

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL**

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA ESL-PBT MINIATURIZADA  
PARA DETERMINAÇÃO DE FLUOPYRAM EM DIFERENTES  
TIPOS DE SOLOS**

**GLEISON LUIS OLIVEIRA SILVA**



Gleison Luis Oliveira Silva

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA ESL-PBT MINIATURIZADA PARA  
DETERMINAÇÃO DE FLUOPYRAM EM DIFERENTES TIPOS DE SOLOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Agrícola e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério

Montes Claros

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COLEGIADO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA E AMBIENTAL

### ATA DE DEFESA DE MONOGRAFIA / TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC)

Aos onze dias do mês de julho de 2022, às 08h00min, o estudante Gleison Luis Oliveira Silva, matrícula 2017027256, defendeu o Trabalho intitulado "OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA ESL-PBT MINIATURIZADA PARA DETERMINAÇÃO DE FLUOPYRAM EM DIFERENTES TIPOS DE SOLO" tendo obtido a média (98) noventa e oito.

Participaram da banca examinadora os abaixo indicados, que, por nada mais terem a declarar; assinam eletronicamente a presente ata.

**Nota:** 98 (noventa e oito)

**Orientador(a):** Flaviano Oliveira Silvério

**Nota:** 98 (noventa e oito)

**Examinador(a):** Gevany Paulino de Pinho

**Nota:** 98 (noventa e oito)

**Examinador(a):** Lázaro Chaves Sicupira



Documento assinado eletronicamente por **Flaviano Oliveira Silverio, Professor do Magistério Superior**, em 20/07/2022, às 09:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gevany Paulino de Pinho, Professora do Magistério Superior**, em 20/07/2022, às 10:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lázaro Chaves Sicupira, Usuário Externo**, em 20/07/2022, às 11:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1618416** e o código CRC **1676D58B**.

À minha mãe Andreia, por todo seu amor, bondade,  
honestidade e resiliência dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde, sabedoria e por me abençoar sempre.

Agradeço à minha família, em especial a minha mãe Andreia, meus irmãos Danilo e Jilliard, e meu pai José Francisco por sempre me apoiarem, acreditarem em mim, e estarem do meu lado em todos os momentos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr Flaviano Silvério, pelo apoio, ensinamentos e pela oportunidade de realizar este trabalho.

Agradeço aos meus amigos por acreditarem em mim e estarem sempre do meu lado.

Agradeço a todos os colegas e amigos do Laboratório de Pesquisas em Agroquímica, em especial a Ane, pela ajuda, ensinamentos e companheirismo.

Agradeço ao Instituto de Ciências Agrárias da UFMG pela estrutura disponibilizada.

Agradeço ao CNPq, à FAPEMIG, à Capes e a FUMP pelo apoio financeiro.

*“O ser humano é aquilo que a educação faz dele.”*

(Immanuel Kant)

## RESUMO

O fluopyram é um fungicida que também pode ser utilizado como nematicida em áreas agrícolas. Em 2019, o Ministério da Agricultura do Brasil autorizou a comercialização e uso dessa molécula na agricultura brasileira, porém ainda são escassos os estudos envolvendo o desenvolvimento de método de extração e quantificação deste composto em matrizes ambientais como água e solo. Por isso, o presente estudo teve como objetivo a otimização e validação da versão miniaturizada do método de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) para determinação deste composto em amostras de solos arenosos, argilosos e com textura média. Neste estudo, todas as análises foram realizadas por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) no modo de monitoramento de íons selecionados (SIM do inglês *Selected Ion Monitoring*). Os resultados revelaram que as porcentagens de recuperação do analito nos três tipos de solos variaram de 86 a 114% com desvio padrão relativo inferior a 15%. Além de empregar menores quantidades de reagentes e amostra, o método ESL-PBT miniaturizado se apresentou seletivo, preciso, exato, linear na faixa de 3 a 210  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e atingindo limite de quantificação inferior a 3,00  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para os três tipos de solos. O método de extração otimizado e validado foi aplicado em 30 amostras reais coletadas em regiões de cultivo de café, porém não foi detectada nestas amostras nenhum resíduo deste composto.

**Palavras-chave:** fluopyram, ESL-PBT miniaturizada, fungicida, cromatografia.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Espectro de massas do fluopyram na concentração de 5 mg L <sup>-1</sup> no modo <i>scan</i> .....	23
<b>Figura 2</b> - Cromatogramas de extratos da matriz fortificados com fluopyram a 90 µg kg <sup>-1</sup> no solo arenoso. ....	24
<b>Figura 3</b> - Cromatogramas de extratos fortificados com fluopyram a 90 µg kg <sup>-1</sup> e de extratos branco. ....	26
<b>Figura 4</b> - Gráficos do teste de Jack-knife para exclusão de valores críticos.....	28
<b>Figura 5</b> - Gráfico de normalidade dos resíduos da regressão linear. ....	29
<b>Figura 6</b> - Gráficos de independência dos resíduos de regressão pelo teste de Durbin e Watson.....	30
<b>Figura 7</b> - Gráficos de regressão linear para os três tipos de solo. ....	31

<b>Tabela 1</b> - Estrutura química e propriedades físico-químicas do fluopyram.....	13
<b>Tabela 2</b> - Caracterização físico-química dos solos .....	19
<b>Tabela 3</b> - Coordenadas geográficas dos locais de coleta das amostras de solo.....	22
<b>Tabela 4</b> - Recuperação do fluopyram nos testes de otimização em diferentes tipos de solo na concentração de 90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ .....	25
<b>Tabela 5</b> - Porcentagem de recuperação e desvio padrão relativo dos ensaios de exatidão e precisão.....	32
<b>Tabela 6</b> - Efeito de matriz nos diferentes solos.....	33
<b>Tabela 7</b> - Comparativo de resultados deste estudo e outros resultados da literatura para determinação de fluopyram em amostras de solo.....	34

ANOVA	- Análise de variância
ATP	- Adenosina trifosfato
C18	- Octadecilano
CAS	- <i>Chemical Abstracts Service</i>
CG-EM	- Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas
CTC	- Capacidade de troca cátion-iônica
EFSA	- <i>European Food Safety Authority</i>
EMBRAPA	- Empresa brasileira de agropecuária
ESL-PBT	- Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura
EUA	- Estados Unidos da América
HPLC	- <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBAMA	- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
Koc	- Coeficiente de adsorção em solo
Kow	- Coeficiente de partição octanol/água
LC-MS/MS	- <i>High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry</i>
LD	- Limite de detecção
LQ	- Limite de quantificação
MSI	- Modo seletivo de íons
PA	- Para análise
pH	- Potencial hidrogeniônico
PSA	- <i>Primary secondary amine</i>
QuEChERS	- <i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i>
SANTE	- <i>Directorate-General for Health and Food Safety</i>
SIM	- <i>Selected Ion Monitoring</i>

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
3.1 O Fluopyram.....	13
3.2 O Solo.....	15
3.3 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Reagentes.....	18
3.2 Amostras de solos.....	18
3.3 Equipamentos.....	19
3.4 Otimização das condições cromatográficas.....	19
3.5 Otimização do método de extração.....	20
3.6 Validação do método de extração.....	20
3.7 Aplicação em amostra real.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Otimização das condições cromatográficas.....	23
4.2 Otimização do método de extração.....	24
4.3 Validação.....	26
4.3.1 Seletividade.....	26
4.3.2 Limites de detecção e de quantificação.....	27
4.3.3 Linearidade.....	27
4.3.4 Exatidão e precisão.....	32
4.3.5 Efeito de matriz.....	32
4.4 Aplicação em amostra real.....	33
4.5 Comparação com outras metodologias.....	33
5 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	36

## 1 INTRODUÇÃO

O fluopyram, (N-[2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridin-2-yl]ethyl]-2-(trifluoromethyl) benzamide), é um fungicida e nematicida desenvolvido pela Bayer CropScience, o qual apresenta amplo espectro de atuação e pertence ao grupo das benzamidas pirâmidas. Este fungicida atua inibindo a enzima succinato desidrogenase no complexo II da cadeia transportadora de elétrons das mitocôndrias (LABOURDETTE *et al.*, 2011; VELOUKAS e KARAOGLANIDIS, 2012). Apesar da molécula do fluopyram já ser bem conhecida em vários países da Europa, dos Estado Unidos e também da Austrália, no Brasil, este composto teve sua comercialização e uso autorizados somente no ano de 2019.

O Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) classificou este fungicida como um produto muito perigoso ao meio ambiente, o qual pode afetar a atividade microbiológica do solo e, conseqüentemente, na sua produtividade (BRASIL, 2019; ZHANG *et al.*, 2014). Neste sentido, estudo recente tem revelado que este composto é persistente e pode ser detectado no solo em até 80 dias após a aplicação em culturas de pimentão (MATADHA *et al.*, 2021).

