticos utilizados foram: clorpirifós (98%), difenoconazol (95%), fenpropatrina (98%) e piraclostrobina (98%), todos da linha PESTANAL®. Além disso, fez-se uso de acetonitrila da marca J.T.Baker®, metanol

referente à marca LiChrosolv®, ácido fórmico 85% e acetato de amônio adquiridos da VETEC® (todos graus HPLC), o sulfato de magnésio anidro também foi adquirido na mesma empresa. O acetato de sódio anidro utilizado é da marca ProQuímios® e a amina primária-secundária (PSA) foi comprada da *Agilent Technologies Inc.* Ademais, todas as vidrarias utilizadas na preparação de soluções e análises, como pipetas, frascos volumétricos, béqueres etc., foram devidamente calibradas e identificadas para evitar erros volumétricos nas determinações.

4.1.2 Coleta de amostra de tomate para a otimização

Para realizar a otimização do preparo de amostra e validação do método, foram utilizadas amostras de tomate orgânico *in natura*.

Para proceder com a otimização da técnica, 100 g de tomate foram fortificados com padrões dos seguintes praguicidas: clorpirifós, difenoconazol, fenpropatrina e piraclostrobina. As amostras (100 g) foram fortificadas com solução intermediária de 1000 ppm, obtendo-se cinco réplicas de cada calibrador nas concentrações de 0,1 mg/kg; 0,2 mg/kg; 0,3 mg/kg; 0,5 mg/kg; 1,0 mg/kg; 2,0 mg/kg e 3,0 mg/kg.

Posteriormente, foram retiradas alíquotas de 5 g de cada calibrador para a realização da otimização do preparo de amostra e, portanto, visto a realização em réplicas, obteve-se ao todo 25 g de amostra fortificada para cada calibrador.

Após a otimização e validação do método, as coletas do alimento foram realizadas no decorrer do estudo seguindo o Manual de Coleta de Amostras do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes e Resíduos em Produtos de Origem Vegetal (PNCRC/Vegetal), sendo realizadas de modo aleatório em diferentes lotes em diferentes pontos comerciais da cidade de Paraguaçu - MG, contemplando os principais supermercados e mercearias da cidade. Ao todo, foram feitas duas coletas em sazonalidades distintas: a primeira em fevereiro período de chuvas na região e a segunda, em junho, período de seca (BRASIL, 2024).

De acordo com o Manual de Coleta de Amostras PNCRC/Vegetal, o tomate caracteriza-se como sendo um produto de médio porte (25 g a 250 g), sendo assim, o documento propõe que o tamanho mínimo da amostra de laboratório (considerando

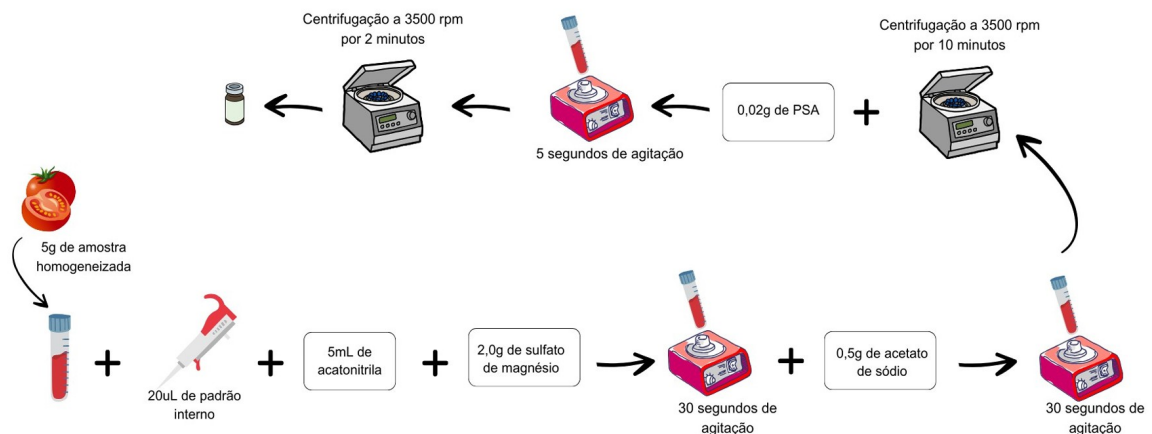
como amostra a unidade inteira do alimento) deve ser de 1 kg ou de no mínimo 10 unidades do produto (BRASIL, 2024).

Dessa forma, para a realização deste trabalho, foi coletado 1 kg do alimento de cada ponto comercial, isto é, por amostragem. Após coleta, as amostras foram transportadas para o Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos (LATF) da Universidade Federal de Alfenas (*campus* Alfenas), para as análises pertinentes, a fim de avaliar o risco existente em relação ao consumo de alimentos contaminados por praguicidas.

4.1.3 Preparo de amostra

Para a realização da análise multiresidual de praguicidas no tomate, partiu-se de pequenas modificações na técnica QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), proposta em 2003 por Anastassiades *et al.*, com o intuito de otimizar o preparo de amostras de frutas e vegetais para a extração de resíduos de praguicidas (Anastassiades *et al.*, 2003). Para isso, amostras de tomate orgânico *in natura* foram gentilmente doadas por um aluno da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e, a fim de garantir a ausência dos resíduos, realizou-se um branco analítico. A Figura 1 apresenta a esquematização dos passos do preparo de amostra utilizado neste estudo, com base no proposto por Anastassiades *et al.* (2003).

Figura 1 – Etapas do preparo de amostra modificado.



Fonte: Autora (2025).

Desse modo, o preparo de amostra consistiu, primeiramente, na pesagem do tomate previamente triturado e homogeneizado, 5 g que, posteriormente, foram transferidos para tubos de propileno de 15mL, junto de 20 µL de padrão interno (fosfato de trifenila). Em seguida, foram acrescentados 5mL de acetonitrila e 2 g de sulfato de magnésio ao tubo de propileno que, depois, foi submetido à agitação auxiliada por vórtex durante 30 segundos. Ao fim da primeira agitação, foram adicionados 0,5 g de acetato de sódio e deu-se início a uma segunda agitação nas mesmas condições da primeira e durante o mesmo período. Após homogeneizada com o solvente de extração e sais de partição, a amostra foi centrifugada a 3500 rpm por 10 minutos. Terminada a primeira parte do preparo, iniciou-se a etapa de clean-up e, para isso, adicionou-se 0,02 g de PSA (Primary/Secondary Amine) à amostra e realizou-se outra agitação auxiliada por vórtex, mas por 5 segundos apenas, seguida de outra centrifugação a 3500 rpm por 2 minutos. Por fim, foram transferidos 2mL do sobrenadante obtido no final do preparo para um vial, dos quais 10 µL foram injetados no LC-MS/MS para análise, conforme padronizado no equipamento.

4.2 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS E ESPECTROMÉTRICAS

Para o seguimento do presente estudo, fez-se uso das condições cromatográficas para determinação multiresidual de praguicidas previamente desenvolvidas em pesquisas realizadas no LATF, cabendo a este trabalho otimizar e validar o método em questão.

