

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE GOIÁS
CÂMPUS ITUMBIARA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

EDUARDO MOREIRA SILVA

**FIPRONIL EM AÇÚCAR: OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E
APLICAÇÃO DA EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO A
BAIXA TEMPERATURA**

ITUMBIARA-GO

2023



INSTITUTO FEDERAL
Goiás

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAÇÃO
NO REPOSITÓRIO DIGITAL DO IFG - ReDi IFG**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Digital (ReDi IFG), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IFG.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| ☐ Tese | ☐ Artigo Científico |
| ☐ Dissertação | ☐ Capítulo de Livro |
| ☐ Monografia – Especialização | ☐ Livro |
| ☒ TCC - Graduação | ☐ Trabalho Apresentado em Evento |
| ☐ Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Eduardo Moreira da Silva.

Matrícula: 20181040030239.

Título do Trabalho: Fipronil em açúcar: otimização, validação e aplicação da extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura.

Autorização - Marque uma das opções

1. () Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso aberto);
2. (**X**) Autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG somente após a data 18/08/2025 (Embargo);
3. () Não autorizo disponibilizar meu trabalho no Repositório Digital do IFG (acesso restrito).

Ao indicar a opção **2 ou 3**, marque a justificativa:

- () O documento está sujeito a registro de patente.
(**X**) O documento pode vir a ser publicado como livro, capítulo de livro ou artigo.
() Outra justificativa: _____

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- i. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- ii. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- iii. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Itumbiara-GO, 18/08/2023.

Local Data

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

EDUARDO MOREIRA SILVA

**FIPRONIL EM AÇÚCAR: OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E
APLICAÇÃO DA EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO A
BAIXA TEMPERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Banca examinadora do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Câmpus Itumbiara, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Simone Machado Goulart.

Coorientador(a): Msc. Adilson Correa Goulart.

ITUMBIARA-GO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S586f Silva, Eduardo Moreira
Fipronil em açúcar: otimização, validação e aplicação da
extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura.
Eduardo Moreira Silva. -- Itumbiara, 2023.
33p. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Licenciado em Química) -
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás,
Câmpus Itumbiara, 2023.

Orientadora: Prof^a. Dra. Simone Machado Goulart.
Coorientador: MSc. Adilson Correia Goulart.

1. Açúcar - Análise. 2. Fipronil - Agrotóxico. 3. Cana
-de-açúcar - Cultivo. I. Título. II. Goulart, Simone Machado.
III. Goulart, Adilson Correia. IV. Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

CDD 633.61

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Biblioteca Maria Gabriela Pacheco Pardey / Câmpus Itumbiara
Bibliotecária: Rosiane Gonçalves de Lima CRB1/1684

EDUARDO MOREIRA SILVA

**FIPRONIL EM AÇÚCAR: OTIMIZAÇÃO, VALIDAÇÃO E APLICAÇÃO DA
EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO A BAIXA TEMPERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia de Goiás (IFG), Câmpus Itumbiara,
como parte dos requisitos para a conclusão do Curso
de Licenciatura em Química e obtenção do título de
licenciado em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Aprovada em 26 de junho de 2023.



Prof(a). Dra. Simone Machado Goulart
Orientador(a)
IFG – Câmpus Itumbiara



Prof. Me. Leonardo Magalhães de Castro
IFG – Câmpus Itumbiara



Ma. Elizabete de Paula Pacheco
IFG – Câmpus Itumbiara

Itumbiara - GO
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus por ser o meu refúgio e o meu guia até aqui, toda honra e glória seja para o Senhor, aos meus pais Edivania e Clésio por sempre me apoiar na vida e nos estudos, também a minha esposa Cássia pela compreensão e por sempre estar ao meu lado durante o período deste projeto.

A toda minha família por acreditar em mim.

Aos meus colegas de curso pelo companheirismo ante as dificuldades acadêmicas, Erica Rost, Diuly Pereira Tófolo, Igor Silverio Dias, Mario José Alves, Jordana Gomes da Paixão, Arthur Alves Silva, Rangel Ponciano.

Em especial, aos meus amigos Meirielly Maria Cardoso Santos e João Paulo Moreira que sempre me motivaram e me proporcionaram os melhores momentos durante esta caminhada.

Aos meus orientadores Dra. Simone Machado Goulart e Msc. Adilson Correa Goulart, a quem agradeço profundamente por aceitarem a condução deste projeto.