Devido a sua recente inserção na agricultura brasileira, ainda não há estudos relacionados às metodologias de extração e detecção deste composto em solos brasileiros. Até onde sabemos, apenas o método QuEChERS (do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) e a extração sólido-líquido foram otimizados e validados para este composto no solo (DONG e HU, 2014; PATEL *et al.*, 2016; MOHAPATRA *et al.*, 2018; CHAWLA *et al.*, 2018; KATNA *et al.*, 2018; MAHDAVI *et al.*, 2021; ZHOU *et al.*, 2021). Embora estas metodologias tenham se mostrado muito eficiente e sensível, é recomendável o desenvolvimento de novos métodos de extração que possam ser mais simples, fáceis de executar, sensíveis, eficientes e baratos. Nesse sentido, trabalhos anteriores mostraram que a extração sólido-líquido com purificação a baixa temperatura (ESL-PBT) tem reunido estas características quando aplicada a outros contaminantes ambientais (PINHO *et al.*, 2010; MESQUITA *et al.*, 2017; SANTANA, SOARES e FARIA, 2018; HELENO *et al.*, 2019). Por isso, recentemente, uma variação miniaturizada desta metodologia foi otimizada e validada para monitorar pesticidas em matrizes biológicas. Neste estudo, foi observado elevadas taxas de recuperação do analito, empregando menor quantidade de reagentes e amostra, além de

manter a principal vantagem dessa metodologia que tem sido a extração e limpeza dos extratos em uma única etapa (SILVA *et al.*, 2021).

Em um estudo anterior, a Empresa Brasileira de Agropecuária (Embrapa) definiu que no Brasil existem, pelo menos, 13 tipos de classes de solos que se diferenciam por suas características químicas, físicas e morfológicas (DOS SANTOS *et al.*, 2018). Essa complexidade da matriz solo pode influenciar na taxa de recuperação de contaminantes químicos, como foi verificado em trabalho anterior de Đurović, Gajić-Umiljendić e Đorđević (2009). Por este motivo, neste estudo foi escolhido três tipos de solos com diferentes texturas e teores de matéria orgânica para garantir a aplicabilidade do método de extração.

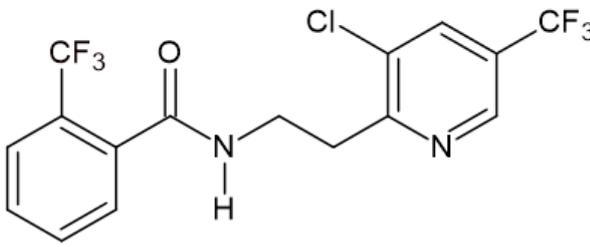
Por isso, este estudo teve por objetivo otimizar e validar a versão miniaturizada da ESL-PBT seguida pela análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) para determinação de fluopyram em solos arenosos, argilosos e com textura média.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.1 O Fluopyram

O fluopyram (N-[2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridin-2-yl]ethyl]-2-(trifluoromethyl) benzamide) é um fungicida e nematicida do grupo das benzamidas pirâmidas usado em sementes e culturas de interesse agrícola. A molécula foi descoberta pela Bayer CropScience em 2001, mas sua distribuição comercial só aconteceu a partir de 2011 (LABOURDETTE *et al.*, 2011). No Brasil, o uso do fungicida só foi aprovado através do Ato nº 62 de 13 de setembro de 2019, para aplicação em culturas de batata, café, cana-de-açúcar, soja, milho e algodão. A Tabela 1 apresenta a estrutura química e propriedades físico-químicas do fluopyram.

**Tabela 1** - Estrutura química e propriedades físico-químicas do fluopyram

Estrutura química	
Fórmula molecular	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> ClF <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O
Número CAS	658066-35-4
Massa molar	396,72 g mol <sup>-1</sup>
Ponto de fusão	117,5 °C
Pressão de vapor	1,2 x 10 <sup>-6</sup> Pa a 20 °C
Solubilidade em água	16 mg L <sup>-1</sup>
Kow	2060
Koc	266 - 460

CAS: *Chemical Abstracts Service*; Kow: Coeficiente de partição octanol/água; Koc: Coeficiente de adsorção em solo.

Fonte: Labourdette *et al.*, 2011; Chawla *et al.*, 2018.

Como mostrado na Tabela 1 o fluopyram possui baixa solubilidade em água e alta solubilidade em solvente orgânico evidenciado pelo alto valor do coeficiente de partição (Kow). Em condições ambientais ele é pouco volátil devido a sua baixa pressão de vapor. O valor do coeficiente de adsorção em solo (Koc) variando de 266 a 460 sugere uma mobilidade moderada do composto no solo.

O fluopyram age inibindo a enzima succinato desidrogenase do complexo II da cadeia transportadora de elétrons das mitocôndrias, impedindo assim a síntese de ATP de fungos que atacam mais de 200 espécies de plantas (VELOUKAS e KARAOGLANIDIS, 2012).

Estudos prévios têm comprovado a eficiência do fluopyram em diversas culturas. Watson, Noling e Desaeger (2020) notaram redução considerável da população de nematoides *Belonolaimus longicaudatus* em cultura de morangos. Em cultura de beterraba Storelli *et al.* (2020) observaram que o fluopyram teve impacto positivo contra podridões radiculares causadas por *Ditylenchus dipsaci*. Vitale, Panebianco e Polizzi (2016) relataram que o uso do fluopyram foi eficiente no controle de *Botrytis cinérea* em uvas. Entretanto outros estudos têm mostrado impactos negativos do fluopyram na fauna e flora.

Robatscher *et al.* (2019) identificaram uma desordem no crescimento de parreiras de uvas da espécie *Vitis vinífera* ocasionado por um metabólito do fluopyram, o 3-Chloro-5-trifluoromethylpyridine-2-carboxylic acid. Em outros estudos, altas doses de fluopyram induziram a formação de tumores na tireoide de ratos machos e de tumores hepáticos em ratos fêmea (ROUQUIÉ *et al.*, 2014; TINWELL *et al.*, 2014).

No solo foi identificado que o fluopyram pode impactar negativamente na atividade microbiológica do mesmo e conseqüentemente na sua produtividade (ZHANG *et al.*, 2014). Além disso o fluopyram é altamente persistente no solo em condições ambientais (EFSA, 2013). Matadha *et al.* (2021) detectou fluopyram no solo 80 dias após a aplicação em cultivo de pimentão.

Para estudo e determinação do fluopyram em solo são necessários métodos de extração e técnicas de análise instrumental. A maioria dos estudos da literatura utilizou o método QuEChERS na extração do composto no solo (DONG e HU, 2014; PATEL *et al.*, 2016; MOHAPATRA *et al.*, 2018; CHAWLA *et al.*, 2018; KATNA *et al.*, 2018; MAHDAVI *et al.*, 2021) mas a extração sólido-líquido também foi aplicada por Zhou *et al.* (2021) e Matadha, Mohapatra e Siddamallaiah (2021). A extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura apesar de muito eficiente ainda não foi aplicada na extração do composto em solos.

A análise instrumental do fluopyram pode ser realizada tanto por cromatografia líquida como por cromatografia em fase gasosa. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas foi descrita em vários estudos (PATEL *et al.*, 2016; CHAWLA *et al.*, 2018; MAHDAVI *et al.*, 2021). A cromatografia em fase gasosa também se mostrou muito sensível na análise do fluopyram e a maioria dos estudos utilizou-a acoplada à espectrometria de massas (DONG e HU, 2014; WEI *et al.*, 2016; KATNA *et al.*, 2018; MATADHA; MOHAPATRA; SIDDAMALLAIAH, 2021) entretanto, Podbielska *et al.* (2017) também conseguiu boa sensibilidade utilizando um cromatógrafo a gás com detector de nitrogênio e fósforo.

### 3.2 O Solo

O solo, segundo Lepsch (2011), pode ser definido como “o material mineral ou orgânico inconsolidado abaixo da superfície da Terra e que serve como meio natural para o crescimento das plantas terrestres”. Ou seja, o solo é de extrema importância pois é nele que as plantas se fixam e retiram nutrientes para sua sobrevivência.

O solo é composto, basicamente, de uma parte mineral, matéria orgânica, água, ar e micro-organismos. Mas a proporção dessas partes e os processos de formação dos solos variam muito de um solo para outro. A parte mineral do solo é constituída de partículas originadas da decomposição de rochas, essas partículas são principalmente argila, silte e areia. A parte orgânica dos solos é originada da decomposição de restos animais e vegetais. (COELHO *et al.*, 2013).

As diferentes proporções de argila, silte e areia irão determinar as diferentes texturas do solo. A textura do solo é importante na previsão do armazenamento de água, suscetibilidade a erosão e na lixiviação de nutrientes e contaminantes (REICHERT, 2007). Outro atributo do solo que pode influenciar nessa previsão é o teor de matéria orgânica (SILVA *et al.*, 2005; CAMPOS, 2010; KLEIN e KLEIN, 2015).

Devido ao manejo inadequado nos últimos anos tem se observado um grande volume de solos degradados. Um solo degradado é aquele que sofreu alterações negativas em suas propriedades físicas, químicas e biológicas, que quase sempre são causadas por ação humana, o que o torna improdutivo (GUERRA e JORGE, 2018).

Uma das formas de degradação do solo está relacionada ao uso excessivo de agrotóxicos. Eles podem ser persistentes e permanecer no solo por longos períodos, podem ser absorvidos pelas plantas e contaminar alimentos e também podem ser transportados pelo escoamento de água da chuva e contaminarem corpos hídricos e animais aquáticos (RODRIGUES, 2003; LOPES e ALBUQUERQUE, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Portanto, faz-se necessário o monitoramento constante de agrotóxicos no solo por técnicas adequadas para se evitar maiores impactos ao meio ambiente.

### **3.3 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura**

A extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura é um método muito utilizado no estudo de contaminantes químicos, como os agrotóxicos, em amostras ambientais e alimentares (PEREIRA, SILVÉRIO e PINHO, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2018).