Em suma, a separação foi conduzida por uma fase móvel contendo três soluções (A, B e C). A solução A foi feita utilizando 10 mm/L de acetato de amônio com 0,001% de ácido fórmico; a solução B consistiu em metanol 100%; e a solução C (fase do injetor), foi composta por água ultrapura/metanol, na proporção 50:50. A fonte de ionização utilizada foi a ESI (*electrospray ionization*) em modo positivo. A separação cromatográfica foi realizada utilizando-se uma coluna cromatográfica C18 (Thermo Fisher, 100 mm × 4,6 mm, 5 µm), sob fluxo de 0,5 mL/min, em um forno com temperatura de 40 °C. As análises do tempo de retenção, massa carga (m/z) do íon precursor e dois dos principais íons produtos foram avaliados para cada praguicida. Posteriormente, um dos íons produto de cada praguicida foi selecionado para ser

utilizado como fragmento de quantificação, enquanto o outro, de identificação. Além disso, a energia de colisão ideal de fragmentação de cada analito também foi avaliada.

4.3 VALIDAÇÃO ANALÍTICA

4.3.1 Linearidade

A linearidade de um método analítico pode ser verificada observando a sua capacidade de apresentar uma proporcionalidade das respostas analíticas em função da concentração do analito na amostra analisada (BRASIL, 2015). Para a avaliação da linearidade do método, seguiu-se de acordo com as recomendações do Manual da Garantia Analítica disponibilizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), guia adotado como referência. Durante a validação, foi considerado o valor do coeficiente de correlação ajustado (r^2) como critério para a avaliação.

Primeiramente, para a validação, foram usadas seis amostras distintas de tomate orgânico, isto é, livre de resíduos de praguicidas, que foram homogeneizadas e, posteriormente, fortificadas com solução contendo os padrões de clorpirifós (98%), difenoconazol (95%), fenpropatrina (98%) e piraclostrobina (98%), nas concentrações de 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg e 3,0 mg/kg. Desse modo, a faixa linear empregada para a otimização da metodologia deste estudo levou em consideração os valores atribuídos de LMR e IDA de cada um dos compostos químicos aqui estudados conforme Tabela 1.

4.3.2 Seletividade

A seletividade de um procedimento analítico é caracterizada pela capacidade do mesmo de determinar o analito de interesse sem a interferência de outros componentes da matriz (BRASIL, 2015). No presente trabalho, utilizou-se como instrumento de análise um aparelho de cromatografia líquida acoplado a espectrômetro de massas triplo quadrupolo, cuja característica marcante está em sua alta sensibilidade, visto que, o primeiro quadrupolo isola um íon precursor

predeterminado que é fragmentado na célula de colisão (segundo quadrupolo), fazendo com que apenas íons de fragmentos derivados de precursores passem para o terceiro quadrupolo para serem detectados (Xue *et al.*, 2021).

Desse modo, ao utilizar um aparelho de alta sensibilidade como o LC-MS/MS triplo quadrupolo, com critérios de desempenho em acordo com o manual utilizado com referência, garantiu-se a seletividade adequada para o procedimento realizado.

4.3.3 Precisão e exatidão

A exatidão foi determinada pelo erro padrão relativo (EPR), calculado através da divisão entre concentração mensurada e concentração teórica, dividindo novamente pelo valor teórico, e multiplicando o resultado por 100. Para que o método seja considerado exato, os valores obtidos em cada calibrador devem estar em conformidade com os limites definidos pelo guia de validação utilizado neste estudo ($\leq 20\%$) (BRASIL, 2015)

Da mesma forma, a precisão dos calibradores foi determinada por meio do meio da matriz fortificada com os analitos de interesse e, para tal, foi utilizado o coeficiente de variação (CV), ou desvio padrão relativo (DPR), analisando-se o DPR de cada calibrador de forma individual, juntamente às suas cinco réplicas, sendo necessário que esses valores estivessem dentro dos limites estabelecidos pelo guia de validação adotado neste estudo para serem considerados adequados ao método ($\leq 20\%$).

4.3.4 Limite de detecção e limite de quantificação

Consoante ao MAPA, limite de detecção será a concentração do analito que produz um sinal de três vezes a razão sinal/ruído do equipamento (BRASIL, 2015). Portanto, para a determinação do limite de detecção, foi injetada uma concentração detectável de padrão, com um sinal analítico equivalente a três vezes o ruído.

O limite de quantificação, considerando a definição do documento utilizado como referência neste trabalho, é o menor valor da concentração do padrão utilizado na curva de calibração (BRASIL, 2015). Nesse sentido, o limite de quantificação

adotado para a validação do método proposto foi o primeiro calibrador que compõe a curva analítica.

4.3.5 Robustez

A fim de verificar a capacidade do preparo de amostra otimizado em resistir a pequenas e deliberadas modificações, realizou-se o ensaio de robustez do método. Para tal, foram escolhidas, de modo aleatório, sete etapas críticas descritas no preparo de amostra proposto para serem submetidas a pequenas variações, mantendo-se todas as demais condições inalteradas. As etapas selecionadas para o ensaio de robustez estão relacionadas principalmente ao volume de solvente, tempo e forma de agitação, massa de amostra, tipo de sal e temperatura de centrifugação. As variações adotadas estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições avaliadas no ensaio de robustez da técnica QuEChERS modificada.

Parâmetro avaliado	Condição de referência	Variações testadas
Massa de amostra	5 g	4,5 g e 5,5 g
Volume de acetonitrila	5 mL	4,5mL e 5,5mL
Tempo de agitação (1)	30 segundos	20 s e 40 s
Massa de acetato de sódio	0,5 g	0,45 g e 0,55 g
Tempo de centrifugação (1)	10 minutos	9 min. e 11 min.
Massa de PSA	0,020 g	0,018 g e 0,022 g
Tempo de centrifugação (2)	2 minutos	1,5 min. e 2,5 min.

Fonte: Autora (2025).

Para cada condição listada na Tabela 3, foram comparados os resultados obtidos com aqueles provenientes da QuEChERS modificada, ou seja, a referência deste trabalho. Para serem considerados robustos, os resultados das variações empregadas não poderiam ultrapassar 15%.

4.4 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS COMERCIALIZADAS

As amostras de tomate utilizadas para a aplicação do método otimizado neste estudo foram adquiridas em diferentes estabelecimentos comerciais da cidade de Paraguaçu-MG, buscando representar a variabilidade de produtos disponíveis no mercado. Dessa forma, no período de cinco meses foram coletadas doze amostras, sendo seis em fevereiro e seis no mês de junho. Assim, foram escolhidos seis pontos comerciais diferentes da cidade, priorizando aqueles com maior fluxo de consumidores, a fim de obter uma maior rotatividade de lotes e, conforme preconizado pelo MAPA (BRASIL, 2024), 1 kg de tomate (equivalente a uma amostra laboratorial) foi coletado pra cada amostragem. Cada amostra foi cuidadosamente selecionada e homogeneizada antes do preparo, garantindo a uniformidade da matriz para a extração. O método previamente otimizado e validado com amostras dopadas, foi aplicado às amostras reais, seguindo todos os parâmetros estabelecidos durante a validação, incluindo volumes de solventes e tempos de agitação. Após a extração, as amostras foram submetidas às análises instrumentais correspondentes, permitindo a detecção e quantificação dos compostos de interesse.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA

5.1.1 Massa de amostra utilizada

A fim de garantir uma maior eficiência do método analítico, recomenda-se minimizar ao máximo possível a quantidade de amostra utilizada, contudo, é importante certificar-se que a amostragem seja estatisticamente representativa (Anastassiades *et al.*, 2003). Nesse sentido, 1 kg de amostra de tomate foi inicialmente coletada e, após vigorosa homogeneização, utilizou-se 5 g para as análises (BRASIL, 2024).