Aos meus amigos Kaique Kaue e Reginaldo Pereira que sempre me incentivaram e me deram o suporte necessário para dar início a minha caminhada acadêmica.

Ao Professor Leonardo, pelas sugestões e questionamentos que foram necessários para o início deste trabalho.

A todos os professores que com profissionalismo se comprometeram a ofertar um ensino de qualidade, que contribuirá para minha vida pessoal e profissional.

E por fim, ao Instituto Federal de Goiás – Câmpus Itumbiara, pela infraestrutura oferecida e a todos os profissionais do instituto que contribuíram de forma direta ou indireta para minha capacitação.

RESUMO

O açúcar cristal é um dos produtos mais consumidos em todo o Brasil. Este produto resulta do caldo da cana-de-açúcar seguido de vários processos de cozimento. No cultivo da cana-de-açúcar, são utilizados vários tipos de implementação agrícola e diversos produtos químicos como, por exemplo, agrotóxicos. Um dos agrotóxicos mais utilizados no processo de cultivo da cana-de-açúcar é o fipronil. Somente no estado de Goiás, foram utilizadas mais de 198 toneladas deste princípio ativo. Apesar dos vários processos industriais que ocorrem na produção do açúcar cristal, resíduos de fipronil podem chegar até o produto final e isso ocorre devido às propriedades físico-químicas do fipronil. Desta forma, esta pesquisa tem como objetivo otimizar e validar um método analítico que seja capaz de identificar e quantificar o princípio ativo fipronil em amostras de açúcar cristal. O método escolhido foi a extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura seguida de análise em cromatógrafo a líquido de alta eficiência. O método analítico escolhido tem apresentado ótimos resultados em vários tipos de matrizes para diferentes princípios ativos. Após a validação do método, amostras de açúcar foram coletadas em comércios localizados no município de Itumbiara – GO e Bom Jesus – GO para verificar se existe contaminação por fipronil nas amostras analisadas. Para otimização do método foi empregado o Planejamento fatorial 2^2 , no qual foi possível obter taxas de recuperação, do fipronil, na matriz açúcar, de 91,04%. Para certificação da confiabilidade do método, alguns parâmetros foram avaliados como a linearidade onde obteve-se coeficiente de determinação (R^2) acima de 0,99, limite de detecção (LD) de 0,02 mg kg⁻¹ e limite de quantificação (LQ) de 0,07 mg Kg⁻¹. Considerando os valores obtidos nos referentes parâmetros somados ao desvio padrão relativo (DPR) em uma faixa inferior a 20%, é possível afirmar que o método ESL-PBT é preciso e exato, sendo aplicável para determinação de fipronil em matrizes de açúcar.

Palavras-chave: Determinação de Fipronil; Extração Sólido-Líquido com Partição a Baixa Temperatura; análise em açúcar.

ABSTRACT

Crystal sugar is one of the most consumed products throughout Brazil. This product is derived from sugarcane juice followed by various cooking processes. In sugarcane cultivation, various types of agricultural implements and chemical products such as pesticides are used. One of the most commonly used pesticides in the sugarcane cultivation process is fipronil. In the state of Goiás alone, over 198 tons of this active ingredient were used. Despite the various industrial processes involved in crystal sugar production, residues of fipronil can end up in the final product due to the physicochemical properties of fipronil. Therefore, this research aims to optimize and validate an analytical method capable of identifying and quantifying the active ingredient fipronil in samples of crystal sugar. The chosen method was solid-liquid extraction with low-temperature partitioning followed by high-performance liquid chromatography analysis. The chosen analytical method has shown excellent results in various matrix types for different active ingredients. After method validation, sugar samples were collected from businesses located in the municipalities of Itumbiara - GO and Bom Jesus - GO to verify if there is fipronil contamination in the analyzed samples. For method optimization, a 2² factorial design was employed, and it was possible to obtain fipronil recovery rates in the sugar matrix of 91.04%. To certify the method's reliability, certain parameters were evaluated, such as linearity, which resulted in a coefficient of determination (R^2) above 0.99, a detection limit (LD) of 0.02 mg kg⁻¹, and a quantification limit (LQ) of 0.07 mg kg⁻¹. Considering the values obtained for these parameters, along with the relative standard deviation (RSD) within a range of less than 20%, it can be stated that the SLE-LTP method is precise and accurate, making it applicable for determining fipronil in sugar matrices.