A ESL-PBT foi otimizada e validada para analisar agrotóxicos em tomate (PINHO *et al.*, 2010) e consiste na adição de água e solvente orgânico miscíveis em temperatura ambiente, mas com diferentes temperaturas de solidificação, na proporção 1:2 em um vial contendo a amostra sólida. Após a agitação o sistema é levado para o congelamento onde ocorre a separação de fases. Assim, o analito de interesse passa para a fase orgânica e os interferentes da matriz ficam presos na fase aquosa congelada (FREITAS *et al.*, 2013; RAMALHO *et al.*, 2019).

Este método tem se destacado por ser simples, rápida, fácil de executar e compatível para uma grande variedade de matrizes e analitos de interesse. Outro ponto interessante da técnica é a extração e limpeza dos extratos em uma única etapa, pois os interferentes da matriz ficam retidos na fase aquosa congelada (HELENO *et al.*, 2019).

Diversos estudos na literatura já aplicaram a ESL-PBT para determinação de analitos em amostras de solo (MESQUITA *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2019; JUNIOR *et al.*, 2022), cenoura (SOUZA *et al.*, 2019), pimentão (HELENO *et al.*, 2019), arroz (ÁVILA *et al.*, 2020) e recentemente uma versão miniaturizada do método foi empregada na determinação do agrotóxico fipronil em cascas de ovos de tartaruga (AMBROSIO *et al.*, 2022).

Dentre os parâmetros otimizados na ESL-PBT estão a fase extratora, modo e tempo de agitação, tempo de congelamento, força iônica e *clean up*. As fases extratoras mais comuns são acetonitrila e uma mistura de acetonitrila/acetato de etila (6,5:1,5 v/v) (RODRIGUES *et*

*al.*, 2018). A agitação pode ser realizada em vórtex, banho ultrassônico, mesa agitadora e agitador orbital por diferentes tempos (PEREIRA, SILVÉRIO e PINHO, 2019; RAMALHO *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2021). O tempo de congelamento varia muito entre estudos, em alguns casos uma hora de congelamento já é suficiente para que ocorra a separação de fases e limpeza do extrato já em outros estudos o tempo necessário foi de seis horas (RAMALHO *et al.*, 2019; AVILA *et al.*, 2020). A adição de sais para aumentar a força iônica em alguns casos pode elevar a porcentagem de recuperação dos analitos de interesse (RODRIGUES *et al.*, 2018). Apesar da ESL-PBT promover a limpeza dos extratos, quando se trabalha com matriz complexa pode ser necessário uma etapa de *clean up* adicional como ocorreu no trabalho de Mesquita *et al.* (2017) que extraía poluentes orgânicos persistentes em lodo de esgoto.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Reagentes**

O padrão de fluopyram com pureza de 98% foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). A solução estoque de Fluopyram a  $100 \text{ mg L}^{-1}$  e as soluções intermediárias e de trabalho nas concentrações 20, 5, 1 e  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas em acetonitrila grau HPLC e armazenadas em frascos âmbar a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Acetonitrila grau HPLC foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha). Acetonitrila grau PA foi adquirida da Êxodo Científica (Sumaré, Brasil). Acetato de etila grau HPLC foi adquirido da Dinâmica (Indaiatuba, Brasil). Sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anidro foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

#### **3.2 Amostras de solos**

Amostras de solos do tipo arenoso, argiloso e de textura média foram coletadas respectivamente na zona rural de Montes Claros ( $16^{\circ}52'47''\text{S } 43^{\circ}50'49''\text{W}$ ), zona rural de Francisco Sá ( $16^{\circ}29'55''\text{S } 43^{\circ}31'35''\text{W}$ ) e em área experimental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais ( $16^{\circ}40'59''\text{S } 43^{\circ}50'16''\text{W}$ ) na profundidade de 30 cm. Os solos foram homogeneizados, peneirados em *tamiz* de 1 mm e armazenados no laboratório em frascos de vidro. A caracterização físico-química dos três solos é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 2** - Caracterização físico-química dos solos

	Solo Arenoso	Solo Argiloso	Solo de textura média
pH em água	6,30	6,93	6,69
Fósforo Mehlich (mg kg <sup>-1</sup> )	1,68	42,00	291,67
Potássio (mg kg <sup>-1</sup> )	10,00	1721,00	201,57
Cálcio (g kg <sup>-1</sup> )	0,08	2,29	1,82
Magnésio (mg kg <sup>-1</sup> )	17,60	694,00	150,33
Alumínio (g kg <sup>-1</sup> )	0,05	8,18	6,03
Soma de bases (cmol dm <sup>-3</sup> )	0,81	0,43	0,22
CTC efetiva (cmol dm <sup>-3</sup> )	1,62	2,25	1,56
Saturação por alumínio (%)	50,00	80,72	85,94
Matéria Orgânica (g kg <sup>-1</sup> )	9,60	118,74	92,23
Areia (%)	64,00	10,00	38,00
Silte (%)	8,00	48,00	30,00
Argila (%)	28,00	42,00	32,00

CTC = Capacidade de troca cátion-iônica

### 3.3 Equipamentos

No preparo das amostras foram utilizados uma balança analítica Shimadzu (São Paulo, Brasil), um vórtex da Scilogex (Rocky Hill, EUA) e uma centrífuga da Kindly (São Paulo, Brasil).

### 3.4 Otimização das condições cromatográficas

As análises dos extratos foram realizadas baseando-se nas condições cromatográficas descritas por Dong e Hu (2014). O tempo de análise cromatográfica foi o único parâmetro otimizado nesta etapa. As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo 7890A acoplado a um espectrômetro de massas modelo 5975C, ambos da Agilent Technologies, e uma coluna capilar SLB-5 MS (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) com fase estacionária 5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,25 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme interno). O gás de arraste utilizado foi o hélio (99,9999%) a um fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura do injetor foi mantida em 260 °C, sendo que 1 µL do extrato foi injetado no modo splitless utilizando o auto injetor CombiPAL. A temperatura inicial da coluna foi 120 °C aumentando a uma taxa de 20 °C min<sup>-1</sup> até 220 °C, permanecendo nesta temperatura por 1 min. Em seguida, a temperatura foi elevada a uma taxa de 5 °C min<sup>-1</sup> até

250 °C. O tempo total da análise cromatográfica foi de 12 min. A temperatura da interface e da fonte de íons foram 280 °C e 230 °C, respectivamente. O detector espectrômetro de massas foi utilizado no modo de ionização por impacto de elétrons a 70 eV e analisador de massas do tipo quadrupolo. Inicialmente analisou-se um padrão de 5 mg L<sup>-1</sup> no modo scan, para obtenção do cromatograma de íons totais, e após a seleção dos íons de maior abundância adotou-se o modo seletivo de íons (MSI). Os íons selecionados foram *m/z* 145, 173, 195, 223.

### **3.5 Otimização do método de extração**

Na otimização do preparo de amostras foram avaliadas duas fases extratoras (acetonitrila e acetonitrila/acetato de etila), a versão tradicional do método ESL-PBT utiliza 4 g de amostra, 4 mL de água e 8 mL de solvente orgânico (PINHO *et al.*, 2010), já a versão miniaturizada deste método empregou 1 g de amostra, 1 mL de água e 2 mL de solvente orgânico.

A metodologia de extração empregada neste estudo foi a que obteve melhores resultados experimentais e está de acordo ao estudo de Silva *et al.* (2021) que miniaturizou a extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para determinação de pesticidas em amostras biológicas. Assim, 1 mL de água destilada foi adicionada a um vial de 5 mL contendo 1 g de solo e homogeneizado em vórtex por 30 s. Adicionou-se 2 mL de acetonitrila e homogeneizou novamente por 30 s. Após 15 min de repouso as amostras foram congeladas à -20°C por 1 h. Em seguida, 1,1 mL da fase orgânica sobrenadante foi transferida para um tubo de centrífuga, de 15 mL, contendo 130 mg de sulfato de sódio anidro e levado ao vórtex por 30 s. Após esta etapa, os tubos contendo os extratos foram centrifugados a 4000 rpm por 5 min, sendo que 800 µL do sobrenadante foi transferido para um vial de injeção e analisado por CG-EM.

### **3.6 Validação do método de extração**

Para a validação do método seguiu-se os critérios recomendados por SANTE (2021). Para isso, foram estudados os parâmetros seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), faixa de linearidade, exatidão, precisão e efeito de matriz.

A seletividade foi estudada comparando cromatogramas de extrato da matriz livre do fluopyram (extrato branco) com cromatogramas do extrato da matriz fortificado com o fluopyram, na concentração de  $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ . A ausência de sinais cromatográficos no tempo de retenção do fluopyram no cromatograma do extrato branco, assegura a seletividade do método.

Os limites de detecção e quantificação foram considerados como sendo a menor concentração de fluopyram na matriz que resultou em um sinal cromatográfico com 3 e 10 vezes a relação sinal ruído no tempo de retenção do fluopyram, respectivamente.

A faixa de linearidade do método foi estudada por meio da curva analítica de calibração empregando extratos da matriz fortificados em triplicata nas concentrações de 2, 10, 50, 90, 130, 170 e  $210 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo arenoso e 3, 10, 50, 90, 130, 170 e  $210 \mu\text{g kg}^{-1}$  para os solos argiloso e textura média. Os dados foram submetidos à análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários e testes estatísticos descritos por Souza e Junqueira (2005).