5.1.2 Escolha do solvente de extração

A etapa de extração separa os resíduos de praguicidas da amostra utilizando um solvente e a escolha do solvente de extração é feita com base no substrato e no tipo de praguicida (Wahab *et al.* 2022). Ademais, existem alguns parâmetros que devem ser considerados na escolha do solvente de extração, como por exemplo: habilidade de extração de um amplo espectro de praguicidas com diferentes polaridades, apresentar seletividade durante a extração, partição e *clean-up*, compatibilidade com diferentes técnicas cromatográficas, baixo custo, segurança, além de observar a legislação ambiental. Nesse sentido, levando também em consideração outras vantagens, quando se visa utilizar cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, a acetonitrila apresenta-se como escolha de solvente mais adequada (Mastovská; Lehotay, 2004). Assim, Anastassiades *et al.* (2003) escolheram a acetonitrila como solvente de extração no protocolo QuEChERS, com a proporção de 1 g de amostra por 1 mL de solvente, sem envolver etapa de evaporação. Levando em consideração os resultados satisfatórios apresentados na literatura, neste trabalho, buscou-se reduzir ainda mais o volume de solvente utilizado. Entretanto, o poder de extração reduziu notavelmente e por isto, optou-se por manter o solvente com a mesma proporção proposta originalmente.

5.1.3 Adição de sais de separação

Posterior à etapa de extração com acetonitrila, a adição de sais é conveniente, uma vez que é rápida, fácil, apresenta baixo custo e proporciona a separação das fases orgânica e aquosa (Prestes *et al.*, 2009). Anastassiades *et al.* (2003) optaram pelo sulfato de magnésio ($MgSO_4$) devido à sua maior capacidade de remover água quando comparado a outros sais. Outrossim, no procedimento descrito originalmente, foi adicionado, junto ao $MgSO_4$ (4 g), cloreto de sódio (NaCl, 1 g) e observou-se que a quantidade de NaCl adicionada teve forte influência na separação das fases orgânica e aquosa, e variando a quantidade de NaCl adicionada ao extrato, foi possível controlar a faixa de polaridade (seletividade) da etapa de partição (Anastassiades *et al.*, 2003). Neste trabalho, objetivando a redução do uso de reagentes, foi utilizado o

MgSO₄ (2 g) junto ao acetato de sódio anidro (0,5 g). O estudo proposto por Wondimu. *et al.* (2023) aplicou a técnica QuEChERS na análise de tomate adicionando os sais MgSO₄ e acetato de sódio, obtendo resultados lineares na faixa de concentração de 2–200 µg/kg com $r^2 > 0,99$ e recuperação e precisão dentro do padrão aceitável. Salamzadeh *et al.* (2018) também utilizaram o acetato de sódio e obtiveram linearidade na faixa de 20–200 ng/g com $r^2 > 0,992$ (Salamzadeh *et al.*, 2018). Diante desses e de outros resultados satisfatórios descritos na literatura, justifica-se a substituição do cloreto de sódio pelo acetato de sódio neste trabalho.

5.1.4 *Clean-up*

Mesmo após a etapa de extração, independentemente da metodologia adotada, uma etapa de limpeza do extrato é frequentemente necessária para eliminar possíveis interferências (Vergara-Luis *et al.*, 2023). A técnica QuEChERS proposta em 2003 adotou uma abordagem de limpeza denominada "SPE dispersiva" (extração em fase sólida dispersiva). Ao contrário das técnicas já existentes para *clean-up* com SPE, a D-SPE reduz a água residual de uma forma rápida e simultânea, proporcionando, assim, um extrato final de menor polaridade, o que facilita a precipitação de co-extrativos polares e o sorvente (amina primária-secundária - PSA) retém as interferências da matriz, visto que a estrutura do PSA proporciona um efeito quelante, devido à presença dos grupos amino primário e secundário. Como resultado, a retenção de ácidos graxos livres e de outros compostos polares presentes na matriz é muito forte (Anastassiades *et al.*, 2003; Prestes *et al.* 2009). Diante disto, o presente trabalho também utilizou o PSA como sorvente (0,02 g) para promover uma limpeza do extrato a ser posteriormente injetado.

6.1 PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS E ESPECTROMÉTRICOS

Foram selecionados quatro resíduos de praguicidas de diferentes classes químicas (Tabela 5) para avaliação das condições espectrométricas empregadas na otimização, de forma que o tempo de retenção, a massa carga (m/z) do íon precursor, bem como dois dos produtos iônicos médios foram avaliados para cada praguicida.

Após essa avaliação, um dos íons produto de cada resíduo foi selecionado para ser utilizado como fragmento de quantificação e o outro, para identificação. A energia de colisão ideal para fragmentação de cada analito também foi avaliada.

Tabela 4 – Nomes, tempos de retenção e parâmetros de MS para os quatro resíduos.

Praguicida	Modo ESI	IP (m/z)	IQ (m/z)	ID (m/z)	TR (min.)	EC (eV)
Clorpirifós	+	349,8	97,0	197,8	5,6	-34/-18
Difenoconazol	+	406,2	251,0	337,0	5,3	-27/-19
Fenpropatrina	+	350,1	125,2	97,2	5,6	-14/-36
Piraclostrobina	+	388,25	163	194	3,30	-28/-13

Fonte: Autora (2025).

Legenda: IP = Íon precursor; IQ = Íon de quantificação; ID = Íon de identificação; TR = Tempo de retenção; EC = Energia de colisão.

Após otimização do método analítico, parâmetros da validação analítica foram mensurados seguindo recomendações do Manual de Garantia Analítica do MAPA (BRASIL, 2015).

6.2 VALIDAÇÃO ANALÍTICA

A validação do método proposto teve como objetivo assegurar que os resultados obtidos foram confiáveis, reprodutíveis e adequados ao seu propósito. No presente estudo, a validação foi conduzida por meio da avaliação de parâmetros de desempenho, incluindo curva analítica e linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão (recuperação) e precisão (repetibilidade) e robustez, os quais serviram como referência para atestar a obtenção de resultados fidedignos.

A cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massa (LC-MS/MS) provou-se eficiente na determinação de resíduos de praguicidas em amostras de alimentos em virtude da sua alta sensibilidade, robustez e seletividade, sendo, portanto, bastante utilizada para tal fim (Gorel-Manav *et al.* 2020).

Nesse sentido, este trabalho fez uso de um LC-MS/MS para a análise da eficiência da otimização do preparo de amostra proposto para a análise de resíduos de praguicidas em tomate.

6.2.1 Linearidade

Para a avaliação da linearidade do método, seguiu-se de acordo com as recomendações do Manual de Garantia Analítica (BRASIL, 2015), guia adotado como referência. Durante a validação, foi considerado o valor do coeficiente de correlação ajustado (r^2) como critério para a avaliação. Desse modo, a faixa linear empregada para a otimização da metodologia deste estudo levou em consideração os valores atribuídos de LMR e IDA de cada um dos praguicidas aqui estudados. Desta forma, um intervalo analítico de 0,1 a 3,0 mg/kg foi validado com valores de $r^2 \geq 0,99$, conforme Tabela 5.

Neste estudo, verificou-se que o modelo de regressão linear simples pode ser aplicado para a quantificação de amostras a serem analisadas no futuro, visto que $r^2 \geq 0,99$. Ademais, é possível avaliar as premissas estatísticas da regressão (normalidade, realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk, independência, com o teste de Durbin-Watson e homocedasticidade, verificada, por sua vez, com o teste de Breusch-Pagan), e os resultados mostram que os dados se ajustam adequadamente ao modelo linear, atendendo aos critérios exigidos para métodos analíticos. Além disso, há a necessidade da avaliação de outros parâmetros também importantes no processo de validação analítica, como por exemplo a avaliação dos valores de precisão e exatidão.