Keywords: *Fipronil determination; Solid-Liquid Extraction with Low-Temperature Partitioning; sugar analysis.*

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Propriedades físico-químicas do fipronil.....	14
Tabela 02	LMR (Limite Máximo de Resíduo) de fipronil em alimentos.....	16
Tabela 03	Planejamento fatorial 2^2 para extração do fipronil nas matrizes de açúcar.....	18
Tabela 04	Efeito dos fatores do planejamento fatorial 2^2 para avaliação do melhor tipo de agitação e melhor tipo de solvente na extração do fipronil em amostras de açúcar.....	23
Tabela 05	Limite de detecção e Limite de Quantificação do método proposto para fipronil em açúcar.....	25
Tabela 06	Análise da precisão e exatidão do método ESL-PBT.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Fórmula estrutural do fipronil.....	14
Figura 02	Frascos contendo amostras resfriadas preparadas para para ESL-PBT.....	19
Figura 03	Porcentagem de recuperação do fipronil extraído das amostras de açúcar pelo método ESL-PBT.....	22
Figura 04	Cromatograma obtido pela ESL-PBT em matriz de açúcar isenta de fipronil em comparativo com uma solução do padrão de fipronil a 5 mg L ⁻¹	24
Figura 05	Curva analítica preparada em diferentes concentrações de fipronil.....	25
Figura 06	Cromatograma obtido pela ESL-PBT em amostras reais de açúcar coletadas em supermercados na cidade de Itumbiara-GO.....	27
Figura 07	Cromatograma obtido pela ESL-PBT em amostras reais de açúcar coletadas em supermercados na cidade de Bom Jesus-GO.....	27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Objetivos.....	11
1.1.1 Objetivo Geral	11
1.1.2 Objetivos Específicos	11
1.2 Justificativa.....	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 O consumo de agrotóxicos no Brasil.....	13
2.2 Agrotóxico fipronil.....	13
2.3 Limites máximos de resíduos (LMR).....	16
2.4 Método de extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Otimização do método ESL-PBT para determinação e quantificação do fipronil em açúcar	18
3.3 Condições cromatográficas	20
3.4 Análise qualitativa e quantitativa do fipronil	20
3.5 Validação do método ESL-PBT otimizado	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
4.1 Otimização do método ESL-PBT em açúcar.....	22
4.2 Estudo do efeito dos fatores do planejamento fatorial 2 ²	23
4.3.1 Confirmação do tempo de retenção do fipronil e seletividade do método	23
4.3.2 Linearidade	24
4.3.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação	25
4.3.5 Análise da precisão e exatidão do método ESL-PBT	26
4.3.6 Aplicação do método ESL-PBT em amostras reais de açúcar	27
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

O açúcar é um ingrediente indispensável para uma variedade de produtos como balas, iogurtes, refrigerantes, bolos, pães, etc. O açúcar está presente na vida do ser humano desde a Antiguidade, quando ainda no século X, no Oriente Médio, mais especificamente no Egito, onde através da extração do caldo da cana-de-açúcar, foram desenvolvidos métodos de clarificação e cozimento para obtenção de um açúcar de alta qualidade (MACHADO, 2003). Atualmente, os meios para produção e obtenção do açúcar modernizaram-se, visando atender uma grande demanda. Para isso, existem as usinas sucroalcooleiras, que cultivam a própria cana se responsabilizando também pela colheita. Segundo a Unica (2022), a quantidade de cana-de-açúcar processada na safra de 2021/22 foi de 521,67 milhões de toneladas, enquanto a quantidade de açúcar produzido foi de 32,029 milhões de toneladas processadas, somente no centro-sul região que ocupa cerca de 25% do território nacional brasileiro (FREITAS, 2022).

Sendo a principal matéria prima para a produção de açúcar, etanol e aguardente, a cana-de-açúcar é uma planta pertencente ao grupo de espécies gramíneas perenes altas, conhecida por algumas de suas características, como caule de formato cilíndrico, coberto por folhas verdes e grandes, que podem alcançar até seis metros de altura (TORRES, 2021). A cana-de-açúcar se adapta bem a climas tropicais e, por ser plantada ao ar livre, está exposta a danos provenientes de algumas pragas, tais como a broca da cana-de-açúcar, cigarrinha, bicudo da cana, broca gigante, cupins, entre outras pragas (CHINELATO, 2021). Para que haja o controle do rendimento e produtividade da cana-de-açúcar, esta cultura necessita de manejo adequado e implementação agrícola, tais como a aplicação de agrotóxicos. No mercado, são encontrados vários agrotóxicos autorizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, sendo o agrotóxico fipronil um dos mais utilizados.