A exatidão foi estudada com testes de recuperação em triplicata nas concentrações de 2, 90 e  $170 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo arenoso e 3, 90 e  $170 \mu\text{g kg}^{-1}$  para os solos argiloso e textura média. Para a aceitabilidade do método a porcentagem de recuperação deve estar dentro da faixa de 70 a 120%.

A precisão foi estudada com testes de recuperação com sete repetições na concentração de  $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Para a aceitabilidade do método o desvio padrão relativo (DPR) deve ser inferior a 20%.

O efeito de matriz foi estudado, assim como descrito por Chamkasem e Harmon (2016), analisando as curvas analíticas de calibração de extratos fortificados com as curvas analíticas preparadas com o padrão em solvente puro, nas mesmas concentrações. O efeito de matriz foi calculado como a razão entre o coeficiente angular da curva analítica de calibração em extrato da matriz fortificado e o coeficiente angular da curva analítica preparada em solvente, multiplicado por 100, como pode ser observado na equação abaixo.

$$\text{Efeito de Matriz (EM)} = \frac{\alpha_{\text{matriz}}}{\alpha_{\text{solvente}}} \times 100$$

Em que,  $\alpha_{\text{matriz}}$  é o coeficiente angular na curva analítica no extrato da matriz;  $\alpha_{\text{solvente}}$  é o coeficiente angular na curva analítica em solvente.

### 3.7 Aplicação em amostra real

O fluopyram é autorizado, no Brasil, para uso em culturas do café. Por isso, neste estudo, nós coletamos 30 amostras de solos de diferentes regiões produtoras de café da região Sul do Estado de Minas Gerais para se avaliar a presença de traços do fluopyram no solo. A Tabela 3 apresenta as coordenadas geográficas dos locais de coleta das amostras.

**Tabela 3** - Coordenadas geográficas dos locais de coleta das amostras de solo

Amostra	Coordenadas geográficas
1	21°49'54.9"S, 45°27'32.0"W
2	21°49'53.5"S, 45°53'19.7"W
3	21°50'04.2"S, 45°53'30.7"W
4	21°50'06.7"S, 45°53'40.6"W
5	21°49'11.6"S, 45°53'35.5"W
6	21°48'55.6"S 45°54'46.9"W
7	21°48'44.6"S 45°55'03.2"W
8	21°48'27.8"S 45°55'07.1"W
9	21°48'14.9"S 45°55'23.3"W
10	21°48'11.5"S 45°55'33.1"W
11	21°48'10.9"S 45°55'42.3"W
12	21°48'03.8"S 45°55'49.1"W
13	21°48'02.6"S 45°55'59.7"W
14	21°48'04.5"S 45°56'15.1"W
15	21°47'24.2"S 45°56'33.3"W
16	21°47'29.6"S 45°56'27.4"W
17	21°47'23.0"S 45°56'27.0"W
18	21°47'17.8"S 45°56'11.5"W
19	21°47'12.3"S 45°56'04.5"W
20	21°47'14.8"S 45°56'17.7"W
21	21°45'06.5"S 45°56'58.0"W
22	21°45'20.0"S 45°57'15.8"W
23	21°47'43.3"S 45°59'13.5"W
24	21°47'36.9"S 45°59'04.1"W
25	21°47'42.3"S 45°59'03.9"W
26	21°47'48.6"S 45°59'11.8"W
27	21°48'04.5"S 45°59'22.2"W
28	21°48'06.5"S 45°59'26.3"W
29	21°47'34.2"S 45°58'51.5"W
30	21°47'26.0"S 45°58'40.5"W

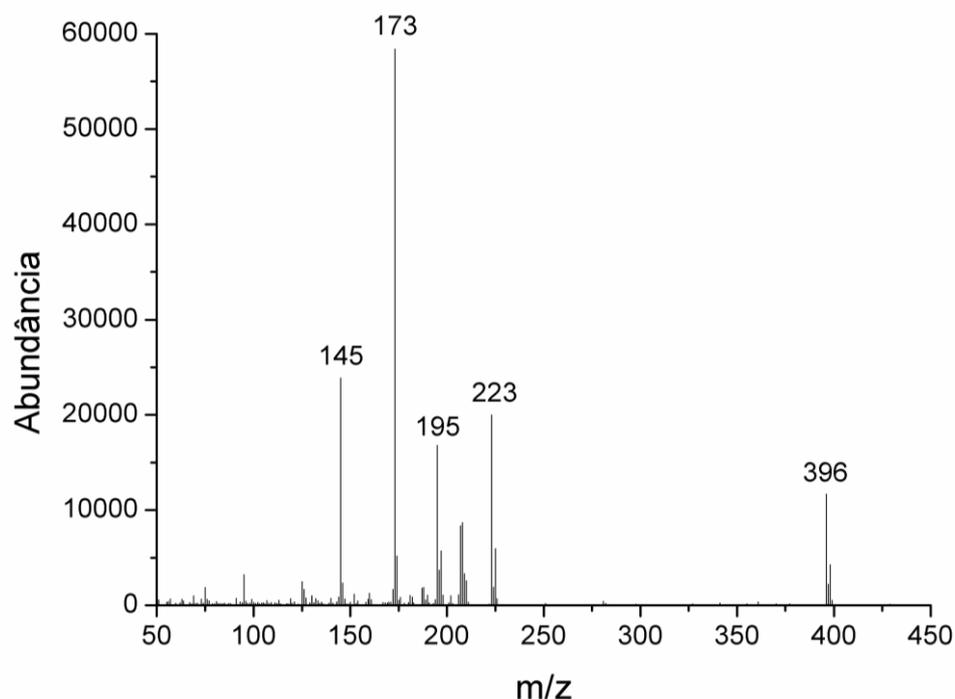
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Otimização das condições cromatográficas

Para a otimização das condições cromatográficas foi analisada uma solução padrão do fluopyram a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  seguindo a condição cromatográfica descrita por Dong e Hu (2014) no modo *scan* visando determinar o tempo de retenção do composto e os íons mais abundantes no espectro de massas como apresentando na Figura 1. O tempo de retenção encontrado foi de 8,86 min e os íons mais abundantes, assim como no artigo citado, foram 173, 145, 223, 195 e 396. Em seguida foram selecionados os íons 145, 173, 195, 223 e realizada análise de uma solução padrão a  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  no modo MSI.

No estudo realizado por Dong e Hu (2014) o tempo de análise foi de 17 min, mas neste estudo o fluopyram foi eluído em 8,86 min e o tempo total de análise foi de 12 min, devido ao *post run* para garantir que nenhum interferente da matriz ficasse retido na coluna cromatográfica.

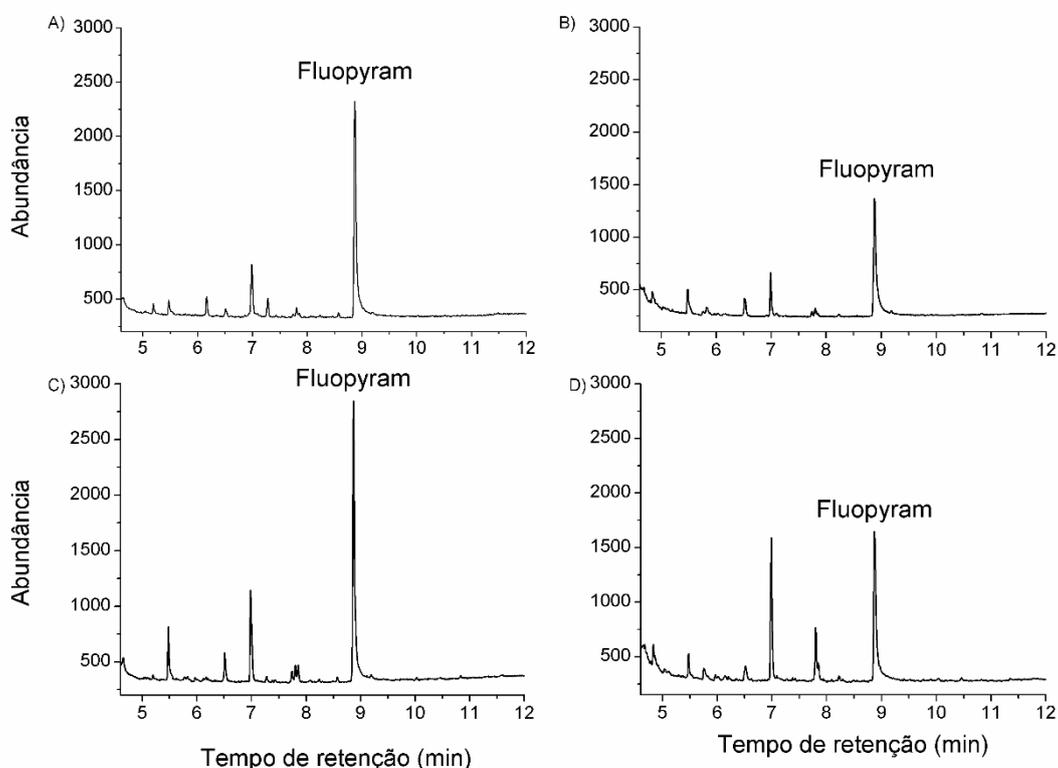
**Figura 1** - Espectro de massas do fluopyram na concentração de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  no modo *scan*.