Sendo assim, os parâmetros de precisão e exatidão também foram avaliados seguindo recomendações do guia de validação utilizado.

Tabela 5 - Estimativa dos parâmetros da curva analítica dos praguicidas estudados.

Praguicidas	Parâmetros	Estimativa	r^2	Normalidade	Independência	Homoscedasticidade
Clorpirifós	β_0	0,227799	0,99	0,0558	0,8470	0,093
	β_1	-1,43902				
Difenoconazol	β_0	0,641258	0,99	0,0927	0,0746	0,2538
	β_1	0,956787				
Fenpropatrina	β_0	0,138591	0,99	0,1870	0,2650	0,1300
	β_1	-0,84632				
Piraclostrobina	β_0	1,251263	0,99	0,7487	0,2575	0,2782
	β_1	-4,57406				

Fonte: Autora (2025).

Legenda: Os parâmetros acima especificados correspondem à equação de regressão linear simples, onde β_0 corresponde à inclinação e β_1 corresponde à intercepção.

6.2.2 Precisão e exatidão

A exatidão foi determinada pelo erro padrão relativo (EPR), calculado através da relação entre concentração mensurada e concentração teórica, dividindo novamente pelo valor teórico, e multiplicando o resultado por 100. Para que o método seja considerado exato, os valores obtidos em cada calibrador devem estar em conformidade com os limites definidos pelo manual utilizado neste estudo (são aceitas variações de até $\pm 20\%$). A Tabela 6 mostra os resultados obtidos em valores de porcentagem (%) para o ensaio de exatidão.

Tabela 6 - Exatidão expressa em porcentagem (%) dos controles de qualidade avaliados neste estudo.

Praguicida	LQ	CQB	CQM	CQA
Clorpirifós	15,01	2,61	-7,35	2,25
Difenoconazol	5,30	-1,94	13,98	-5,05
Fenpropatrina	19,59	11,79	-1,24	1,18
Piraclostrobina	14,43	13,26	8,22	-8,38

Fonte: Autora (2025).

Legenda: LQ = Limite de quantificação: 0,1 mg/kg. CQB = Controle de qualidade baixo: 0,3 mg/kg; CQM = Controle de qualidade médio: 0,6 mg/kg e CQA = Controle de qualidade alto: 2 mg/kg.

Como pode ser observado, o método analítico otimizado apresentou valores de exatidão dentro dos limites recomendados pelo MAPA (BRASIL, 2015) para todos os analitos trabalhados.

Da mesma forma, a precisão dos calibradores foi determinada e, para tal, foi utilizado o coeficiente de variação (CV), ou desvio padrão relativo (DPR), analisando-se o DPR de cada calibrador de forma individual e em triplicata, sendo necessário que esses valores estivessem dentro dos limites estabelecidos pelo guia de validação adotado neste estudo para serem considerados adequados ao método. Os valores encontrados em porcentagem (%) para cada calibrador avaliado neste ensaio podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Precisão expressa em porcentagem (%) dos controles de qualidade avaliados neste estudo.

Praguicida	LQ	CQB	CQM	CQA
Clorpirifós	1,69	7,92	12,49	14,61
Difenoconazol	5,35	11,85	10,74	2,97
Fenproprina	15,39	11,50	7,43	12,95
Piraclostrobina	9,15	9,65	7,24	0,79

Fonte: Autora (2025).

Legenda: LQ = Limite de quantificação: 0,1 mg/kg; CQB = Controle de qualidade baixo: 0,3 mg/kg; CQM = Controle de qualidade médio: 0,6 mg/kg e CQA = Controle de qualidade alto: 2 mg/kg

Como demonstrado, os valores de precisão e exatidão dos calibradores utilizados foram validados de acordo com as recomendações do Manual de Qualidade Analítica disponibilizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essas orientações estabelecem que as variações percentuais (%) das réplicas para todos os calibradores avaliados não devem ultrapassar $\pm 20\%$ para precisão e $\pm 20\%$ para exatidão (BRASIL, 2015). Estes resultados sugerem a confiabilidade do método analítico em questão, o qual poderá, futuramente, ser utilizado no monitoramento de exposição multiresidual aos praguicidas, contribuindo para a avaliação do risco a estas substâncias.

6.2.3 Limite de quantificação e Limite de detecção

O limite de quantificação foi adotado como o menor calibrador da curva analítica onde houve precisão e exatidão dentro dos valores recomendados pelos guias utilizados, sendo a concentração de 0,1 mg/kg correspondente a este parâmetro. Enquanto isso, o limite de detecção foi encontrado como sendo a concentração 0,03 mg/kg.

6.2.4 Robustez

O ensaio de robustez demonstrou que as modificações feitas deliberadamente em algumas etapas do preparo de amostra não ocasionaram diferenças significativas

na recuperação ou na precisão, em comparação com o método de referência. Para verificar os resultados do ensaio de robustez, esses foram analisados conforme orienta o teste de Youden (1975). Nesse sentido, foi possível observar que, em todas as condições avaliadas, os valores permaneceram dentro dos limites preconizados, com variações inferiores a 15%, como verificado na Tabela 8.

Tabela 8 – Variação entre parâmetros de referência e avaliados expressa em porcentagem (%) do limite de quantificação para os quatro analitos.

Parâmetro avaliado	Clorpirifós	Difenoconazol	Fenpropatrina	Piraclostrobina
4,5 g de amostra	6,34	5,90	1,73	4,33
5,5 g de amostra	5,70	11,43	5,91	5,60
4,5 mL de AcN	4,99	6,30	1,69	2,26
5,5 mL de AcN	0,72	5,50	2,95	1,39
20 s. de agitação	8,57	0,27	8,32	5,00
40 s. de agitação	2,81	13,25	5,42	7,36
0,45 g de AcNa	2,54	1,05	0,44	1,87
0,55 g de AcNa	7,50	4,41	12,35	9,77
9 min. de centrifuga	10,35	0,85	4,80	0,18
11 min. de centrifuga	0,83	1,86	8,26	4,74
0,018 g de PSA	10,23	4,48	13,06	9,17
0,022 g de PSA	4,40	0,38	12,95	7,77
1,5 min. de centrifuga	9,18	1,00	12,68	9,58
2,5 min. de centrifuga	1,55	3,81	6,38	7,09

Fonte: Autora (2025).

Dessa maneira, as pequenas modificações inseridas no processo proposto não resultaram em alterações significativas na satisfatoriedade do método proposto.

Portanto, evidencia-se uma tolerância satisfatória a desvios operacionais comuns em laboratório durante o preparo de amostra, sendo capaz de manter a confiabilidade dos resultados mesmo diante de modificações sutis.