O fipronil atua bloqueando a transmissão nervosa mediada por neurotransmissores inibitórios, tais como o ácido gama-aminobutírico (GABA), no sistema nervoso central dos insetos, estimulando os neurônios de forma excessiva e levando o organismo alvo à morte por hiperexcitação (TINGLE et. al., 2003). Em relação ao perigo aos organismos não alvo, o fipronil pode ser bastante perigoso, devido as suas propriedades físico-químicas, uma vez que o princípio ativo e seus metabólitos possuem afinidade por gorduras e isso facilita a penetração deste composto nas membranas celulares (GUO et al., 2018).

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, no Brasil, em 2020, foram comercializadas mais de 2.000 toneladas deste princípio ativo. Já no Estado de Goiás, essa quantidade foi de pouco mais de 198 toneladas. Devido à sua

alta eficiência, o fipronil é utilizado não somente na agricultura, mas também em vários produtos de uso doméstico (GUPTA; ANANDÓN, 2018).

Na elaboração e/ou otimização de métodos analíticos, uma das etapas de maior preocupação e importância é a extração da amostra (analito). Isso porque é neste procedimento que o analito de interesse será extraído da matriz para ser analisado em diferentes equipamentos. O método de extração sólido-líquido com partição à baixa temperatura (ESL-PBT) tem sido bastante empregado na elaboração de novos métodos na determinação de agrotóxicos, como descrito nos trabalhos de Rodrigues et al. (2018), Costa et al. (2015) e Heleno et al. (2014). O método é prático, apresenta poucas etapas, dispensa a aplicação de filtros, além de ser econômico no volume de amostra e solvente extrator (GOULART, 2010; RODRIGUES et al., 2018).

Desta forma, esta pesquisa teve como objetivo otimizar um método analítico que seja capaz de identificar e quantificar o princípio ativo fipronil em matrizes de açúcar cristal. O método de extração escolhido foi a ESL-PBT e as análises foram realizadas em um cromatógrafo a líquido de alta eficiência. Além de otimizar o método, este foi validado e aplicado em amostras de açúcar que foram coletadas em Itumbiara e Bom Jesus, municípios do Estado de Goiás.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

- Esta pesquisa teve por objetivo otimizar e aplicar uma metodologia analítica, empregando o método ESL-PBT, seguida de análise por cromatografia líquida de alta eficiência para determinar e quantificar o agrotóxico fipronil em matrizes de açúcar cristal.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Identificar a importância da cana-de-açúcar para produção de alimentos;
- Expor a ação do princípio ativo do fipronil para organismos alvos e não alvos;
- Estudar e avaliar quais os fatores que influenciam na extração do fipronil nas matrizes de açúcar, empregando um planejamento fatorial 2^2 , para extração do fipronil em amostras de açúcar;

- Otimizar as condições cromatográficas, para identificar e quantificar o agrotóxico fipronil nas matrizes de açúcar;
- Validar o método otimizado, observando parâmetros como seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez da metodologia otimizada;
- Verificar se os valores de LD e LQ atendem a faixa de valores estabelecidos para o Limite Máximo de Resíduos (LMR);
- Após a validação, aplicar o método validado em amostras de açúcar coletadas em supermercados localizados nas cidades de Itumbiara-GO e Bom Jesus-GO.

1.2 Justificativa

O agrotóxico fipronil é um composto muito utilizado no cultivo de cana-de-açúcar para o combate de vários tipos de pragas. Segundo o IBAMA, mais de 2.000 toneladas do princípio ativo foram aplicadas em todo o território nacional no ano de 2020. Na literatura, foram encontrados poucos trabalhos com objetivos semelhantes ao desta pesquisa, que é a determinação de fipronil em amostras de açúcar cristal. Além disso, nenhum destes foi realizado no Brasil. Como o fipronil é um agrotóxico muito utilizado e apresenta boa estabilidade sob altas temperaturas, surge a preocupação em verificar uma possível contaminação do açúcar comercializado na região de Itumbiara com este agrotóxico. Na literatura científica, existem alguns métodos para identificação de agrotóxicos em vários tipos de matrizes, mas há uma carência de metodologias descritas para esta determinação em açúcar. Desta forma, a validação de uma metodologia simples e economicamente viável para esta detecção de agrotóxicos em açúcar é de suma importância. Além disso, a região de Itumbiara-GO e Bom Jesus-GO apresenta várias usinas sucroalcooleiras, produzindo parte do açúcar comercializado nestes municípios, justificando a relevância da investigação da qualidade do açúcar produzido na região.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O consumo de agrotóxicos no Brasil

A utilização de compostos para o combate de pragas em lavouras é muito antiga. Algumas escrituras apontam o uso de sal, enxofre e várias plantas para o controle de doenças em plantações (SPARKS, 2013). A modernização do manejo na agricultura tem o seu avanço por volta da década de 50. A inserção de máquinas agrícolas e compostos orgânicos produzidos especialmente para este fim proporcionaram um avanço na produção de vários alimentos e produtos oriundos da agricultura (MOSELEY; COLLEGE; PAUL, 2015).