## 4.2 Otimização do método de extração

A primeira etapa da otimização do método de extração foi definir o melhor método de extração (versão tradicional ou miniaturizada da ESL-PBT) e a melhor fase extratoras (acetonitrila ou acetonitrila:acetato de etila 6,5:1,5 v/v). O cromatograma obtido para cada experimento pode ser observado na Figura 2.

**Figura 2** - Cromatogramas de extratos da matriz fortificados com fluopyram a  $90 \mu\text{g kg}^{-1}$  no solo arenoso.



ESL-PBT tradicional com fase extratora acetonitrila (A); ESL-PBT tradicional com fase extratora acetonitrila + acetato de etila (B); ESL-PBT miniaturizada com fase extratora acetonitrila (C); ESL-PBT miniaturizada com fase extratora acetonitrila + acetato de etila (D).

Como pode ser visto na Figura 1 a intensidade do sinal do fluopyram foi maior empregando a acetonitrila como fase extratora e empregando a ESL-PBT na versão miniaturizada. O uso do acetato de etila na fase extratora além de reduzir a intensidade do sinal do analito estudado proporcionou uma intensificação do efeito de matriz, evidenciado

pelas altas porcentagens de recuperação, como mostra a Tabela 4. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Silva *et al.* (2021), que atingiu taxas de recuperação elevadas empregando acetonitrila na versão miniaturizada da extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura para determinar pesticidas em matrizes biológicas e, Mesquita *et al.* (2017), que utilizou acetonitrila na ESL-PBT para estudar diversos pesticidas em amostras de solo.

**Tabela 4** - Recuperação do fluopyram nos testes de otimização em diferentes tipos de solo na concentração de 90  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Técnica	Fase extratora	Tipo de solo	Recuperação (%)	Desvio padrão relativo (%)
ESL-PBT tradicional	Acetonitrila	Arenoso	119	5
		Argiloso	106	2
		Textura média	118	2
ESL-PBT tradicional	Acetonitrila + Acetato de Etila	Arenoso	133	11
		Argiloso	121	3
		Textura média	131	5
ESL-PBT miniaturizada	Acetonitrila	Arenoso	94	3
		Argiloso	104	6
		Textura média	100	1
ESL-PBT miniaturizada	Acetonitrila + Acetato de Etila	Arenoso	107	5
		Argiloso	109	7
		Textura média	120	0

ESL-PBT = Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura.

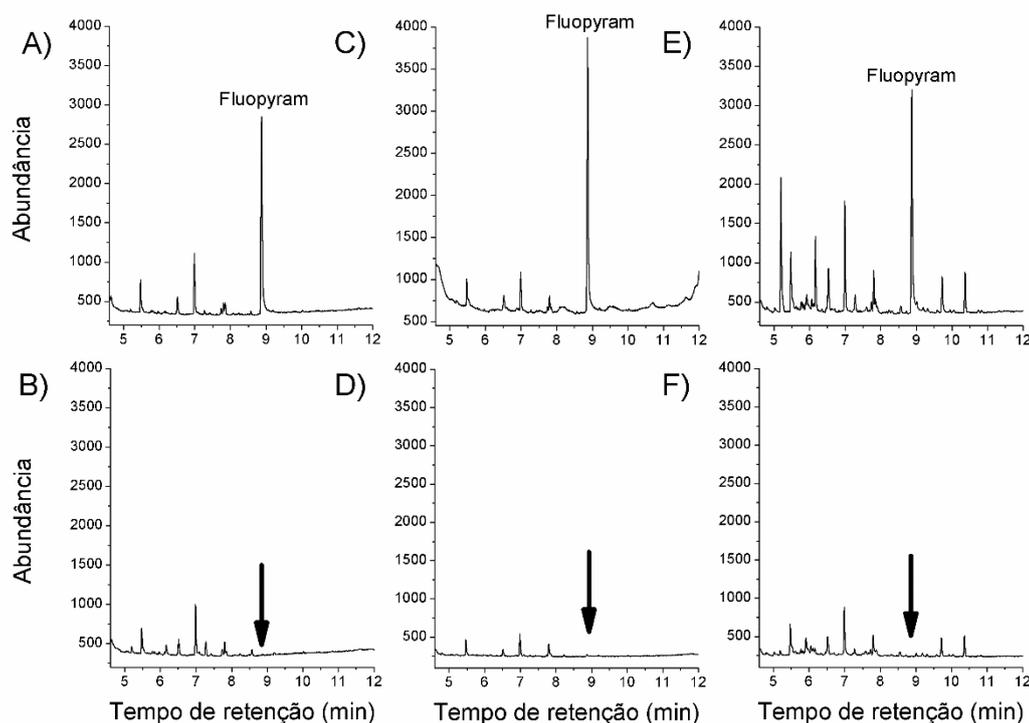
Após evidenciar que a versão miniaturizada da ESL-PBT empregando acetonitrila gerou taxas de recuperação próximo a 100% e desvio padrão relativo inferiores a 6%, seguiu-se para a etapa de validação do método de extração.

## 4.3 Validação

### 4.3.1 Seletividade

A seletividade foi estudada comparando cromatogramas de extratos da matriz livres do fluopyram (extrato branco) com os cromatogramas de extratos da matriz fortificados a  $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Para os três tipos de solos, o método foi considerado seletivo pois não houve picos de interferentes da matriz no mesmo tempo de retenção do fluopyram, como pode ser observado na Figura 3.

**Figura 3** - Cromatogramas de extratos fortificados com fluopyram a  $90 \mu\text{g kg}^{-1}$  e de extratos branco.



Cromatograma do extrato de solo arenoso fortificado (A); cromatograma do extrato branco do solo arenoso (B); cromatograma do extrato de solo argiloso fortificado (C); cromatograma do extrato branco do solo argiloso (D); cromatograma do extrato de solo de textura média fortificado (E); cromatograma do extrato branco do solo de textura média (F).

### 4.3.2 Limites de detecção e de quantificação

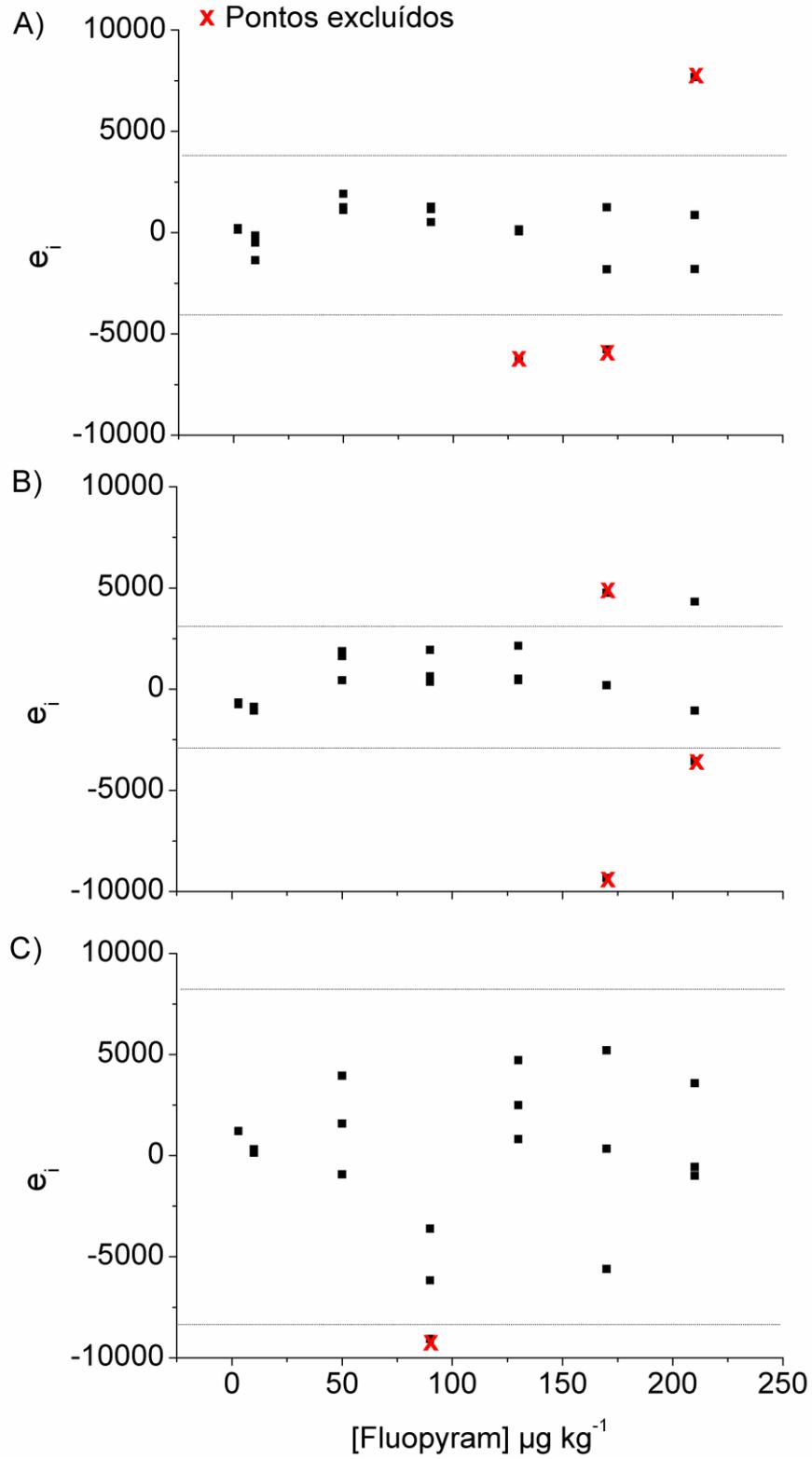
O limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram considerados como a menor concentração que gerasse um sinal com área que correspondia a três e dez vezes a área do sinal do ruído no tempo de retenção do fluopyram. Neste estudo atingiu-se o LD de  $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$  para os três solos e o LQ de  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo arenoso e de  $3 \mu\text{g kg}^{-1}$  para os solos argiloso e de textura média. Os valores de LD e LQ encontrados são inferiores ao de outros estudos já publicados como os de Mahdavi *et al.* (2021), Dong e Hu (2014) e Katna *et al.* (2018) que encontraram respectivamente 8,3, 10 e  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  como limite de quantificação. No Brasil ainda não existe legislação que determine o limite máximo de resíduo do fluopyram em solo, mas os resultados obtidos revelaram que os valores de LD e LQ foram inferiores aos limites máximos de resíduos estabelecido para agrotóxicos pela União Europeia para diversos alimentos de origem vegetal, como por exemplo banana, maçã e melancia com limites de resíduos de 800, 600 e  $400 \mu\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente (EFSA, 2019).