6.3 APLICAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA VALIDADO EM AMOSTRAS DE TOMATE

O tomate não possui resistência à maioria das pragas e doenças que o acometem, dessa forma, o controle dessas infestações é feito, em sua maioria, por meio da aplicação de praguicidas, o que acarreta risco de contaminação ocupacional, resíduos de praguicidas em alimentos e impactos diretos no meio ambiente (Junior, 2019). Nesse sentido, frente ao potencial risco à saúde e ao ambiente, a Lei nº 14.785, de 2023, estabelece a proibição do registro de praguicidas que apresentem risco inaceitável para os seres humanos ou para o meio ambiente, por permanecerem inseguros, mesmo diante da implementação das medidas de gestão de risco (BRASIL, 2023). Dessa maneira, a legislação lança mão de algumas ferramentas de avaliação do risco dessas substâncias químicas, inclusive do risco dietético, isto é, quando se analisa a probabilidade de aparecimento de efeitos adversos à saúde humana, decorrente da ingestão de alimentos com resíduos de praguicidas (BRASIL, 2024).

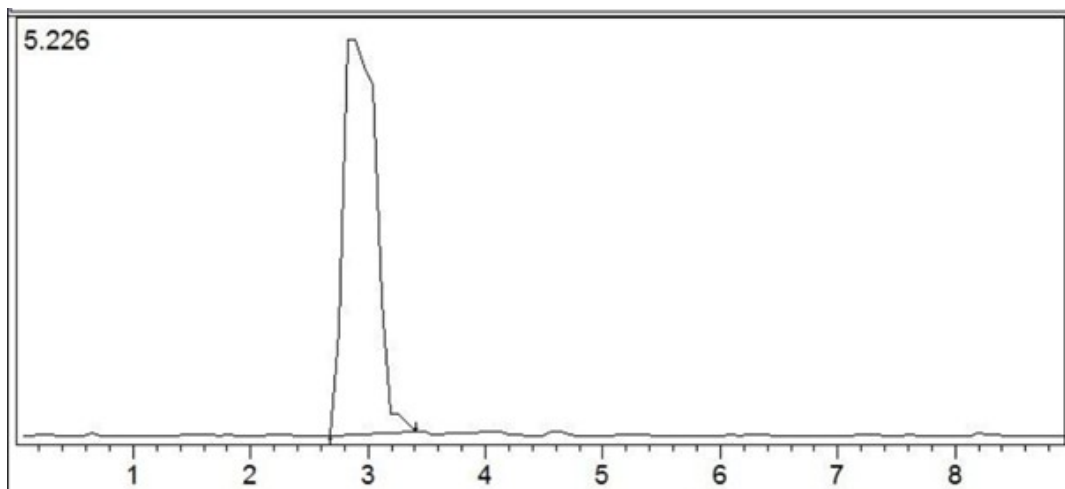
Nesse contexto, entra o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), uma ação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), coordenado pela Anvisa, cujo principal objetivo é verificar a presença ou não de resíduos de praguicidas em alimentos de origem vegetal. A partir dos resultados obtidos pelo PARA, é possível avaliar se há casos em que os Limites Máximos de Resíduos estabelecidos foram extrapolados e se foram utilizados ingredientes ativos não autorizados na cultura ou no país (BRASIL, 2024).

No plano plurianual mais recente (2023-2025), é possível analisar também o percentual de detecções regulares e irregulares com relação ao número de amostras analisadas (196), entendendo-se por regularidade a conformidade ou não com o LMR preconizado para o resíduo. Sendo assim, o acefato lidera a lista, com quase 19% de detecções irregulares, seguido do clorpirifós (11,73%) (BRASIL, 2024).

No trabalho aqui proposto, foram coletadas ao todo doze amostras, sendo seis no mês de fevereiro e seis no mês de junho. Nas amostras analisadas, foi detectada a

presença de resíduos de xenobióticos em apenas uma, proveniente da primeira amostragem, estando entre o LD e o LQ. Assim, nas amostras comerciais analisadas, apenas uma apresentou resíduo de praguicida (piraclostrobina) em concentração entre o LD e o LQ. A Figura 2 apresenta o cromatograma da amostra em que se foi possível detectar resíduos de piraclostrobina.

Figura 2 – Cromatograma da amostra de tomate em que houve a detecção de piraclostrobina..

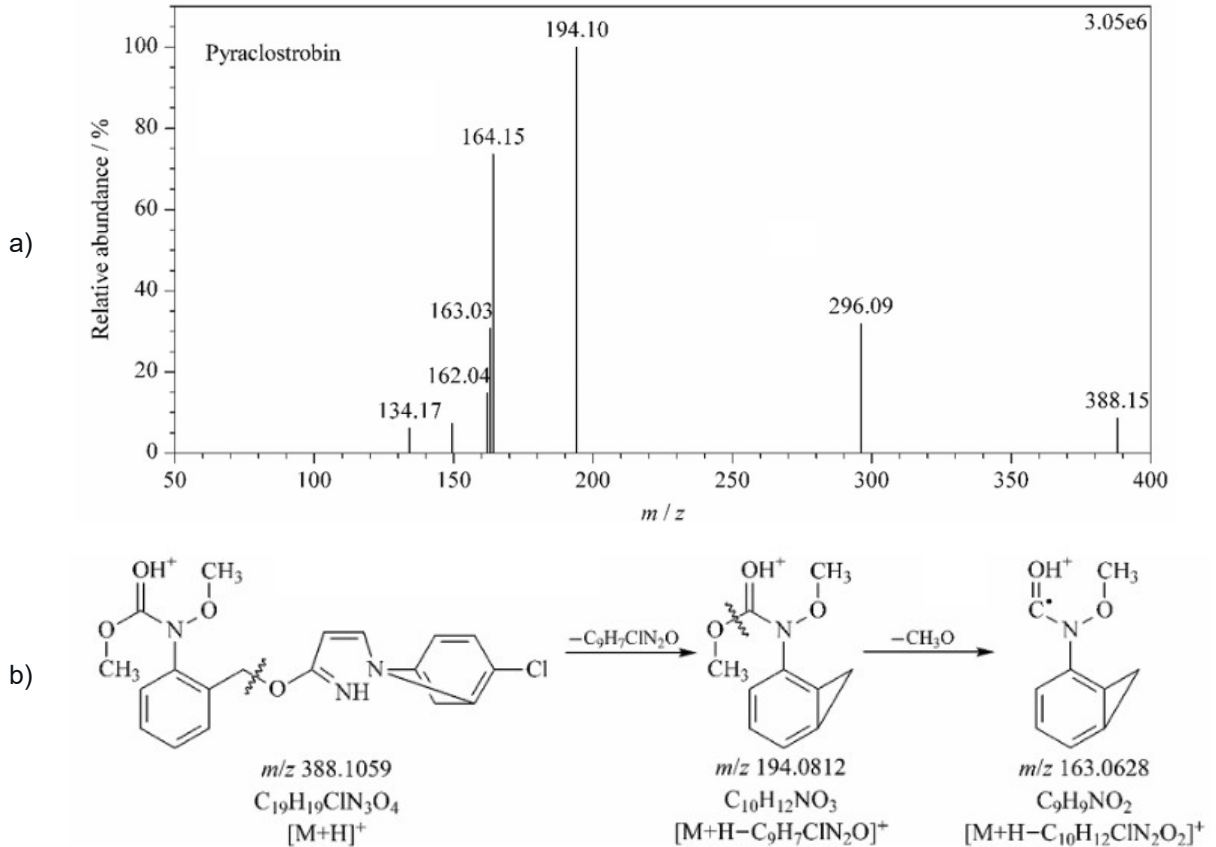


Fonte: Autora (2025).

O cromatograma, junto aos parâmetros encontrados e o tempo de retenção de 2,85 minutos, permite a identificação clara do composto na matriz analisada, uma vez que o tempo de retenção e os íons característicos apresentaram concordância com padrões analíticos e com dados reportados na literatura para o mesmo método.

Na Figura 3, é possível observar o espectro em MRM da piraclostrobina.

Figura 3 – Espectro representativo da molécula de piraclostrobina e sua principal rota de fragmentação



Fonte: Adaptado de Zhou *et al.* (2017).

Legenda: a) Espectro da molécula de piraclostrobina.

b) Principal rota de fragmentação do íon precursor para a formação de dois íons produtos.

O espectro evidencia os íons fragmentos gerados a partir do íon precursor (m/z 388) da molécula, podendo-se observar dois íons produtos, sendo o de maior intensidade o íon quantitativo (m/z 194) e o outro o íon confirmatório, o de identificação (m/z 163). Além disso, é possível observar os pontos em que ocorrem as fragmentações para gerar cada íon produto. Sendo assim, para a formação do íon de quantificação, observa-se uma fragmentação na cadeia lateral que liga o anel piridínico ao restante da molécula, gerando um fragmento altamente estável. Por sua vez, o grupamento metoxi, que pode se desprender facilmente do restante da molécula, é separado, restando o fragmento de m/z 163, e escolhido como íon de identificação.

A incidência apresentada neste estudo foi menor que a reportada por levantamentos oficiais, como o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em

Alimentos, que abrange um número mais amplo de amostras e períodos de coleta, além de considerar diferentes regiões produtoras. Nesse sentido, a detecção de resíduos de piraclostrobina no tomate merece destaque, visto que este fungicida estrobilurínico, amplamente utilizado no cultivo de hortaliças e frutas, pode estar associado ao prejuízo da saúde humana, tendo em vista o elevado volume de piraclostrobina em utilização, a detecção frequente em frutas e vegetais e a sua incapacidade de ser removido eficientemente dos alimentos por meio de métodos tradicionais de enxágue, haja vista que a higienização do tomate com água corrente (como é feito comumente durante a rotina) remove apenas 18–30% do fungicida, mesmo com enxágue extensivo (por 5 minutos ou mais) (Luz *et al.*, 2019). Para elucidar os riscos associados à exposição a esse praguicida, Wu *et al.* (2024) desenvolveram uma pesquisa sobre a cardiotoxicidade da piraclostrobina em embriões de *zebra-fish*, podendo observar que esses animais expostos a tal agrotóxico apresentaram má formação do coração, confirmada pela desregulação de genes relacionados ao desenvolvimento desse órgão (Wu *et al.*, 2024).

Já Mao *et al.* (2020) apontam o estresse oxidativo como o principal mecanismo subjacente da toxicidade atribuída à exposição a praguicidas estrobilurínicos (Mao *et al.*, 2020). Diante de tal contexto, é relevante mencionar o trabalho de Luz, A. *et al.* (2019) que apresentou resultados que sugerem que a disfunção mitocondrial induzida pela piraclostrobina tem potencial de inibição da homeostase lipídica, resultando no acúmulo de triglicerídeos e, conseqüentemente, contribuir para o surgimento de síndrome metabólica em humanos (Luz *et al.*, 2019).

Portanto, mesmo que seu uso seja autorizado em diversas culturas, a exposição crônica por meio do consumo de alimentos contaminados por fungicidas estrobilurínicos pode representar uma ameaça à saúde humana, fazendo-se necessários maiores estudos a respeito.

Ademais, é interessante pontuar que a amostra que apresentou concentração detectável de resíduos de praguicida compõe a amostragem feita no mês de fevereiro, período de temperaturas elevadas e alta umidade no sudeste brasileiro, enquanto, a amostragem feita em junho, período de frio e clima seco na região, não apresentou concentrações significativas de resíduos no tomate. Nesse contexto, sabe-se que as alterações climáticas podem influenciar as concentrações de praguicidas nas

plantações (Martínez-Megías *et al.*, 2023). Por exemplo, períodos do ano que se observa um aumento das temperaturas podem maximizar a ação de pragas, ervas daninhas e doenças nas plantações e, conseqüentemente, há o uso mais intensivo de praguicidas (Tudi *et al.*, 2021).

Além disso, temperaturas mais elevadas podem culminar na degradação mais acelerada de substâncias químicas, mas a formação de metabólitos pode novamente aumentar os níveis globais de resíduos (Einsiedel *et al.*, 2024). Evidencia-se, assim, a relevância das condições climáticas na dinâmica dos praguicidas em alimentos, impactando diretamente a frequência e a concentração de detecção nas análises.

7 CONCLUSÃO

7.1 CONCLUSÃO GERAL

A otimização do preparo de amostra apresentado no presente trabalho mostrou-se relevante ao reduzir o gasto de solvente e materiais e, ao mesmo tempo, cumpriu com as exigências de validação do método, apresentando $r^2 \geq 0,99$ para todos os analitos analisados, bem como variações de precisão e exatidão $< 20\%$ e variações $< 15\%$ para as modificações propostas no ensaio de robustez. Nas amostras comercializadas, apenas uma, coletada em fevereiro, apresentou concentração de piraclostrobina entre o LD e o LQ. Ressalta-se a influência da sazonalidade de aplicação de praguicidas no resultado, bem como a importância da continuidade de monitoramento de resíduos em alimentos para a garantia da saúde da população consumidora.

7.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE OS RESULTADOS

Partindo da otimização, validação e aplicação de uma técnica de preparo de amostras baseada na QuEChERS para a determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras de tomate *in natura*, o presente trabalho mostrou resultados satisfatórios. Sendo assim, a otimização proposta possibilitou um preparo mais simples e eficiente, bem como economicamente favorável, visto que objetivou a redução de gastos

materiais. De modo análogo, a validação analítica da técnica modificada atendeu aos critérios estabelecidos pela legislação nacional, com linearidade, sensibilidade, exatidão, precisão, robustez e estabilidade satisfatórias.

Ademais, quando extrapolada para amostras de tomate comercializadas em varejos locais, a ocorrência de resíduos de xenobióticos limitou-se à detecção da piraclostrobina em uma das amostras analisadas, concentração entre o limite de detecção e de quantificação. Entretanto, mesmo sendo observada uma frequência reduzida de resíduos de praguicidas nas amostras adquiridas em pontos comerciais, o resultado da análise reforça a importância de um monitoramento contínuo nesse âmbito, visto que o uso intensivo de defensivos agrícolas no cultivo do tomate é amplamente documentado na literatura e pode representar risco à saúde do consumidor.

Dessa forma, espera-se que o estudo possa contribuir para o avanço de metodologias confiáveis e aplicáveis na rotina laboratorial de controle de resíduos em alimentos. Além disso, ressalta-se a necessidade de novas coletas em diferentes regiões e épocas sazonais, de forma a compreender melhor a variabilidade da presença de praguicidas em alimentos, bem como a relevância do subsídio às estratégias de fiscalização que visam a segurança alimentar da população.