### 4.3.3 Linearidade

A curva de linearidade foi preparada em extratos da matriz fortificados com fluopyram em triplicata em concentrações que variavam de  $2 \mu\text{g kg}^{-1}$  a  $210 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo arenoso e de  $3 \mu\text{g kg}^{-1}$  a  $210 \mu\text{g kg}^{-1}$  para os solos argiloso e de textura média. Os parâmetros estatísticos da regressão linear foram realizados pelo método dos mínimos quadrados ordinários seguindo procedimentos descritos por Souza e Junqueira (2005).

Pelo teste de Jack-knife foram identificados e excluídos os *outliers* (valores críticos) como apresentado na Figura 4. No solo arenoso excluiu-se três valores críticos para que os dados atendessem aos critérios estatísticos. No solo argiloso três valores críticos foram excluídos para que se atendessem aos critérios estatísticos. Já no solo de textura média somente um valor foi excluído.

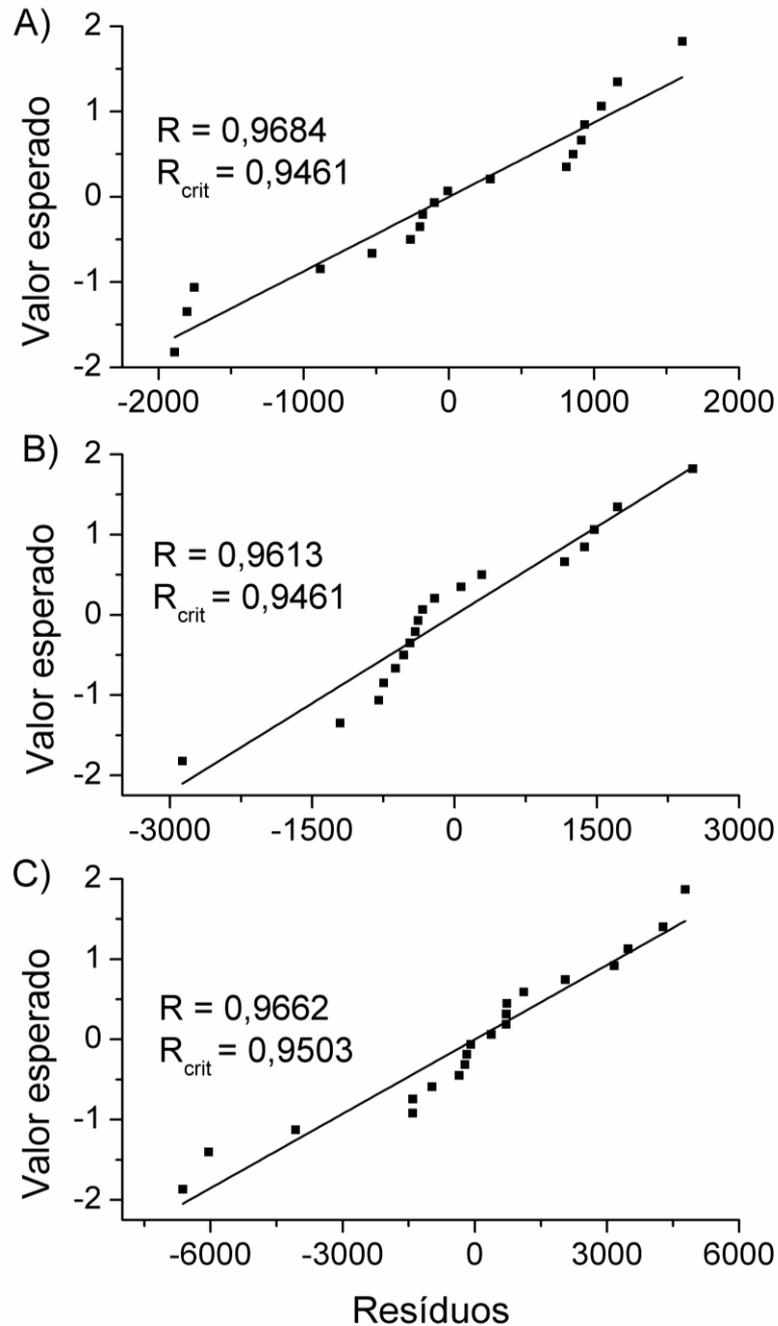
**Figura 4** - Gráficos do teste de Jack-knife para exclusão de valores críticos.



Solo arenoso (A); Solo argiloso (B); Solo de textura média (C);  $e_i$  = resíduo da regressão.

A normalidade dos resíduos da regressão foi avaliada pelo teste de Ryan-Joiner. Os resíduos da regressão nos três solos seguiram a normalidade a 5% de significância como mostrado na Figura 5.

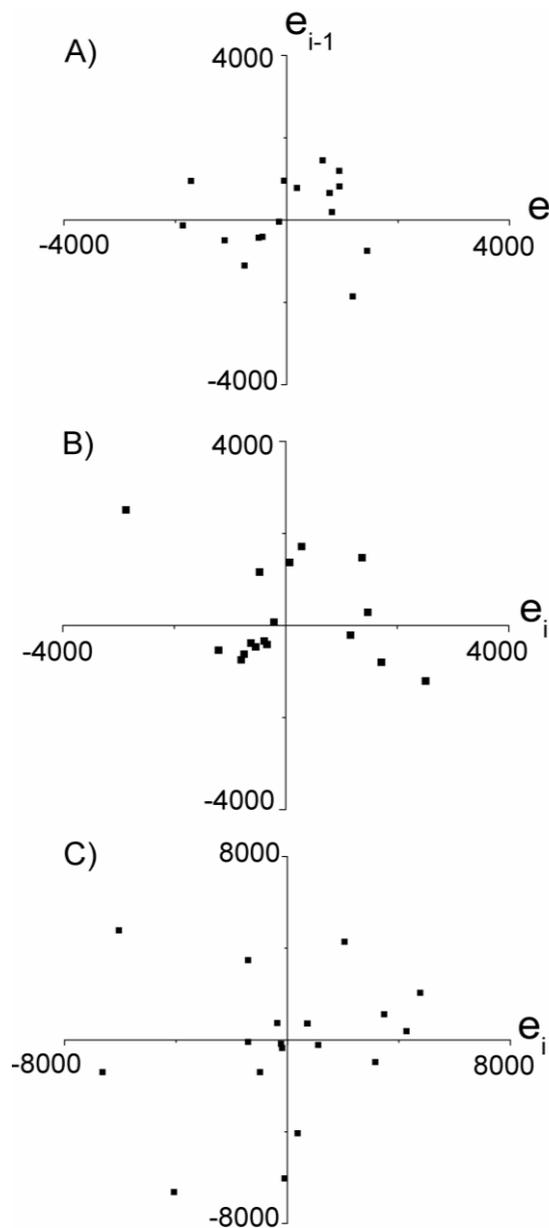
**Figura 5** - Gráfico de normalidade dos resíduos da regressão linear.



Solo arenoso (A); Solo argiloso (B); Solo de textura média (C).

O teste de Brown e Forsythe confirmou a homoscedasticidade e a distribuição homogênea dos resíduos da regressão. A independência dos resíduos foi estudada pelo teste de Durbin e Watson. Para o nível de 5% de significância o teste apontou que não há autocorrelação dos resíduos e estes estão distribuídos aleatoriamente nos quatro quadrantes como pode ser observado na Figura 6.

**Figura 6** - Gráficos de independência dos resíduos de regressão pelo teste de Durbin e Watson.

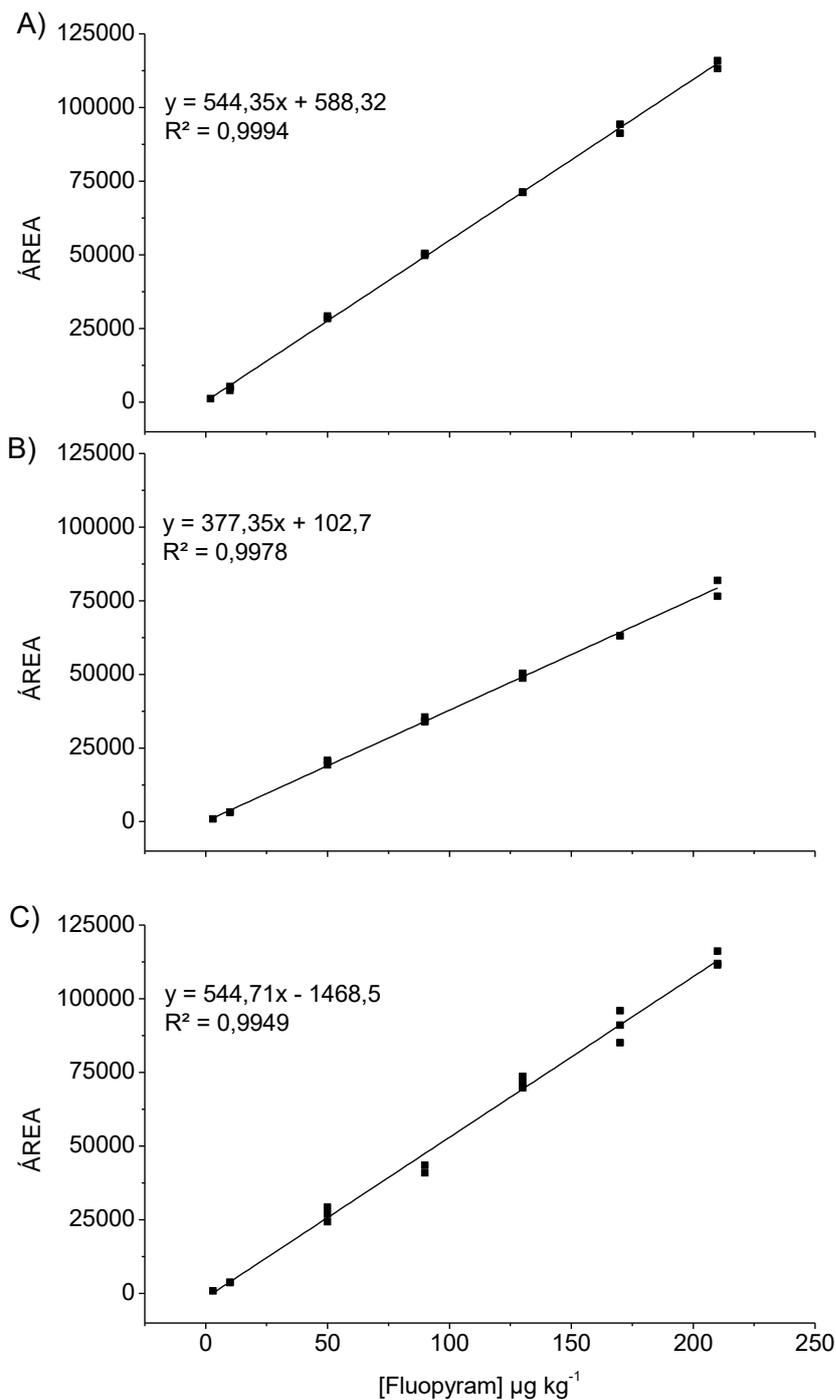


Solo arenoso (A); Solo argiloso (B); Solo de textura média (C).

A análise de variância (ANOVA) indicou que a regressão é significativa e que não há desvio de linearidade para o nível de significância de 5% para os três tipos de solo. Portanto o método proposto foi considerado linear.

A Figura 7 apresenta os gráficos das curvas de linearidade para os três tipos de solo.

**Figura 7** - Gráficos de regressão linear para os três tipos de solo.



Solo arenoso (A); Solo argiloso (B); Solo de textura média (C).

#### 4.3.4 Exatidão e precisão

A exatidão foi estudada com testes de recuperação em triplicata nas concentrações de 2, 90 e 170  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo arenoso e 3, 90 e 170  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para os solos argiloso e textura média. A precisão foi estudada com testes de recuperação com sete repetições na concentração de 90  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Porcentagem de recuperação e desvio padrão relativo dos ensaios de exatidão e precisão.

Amostra	Recuperação (%)			
	2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ *	3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ *	90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ **	170 $\mu\text{g kg}^{-1}$ *
Solo arenoso	89,0 $\pm$ 12,0	-	93,0 $\pm$ 15,0	111,0 $\pm$ 4,0
Solo argiloso	-	96,0 $\pm$ 8,0	86,0 $\pm$ 13,0	109,0 $\pm$ 8,0
Solo de textura média	-	88,0 $\pm$ 8,0	106,0 $\pm$ 10,0	114,0 $\pm$ 10,0

\*Experimento realizado com três repetições; \*\*Experimento realizado com sete repetições.

O método foi considerado exato por apresentar recuperações médias dentro da faixa de 70 a 120% e, preciso por apresentar desvio padrão relativo inferior a 20% assim como recomendado por SANTE (2021).

#### 4.3.5 Efeito de matriz

O efeito de matriz foi estudado com as curvas de calibração preparadas em extratos da matriz fortificados com fluopyram e soluções padrão preparadas em solvente, nas mesmas concentrações, como apresentado anteriormente. A Tabela 6 apresenta os coeficientes angulares das curvas de calibração preparadas em solvente e em extratos dos três solos e o efeito de matriz calculado.

**Tabela 6** - Efeito de matriz nos diferentes solos

Amostra	Coefficiente angular na curva em solvente	Coefficiente angular na curva em extrato da matriz	Efeito de matriz (%)
Solo arenoso	550,70	545,91	99,13
Solo argiloso	548,40	377,35	68,81
Solo de textura média	548,40	544,70	99,33

Nos solos arenoso e de textura média a redução na resposta analítica causada pelo efeito de matriz foi inferior a 1% (99,13 e 99,33%) o que significa que a matriz não apresentou uma interferência significativa na resposta analítica do método proposto. Já no solo argiloso, o efeito de matriz gerou supressão de 31% na resposta analítica. Isso pode ter acontecido pelo fato de o solo argiloso ter maior teor de matéria orgânica, como apresentado na Tabela 2. Estudo de Sousa *et al.* (2012), que avaliou o efeito de matriz de 11 pesticidas em solo, mostrou que a matéria orgânica do solo possui moléculas de alta massa molecular que podem formar sítios ativos no *liner* de injeção no qual os analitos podem se ligar e gerar uma supressão da resposta analítica.

#### 4.4 Aplicação em amostra real

Na aplicação em amostra real foram analisadas 30 amostras de solos de cafezais da região Sul do Estado de Minas Gerais, entretanto em nenhuma destas amostras foi detectado traços do fluopyram. Este resultado, pode estar associado à sua recente aprovação no país e ainda não ter sido aplicado nas culturas ou ele pode ter sido usado, mas foi degradado em condições ambientais assim como ocorreu nos estudos de Mohapatra *et al.* (2018) e Matadha *et al.* (2021).

#### 4.5 Comparação com outras metodologias

A Tabela 7 apresenta um comparativo entre os resultados deste estudo com outros trabalhos já publicados.

**Tabela 7** - Comparativo de resultados deste estudo e outros resultados da literatura para determinação de fluopyram em amostras de solo.

Método	Técnica de análise	Volume de solvente orgânico	de Clean up	Porcentagem de recuperação	LQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Referência
QuEChERS	LC-MS/MS	20 mL	C18	80,6 – 93,5%	8,3	Mahdavi <i>et al.</i> (2021)
QuEChERS	CG-EM	10 mL	PSA	88,6 – 98,0%	10	Dong e Hu (2014)
QuEChERS	CG-EM	20 mL	PSA	73,6 – 103,6%	10	Mohapatra <i>et al.</i> (2018)
QuEChERS	LC-MS/MS	20 mL	PSA	86,6 – 92,7%	50	Chawla <i>et al.</i> (2018)
QuEChERS	CG-EM	20 mL	PSA	96,0 – 107,0%	50	Katna <i>et al.</i> (2018)
<b>ESL-PBT miniaturizada</b>	<b>CG-EM</b>	<b>2 mL</b>		<b>86,0 – 114,0%</b>	<b>2 e 3</b>	<b>Este estudo</b>

QuEChERS = *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*; ESL-PBT = Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura; LC-MS/MS = Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em Tandem; CG-EM = Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; C18 = octadecilano; PSA = Amina primária secundária; LQ = Limite de quantificação.

Como pode ser observado na Tabela 7, a versão miniaturizada da ESL-PBT otimizada e validada para amostras de solo apresentou menor consumo de solvente para extração, não foi necessário o uso de sorventes para *clean up* e atingiu limites de quantificação 25 vezes menor em relação aos trabalhos já publicados na literatura. Por isso, o método otimizado e validado neste trabalho se mostrou de fácil execução, com poucas etapas, eficiente e sensível.

## **5 CONCLUSÃO**

Neste estudo, foi otimizado e validado uma versão miniaturizada da ESL-PBT seguida pela análise por CG-EM no modo SIM, para determinação do fluopyram em três tipos de solos. Além do uso reduzido de solvente e de amostra, este método de extração se apresentou rápido, fácil de executar e sensível. A ESL-PBT na versão miniaturizada apresentou taxas de recuperações elevadas e reduzido desvio padrão relativo, revelando ser eficiente e confiável. O valor de LQ atingido neste estudo foi inferior ao dos estudos já publicados e o da Legislação Europeia. Por tudo isso, a versão miniaturizada da ESL-PBT é uma alternativa adequada para o monitoramento do fluopyram em diferentes tipos de solos.