REFERÊNCIAS

- AKTAR, Md Wasin; SENGUPTA, Dwaipayan; CHOWDHURY, Ashim. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdiscip Toxicol**, v. 2, n. 1, p. 1-12, mar. 2009. Disponível em: [10.2478/v10102-009-0001-7](https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7). Acesso em: 18 mar. 2025.
- ANASTASSIADES, Michelangelo *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **J AOAC Int**, v. 86, n. 2, p. 412-431, mar. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>. Acesso em: 11 set. 2023.
- ANDRADE, Graziela Moura *et al.* Determination of pesticide residues in tomato using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 9, set. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000900012>. Acesso em: 18 out. 2025.
- BEYUO, Janet *et al.* The implications of pesticide residue in food crops on human health: a critical review. **Discov Agric**, v. 2, n. 123, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44279-024-00141-z>. Acesso em: 19 out. 2025.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Agrotóxicos em alimentos**. ANVISA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentres/agrotoxicos/agrotoxicos-em-alimentos>. Acesso em: 5 dez. 2025.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Monografias de Agrotóxicos**. ANVISA, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/dadosabertos/informacoes-analiticas/monografias-de-agrotoxicos>. Acesso em: 20 abr. 2025.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Plano Plurianual 2017-2020 – Ciclo 2017/2018**. Brasília: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/3770json-file-1>. Acesso em: 19 mar. 2025.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Plano Plurianual 2023-2025 – Ciclo 2023**. Brasília: ANVISA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/relatorio-2013-para-2023>. Acesso em: 19 mar. 2025.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 jul. 1989. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=469>. Acesso em: 18 out. 2025.

BRASIL. Lei nº 14.785, de 27 de dezembro de 2023. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem, a rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e das embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, de produtos de controle ambiental, de seus produtos técnicos e afins. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 dez. 2023. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2023-2026/2023/lei/l14785.htm. Acesso em: 22 jul. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Manual de Coleta do PNCR/Vegetal** – MAPA / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2024. 57 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de garantia da qualidade analítica: áreas de identidade e qualidade de alimentos e de insumos**. Brasília: MAPA/ACS, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Registros de agrotóxicos concedidos: 2000–2024** [planilha eletrônica]. Brasília, DF: MAPA, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/RegistrosConcedidos200020241.xlsx>. Acesso em: 20 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. **Agrotóxicos na ótica do Sistema Único de Saúde** – Brasília: Ministério da Saúde, v. 2, 2018.

CENTURIÓN, Maria Pasionaria Blanco Peres *et al.* Regulation of pesticide residues in food in the MERCOSUI: a much needed discussion for health surveillance. **Pan American Journal of Public Health**, v. 47, n. 66, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.66>. Acesso em: 18 abr. 2025.

COSTA, Fátima *et al.* Analysis of Residues of Pesticides in Tomato Processed Foods. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 34, n. 11, p. 1734-1742, 2023. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230140>. Acesso em: 02 abr. 2025.

- COSTA, Luiz Filipe *et al.* Assessment of cellular damage with cytome assay among environmental/occupational triazole. **Chemico-Biological Interactions**, v. 383, p. 110689, set. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110689>. Acesso em: 23 abr. 2025.
- CRÉPET, Amélie *et al.* An international probabilistic risk assessment of acute dietary exposure to pesticide residues in relation to codex maximum residue limits for pesticides in food. **Food Control**, v. 121, p. 107563, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107563>. Acesso em: 20 out. 2025.
- DA SILVA, Artur Christian Garcia *et al.* Assessing Agricultural Toxicity in Brazil: Advances and Opportunities in the 21st Century. **Toxicological Sciences**, v. 177, n. 2, out. 2020, p. 316-324. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfaa120>. Acesso em: 18 mar. 2025.
- DASRIYA, Vaishali *et al.* Rapid detection of pesticide in milk, cereal and cereal based food and fruit juices using paper strip-based sensor. **Scientific Reports**, v. 11, n. 18855, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96999-w>. Acesso em: 19 out. 2025.
- DE ANDRADE, Jelmir Craveiro *et al.* Consumption of fruits and vegetables contaminated with pesticide residues in Brazil: A systematic review with health risk assessment. **Chemosphere**, v. 322, p. 138-244, maio 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138244>. Acesso em: 13 abr. 2025.
- DE MORAIS VALENTIM, Juliana Maria Bitencourt. *et al.* Monitoring residues of pesticides in food in Brazil: A multiscale analysis of the main contaminants, dietary cancer risk estimative and mechanisms associated. **Front. Public Health**, v. 11, fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1130893>. Acesso em: 18 mar. 2025.
- DIVYASHREE, J.; TOMAR, Sapna. Analysis of Pesticide Residues in Water, Rice, Fruits and Vegetables. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 33, n. 60B, p. 1462–1473, 2021. Disponível em: <https://journaljpri.com/index.php/JPRI/article/view/6884>. Acesso em: 02 abr. 2025.
- EINSIEDEL, Daniel *et al.* Investigating the correlation of analytical data on pesticide residues in fruits and vegetables with local climatic condition. **Environmental Research**, v. 252, n. 1, p. 118743, 1 jul. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118743>. Acesso em: 04 ago. 2025.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAOSTAT). **Food and Agriculture Data**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>. Acesso em: 13 abr. 2025.

GABOARDI, Shaiane Carla; CANDIOTTO, Luciano Zanetti Pessoa.; PANIS, Carolina. Agribusiness in Brazil and its dependence on the use of pesticides. **Hygiene and Environmental Health Advances**, v. 8, dez. 2023. Disponível em: <https://doi-org.ez37.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.heha.2023.100080>. Acesso em: 13 abr. 2025.

GAOUAR, Zakaria Lotf *et al.* Pesticide residues in tomato crops in Western Algeria. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 14, n. 4, p. 281–286, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19393210.2021.1953156>. Acesso em: 18 mar. 2025.

GOREL-MANAV, Ozun *et al.* Multivariate optimization of a new LC–MS/MS method for the determination of 156 pesticide residues in milk and dairy products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 13, p. 4808-4817, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10540>. Acesso em: 26 jul. 2025.

JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes; ANDRADE, Juliano de Almeida; DE QUEIROZ, Sônia Cláudia do Nascimento. Residues of pesticides in food: a global environmental preoccupation - Focussing on apples. **Quím. Nova**, v. 32, n. 4, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400031>. Acesso em: 12 jul. 2025.

JUNIOR, Juracy Caldeira Lins. Integrated pest management in tomato crops: A strategy for reducing the use of pesticides. **Revista Extensão em Foco**, v.7, n.1, p. 6-22, 2019. Disponível em: <https://periodicos.uniarp.edu.br/index.php/extensao/article/view/2070/1008>. Acesso em: 12 jul. 2025.

LIU, Jie *et al.* Comparison of two extraction methods for the determination of 135 pesticides in *Corydalis Rhizoma*, *Chuanxiong Rhizoma* and *Angelicae Sinensis Radix* by liquid chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry. Application to the roots and rhizomes of Chinese herbal medicines. **Journal of Chromatography B**, v. 1017-1018, p. 233-240, abr. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.03.003>. Acesso em: 17 maio 2025.

LOPES, Carla Vanessa; DE ALBUQUERQUE, Guilherme Souza Cavalcanti. Challenges and strides in the control of pesticide residues in Brazil: 15 years of the Program for Analysis of Pesticide Residues in Food Products. **Cad. Saúde Pública**, v. 37, n. 2, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00116219>. Acesso em: 18 out. 2025.

LU, Xiao-Ying *et al.* Effect of Pretreatment on Detection of 37 Pesticide Residues in *Chrysanthemum indicum*. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2021, n. 1, p. 12, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/8854025>. Acesso em: 20 abr. 2025.

LUZ, Anthony *et al.* The high-production volume fungicide pyraclostrobin induces triglyceride accumulation associated with mitochondrial dysfunction, and promotes adipocyte differentiation independent of PPAR γ activation, in 3T3-L1 cells. **Toxicology**, v. 393, p. 150 - 159, nov. 2017. Disponível em: [10.1016/j.tox.2017.11.010](https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.11.010) Acesso em: 02 ago. 2025.