## REFERÊNCIAS

AMBROSIO, I. S. *et al.* Development and validation of a solid–liquid extraction with low-temperature partitioning method for the determination of fipronil in turtle eggshell. **Microchemical Journal**, v. 178, p. 1-7, 2022.

BRASIL. Ato nº 62, de 13 de setembro de 2019. Brasília: **DOU Diário Oficial da União**. Publicado no D.O.U de 13 de setembro de 2019.

CAMPOS, M. C. C. Atributos dos solos e riscos de lixiviação de metais pesados em solos tropicais. **Ambiência**, v. 6, n. 3, p. 547-565, 2010.

CHAMKASEM, N.; HARMON, T. Direct determination of glyphosate, glufosinate, and AMPA in soybean and corn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 408, n. 18, p. 4995-5004, 2016.

CHAWLA, S. *et al.* Behaviour and risk assessment of fluopyram and its metabolite in cucumber (*Cucumis sativus*) fruit and in soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 12, p. 11626-11634, 2018.

COELHO, M. R. *et al.* Solos: tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas. In: **Embrapa Solos-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. MOREIRA, F. M. S.; CARES, J. E.; ZANETTI, R.; STUMER, S. L. O ecossistema o solo: componentes, relações ecológicas e efeitos na produção vegetal. Lavras, MG: UFLA, 2013., 2013.

DA SILVA, M. R. F. *et al.* Effect of the Incorporation of Sugarcane Bagasse Biochar in Leaching and Bioavailability of Clomazone in Soil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 2386-2394, 2019.

DE ÁVILA, M. B. R. *et al.* A Simple and Efficient Optimized Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Partition Procedure for Dissipation and Translocation Study of Pesticide Residues in Rice Grains. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, p. 1991-1999, 2020.

DE PINHO, G. P. *et al.* Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. **Food chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251-256, 2010.

DE SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. **Analytica Chimica Acta**, v. 552, n. 1-2, p. 25-35, 2005.

DONG, B.; HU, J. Dissipation and residue determination of fluopyram and tebuconazole residues in watermelon and soil by GC-MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 94, n. 5, p. 493-505, 2014.

DOS SANTOS, H. G. *et al.* **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 5º edição, Brasília, DF: Embrapa, 2018.

ĐUROVIĆ, R.; GAJIĆ-UMILJENDIĆ, J.; ĐORĐEVIĆ, T. Effects of organic matter and clay content in soil on pesticide adsorption processes. **Pesticidi i fitomedicina**, v. 24, n. 1, p. 51-57, 2009.

EUROPEAN COMMISSION. Guidance document on pesticide analytical methods for risk assessment and post-approval control and monitoring purposes. SANTE/2020/12830-rev. 1, p. 1-50, 24 February 2021.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) *et al.* Review of the existing maximum residue levels for fluopyram according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. **EFSA Journal**, v. 18, n. 4, p. 1-125, 2020.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluopyram. **EFSA Journal**, v. 11, n. 4, p. 1-76, 2013.

GUERRA, A. J. T.; JORGE, M. C. O. **Degradação dos solos no Brasil**. Editora Bertrand Brasil, 1ª edição, 320 p., 2018.

HELENO, F. F. *et al.* Determination of fungicides in bell pepper using solid-liquid extraction with low temperature partitioning. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 79-84, 2019.

JÚNIOR, L. H. B. *et al.* Sulfentrazone mobility in columns filled with ultisol and oxisol horizons. **Environmental Earth Sciences**, v. 81, n. 3, p. 1-24, 2022.

KATNA, S. *et al.* Residue dynamics and risk assessment of Luna Experience®(fluopyram+tebuconazole) and chlorpyrifos on French beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 27, p. 27594-27605, 2018.

KLEIN, C.; KLEIN, V. A. Estratégias para potencializar a retenção e disponibilidade de água no solo. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 1, p. 21-29, 2015.

LABOURDETTE, G. *et al.* Fluopyram: efficacy and beyond on problematic diseases. In: **Modern fungicides and antifungal compounds VI. 16th International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Germany, April 25-29, 2010**. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft eV Selbstverlag, 2011. p. 75-80.

LEPSCH, I. F. **19 lições de pedologia**. 2ª edição. São Paulo: Oficina de textos, 2011.

LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.

MAHDAVI, V. *et al.* Analysis of Alternative New Pesticide (Fluopyram, Flupyradifurone, and Indaziflam) Residues in Pistachio, Date, and Soil by Liquid Chromatography Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 30, n. 4, p. 373-383, 2021.

- MATADHA, N. Y. *et al.* Persistence and dissipation of fluopyram and tebuconazole on bell pepper and soil under different environmental conditions. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 14, p. 2408-2427, 2021.
- MATADHA, N. Y.; MOHAPATRA, S.; SIDDAMALLAIAH, L. Distribution of fluopyram and tebuconazole in pomegranate tissues and their risk assessment. **Food Chemistry**, v. 358, p. 1-8, 2021.
- MESQUITA, T. C. R. *et al.* Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low temperature. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 53, n. 3, p. 199-206, 2018.
- MIRANDA, A. A. C.; MELO, L. F.; ARAÚJO, A. E. Impactos dos agrotóxicos na saúde do solo e humana: uma revisão. In: **CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS COINTER-PDVAGRO**. 2017.
- MOHAPATRA, S. *et al.* Dissipation kinetics and risk assessment of fluopyram and tebuconazole in mango (*Mangifera indica*). **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 98, n. 3, p. 229-246, 2018.
- OLIVEIRA, J. L. *et al.* Usos, efeitos e potencial tóxico dos agrotóxicos na qualidade do solo. **Agrarian Academy**, v. 5, n. 09, p. 454-457, 2018.
- PATEL, B. V. *et al.* Residue decline and risk assessment of fluopyram+ tebuconazole (400SC) in/on onion (*Allium cepa*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 20, p. 20871-20881, 2016.
- PEREIRA, N. G. F.; SILVÉRIO, F. O.; PINHO, G. P. Optimisation, validation and application of the solid-liquid extraction with low-temperature purification followed by gas chromatography-mass spectrometry for determination of phthalates in sewage sludge. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 100, n. 9, p. 968-980, 2020.
- PODBIELSKA, M. *et al.* Behavior of fluopyram and tebuconazole and some selected pesticides in ripe apples and consumer exposure assessment in the applied crop protection framework. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 7, p. 1-11, 2017.
- REICHERT, J. M. *et al.* Fundamentos da ciência do solo. **Universidade Federal de Santa Maria**, 169 p. 2007.
- RODRIGUES, A. A. Z. *et al.* The efficacy of washing strategies in the elimination of fungicide residues and the alterations on the quality of bell peppers. **Food Research International**, v. 147, p. 1-13, 2021.
- RODRIGUES, G. S. Agrotóxicos e contaminação ambiental no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente**, 2003.

RODRIGUES, R. P. *et al.* Otimização da extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para determinação de carbofurano em cucurbita pepo 1 (“abobrinha”) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 41, p. 213-218, 2018.

SANTANA, E. T. D.; SOARES, D. F.; FARIA, A. M. Development of a methodology for the determination of pesticide residues in Caja-Manga pulp (*Spondias dulcis* L.) using solid-liquid extraction with low-temperature partitioning. **Journal of Chemistry**, v. 2018, p. 1-10, 2018.

SILVA, M. A. S. *et al.* Atributos físicos do solo relacionados ao armazenamento de água em um Argissolo Vermelho sob diferentes sistemas de preparo. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 544-552, 2005.

SILVA, T. L. R. *et al.* Miniaturized liquid-liquid extraction with low-temperature partitioning technique (LLE/LTP) for pesticide analysis in a biological matrix by gas chromatography. **Química Nova**, v. 44, p. 804-808, 2021.

SOUZA, L. P. *et al.* Difenconazole and linuron dissipation kinetics in carrots under open-field conditions. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 168, p. 479-485, 2019.

STORELLI, A. *et al.* Evaluation of fluopyram for the control of *Ditylenchus dipsaci* in sugar beet. **Journal of Nematology**, v. 52, p. 1-10, 2020.

VELOUKAS, T.; KARAOGLANIDIS, G. S. Biological activity of the succinate dehydrogenase inhibitor fluopyram against *Botrytis cinerea* and fungal baseline sensitivity. **Pest Management Science**, v. 68, n. 6, p. 858-864, 2012.

VITALE, A.; PANEBIANCO, A.; POLIZZI, G. Baseline sensitivity and efficacy of fluopyram against *Botrytis cinerea* from table grape in Italy. **Annals of Applied Biology**, v. 169, n. 1, p. 36-45, 2016.

WATSON, T. T.; NOLING, J. W.; DESAEGER, J. A. Fluopyram as a rescue nematicide for managing sting nematode (*Belonolaimus longicaudatus*) on commercial strawberry in Florida. **Crop Protection**, v. 132, p. 1-5, 2020.

WEI, P. *et al.* Metabolic and dynamic profiling for risk assessment of fluopyram, a typical phenylamide fungicide widely applied in vegetable ecosystem. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Response of microbial community to a new fungicide fluopyram in the silty-loam agricultural soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 108, p. 273-280, 2014.

ZHOU, J. *et al.* Study on environmental behaviour of fluopyram in different banana planting soil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2021.