MAO, Liangang *et al.* Embryonic development and oxidative stress effects in the larvae and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to the strobilurin fungicides, kresoxim-methyl and pyraclostrobin. **Science of The Total Environment**, v. 729, p. 139031, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139031>. Acesso em: 02 ago. 2025.

MARTÍNEZ-MAGÍAS, Claudia *et al.* Influence of climate change and pesticide use practices on the ecological risks of pesticides in a protected Mediterranean wetland: A Bayesian network approach, **Science of The Total Environment**, v. 878, p. 163018, jun. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163018>. Acesso em: 02. ago. 2025.

MASTOVSKÁ, Katerina; LAHOTAY, Steven. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. **J. Chromatography**, v. 1040, n. 2, p. 259-272, jun, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.04.017>. Acesso em: 20 jul. 2025.

MAZZEI, João Roberto Fortes *et al.* Multiresidue Method for Analysis of 240 Pesticides in Soils of Tomato Planting by Ultra Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v. 8, n. 1, p. 34-67, jan. 2021. Disponível em: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/environmental-engineering-en/multiresidue-method>. Acesso em: 01 jul. 2025.

MOREIRA, Sueli Aparecida *et al.* Risk perception and sensory analyses of fresh tomatoes obtained from an open market in São Paulo, Brazil. **Horticultura Brasileira**, v.41, p. e2527, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-0536-2023-e2527>. Acesso em: 18 abr. 2025.

MUNIR, Salman *et al.* From field to table: Ensuring food safety by reducing pesticide residues in food. **Science of the Total Environment**, v. 922, abril 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171382>. Acesso em: 19 mar. 2025.

MUSARURWA, Herbert *et al.* Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 84, p. 103314, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103314>. Acesso em: 20 abr. 2025.

NAGATA, Takuya *et al.* Comparison of adherence tendencies of pesticide residues sprayed on small-, medium-, and large-sized tomatoes. **Journal of Pesticide Science**, v. 46, n. 4, p. 352-359, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1584/jpestics.D21-045>. Acesso em: 02 abr. 2025.

NAZARLOO, Araz Soltani *et al.* Evaluation of Different Models for Non-Destructive Detection of Tomato Pesticide Residues Based on Near-Infrared Spectroscopy. **Sensors**, v. 21, n. 9, p. 3032, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s21093032>. Acesso em: 18 abr. 2025.

NAZISH-ALI, Syeada *et al.* Analysis of pesticide residues in tomatoes from the tomato field and markets of KPK, Pakistan and their potential risk to human health. **Toxicology Reports**, v. 14, n. 102059, jun. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2025.102059>. Acesso em: 19 out. 2025.

NEGUSSIE, Bezuayehu; DUBE, Simisu; NINDI, Mathew Muzi. Multiclass Pesticide Residue Analysis in Fruit and Vegetable Samples by Combining Acetone-Based Salting-Out Assisted Extraction with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. **Journal of Chemistry**, v. 2021, n. 6417093, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/6417093>. Acesso em : 18 out. 2025.

NOUGADERÈE, Alexandre *et al.* Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and young children – Results of the French infant total diet study. **Environment International**, v. 137, p. 105529, abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105529>. Acesso em: 14 abr. 2025.

NUNES, Aline. *et al.* The use of pesticides in Brazil and the risks linked to human health. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 37885-37904, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n4-311>. Acesso em: 18 mar. 2025.

OATES, Liza *et al.* Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. **Environmental Research**, v. 132, p. 105-111, jul. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.021>. Acesso em: 19 mar. 2025.

PARLAKIDIS, Paraskevas *et al.* Removal of Two Triazole Fungicides from Agricultural Wastewater in Pilot-Scale Horizontal Subsurface Flow Constructed Wetlands. **Agronomy**, v. 13, n. 1, p. 265, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/agronomy13010265>. Acesso em: 18 mar. 2025.

PERESTRELO, Rosa *et al.* QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. **Analytica Chimica Acta**, v. 1070, p.1-28, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>. Acesso em: 17 maio 2025.

PRESTES, Osmar *et al.* QuEChERS – um método moderno de preparo de amostra para determinação de multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Quim. Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600046>. Acesso em: 20 abr. 2025.

RATHOD, Harischandra Naik *et al.* Determination of 77 Multiclass Pesticides and Their Metabolites in *Capsicum* and Tomato Using GC-MS/MS and LC-MS/MS.

Molecules, v. 36, n. 7, p. 18-37, mar. 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/molecules26071837>. Acesso em: 13 abr. 2025.

SALAMZADEH, Jamshid; SHAKOORI, Attaollah. Occurrence of multiclass pesticide residues in tomato samples collected from different markets of Iran. **J Environ**

Health Sci Engineer, v. 16, p. 55-63, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/s40201-018-0296-4>. Acesso em: 20 jul. 2025.

SALJOQI, Ahmad-Ur-Rahman *et al.* Pesticide Residue Analysis of three Different Pesticides used against *Helicoverpa Armigera* (Hubner) in Tomato Crop. **Sarhad**

Journal of Agriculture, v. 38, n. 2, p. 448-455, fev. 2022. Disponível em:

<https://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2022/38.2.448.455>. Acesso em: 13 maio 2025.

SINGH, Nitin Kumar *et al.* Fate of pesticides in agricultural runoff treatment systems: Occurrence, impacts and technological progress. **Environmental Research**, v. 237,

n. 2, p. 100-117, nov. 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117100>. Acesso em: 18 mar. 2025.

TUDI, Muyesaier *et al.* Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, v. 18, n. 3, p. 1112, 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>. Acesso em: 05 ago. 2025.

VERGARA-LUIS, Irantzu *et al.* Comparison of conventional and dispersive solid phase extraction clean-up approaches for the simultaneous analysis of tetracyclines

and sulfonamides in a variety of fresh vegetables. **Talanta**, v. 254, p. 124-192, mar.

2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.124192>. Acesso em: 22 jul. 2025.

WAHAB, Shadma *et al.* Advancement and New Trends in Analysis of Pesticide

Residues in Food: A Comprehensive Review. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1106, jul. 2022.

Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11091106>. Acesso em: 20 abr. 2025.

WONDIMU, Kokobe Teshome *et al.* Residue analysis of selected organophosphorus and organochlorine pesticides in commercial tomato fruits by gas chromatography

mass spectrometry. **Heliyon**, v. 9, n. 3, p. e14121, mar. 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14121>. Acesso em: 20 jul. 2025.

WU, Yuanzhao *et al.* Pyraclostrobin induces developmental toxicity and cardiotoxicity through oxidative stress and inflammation in zebrafish embryos. **Environmental**

Pollution, v. 358, p. 124490, out. 2024. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124490>. Acesso em: 02 ago. 2025.

XUE, Jingchuan *et al.* Single Quadrupole Multiple Fragment Ion Monitoring

Quantitative Mass Spectrometry. **Anal Chem.**, v. 93, n. 31, p. 10879-10889, jul. 2021.

Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.1c01246>. Acesso em: 20 out. 2025.

ZIKANKUBA, Vumilia Lwoga *et al.* Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1601544>. Acesso em: 14 abr. 2025.

Zhou, Yao *et al.* Determination of strobilurin fungicides in fruits and their mass fragmentation routes by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Chinese Journal of Chromatography**, v. 35, n. 9, 2017. Disponível em: 10.3724/SP.J.1123.2017.05009 . Acesso em: 18 nov. 2025.