O Brasil é um dos maiores produtores agrícolas do mundo e, por conta disso, também está no topo da lista dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo. Segundo o IBAMA, no ano de 2020, foram comercializadas mais de 685 mil toneladas de agrotóxicos em todo o território nacional. Entre as regiões de maior consumo está a região Centro-Oeste que, neste mesmo ano, consumiu pouco mais de 237 toneladas de agrotóxicos (IBAMA, 2020).

2.2 Agrotóxico fipronil

Segundo a ANVISA, o uso de fipronil, no Brasil, iniciou-se em meados de 1994, sendo utilizado como inseticida e acaricida, devido a sua alta faixa de toxicidade e eficiência no extermínio de pragas foi introduzido no mercado brasileiro para combater pragas agrícolas e urbanas como moscas, pulgas, piolhos, baratas, formigas e pernilongos. O fipronil é conhecido por diferentes nomes comerciais, dependendo do país e do fabricante. Alguns exemplos de nomes comerciais do Fipronil incluem:

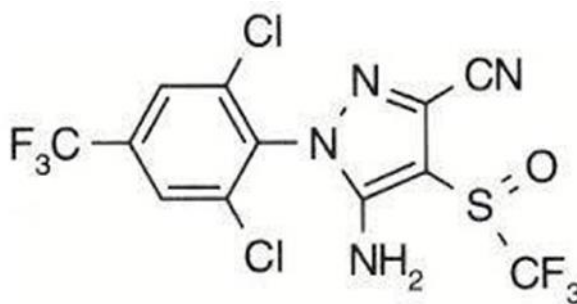
- Frontline (ou Frontline Plus) - usado para controle de pulgas e carrapatos em cães e gatos.
- Regent - utilizado em aplicações agrícolas para controle de pragas em culturas diversas.
- Termidor - inseticida utilizado para controle de cupins e formigas.
- Termifin - inseticida indicado no combate e controle de aranhas-marrons, baratas, carrapatos, cupins, formigas e pugas.
- Combat - empregado em produtos para controle de baratas e formigas em ambientes residenciais.

- Fipronex - nome comercial utilizado em alguns produtos inseticidas.

Além da cana-de-açúcar, Amaral (2005) destaca a utilização do fipronil como agrotóxico para diferentes culturas como batata, milho, algodão, arroz, soja, cevada e feijão. Segundo o IBAMA, a quantidade do agrotóxico fipronil comercializado no Brasil no ano de 2020 foi de 2.000,06 toneladas, representando um aumento de 93,1%, comparado ao ano de 2012, que somou um total de 1.068,60 toneladas em vendas nacionais, sendo o centro-sul apresentando a maior taxa de comercialização desses produtos (IBAMA, 2020).

O fipronil pertence ao grupo químico pirazol, seu nome químico é 5-amino-1-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil)fenil]-4-[(trifluormetil)sulfinil]-1H-pirazol 3-carbonitrila, de fórmula molecular $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$, cuja fórmula estrutural é apresentada na Figura 1.

Figura 01 - Fórmula estrutural do fipronil.



Fonte: IBAMA, 2019.

Em condições naturais, a 20°C, o fipronil se encontra em estado sólido como um pó fino, branco e inodoro. Na tabela abaixo está listada algumas das principais características físico-químicas do fipronil.

Tabela 1: Propriedades físico-químicas do fipronil.

Propriedades	Características
Solubilidade em água	3,78 mg l ⁻¹ a 20 °C
Ponto de degradação	230 °C
Ponto de fusão	203 °C
Pressão de vapor	0,002 mPa a 20 °C
Densidade	1,71 g ml ⁻¹

Fonte: LEWIS, *et al.* 2016.

Normalmente, durante o processo de fabricação do açúcar, o caldo de cana é aquecido em torno de 105°C a 110°C, conforme o processo avança, dependendo do método e das condições específicas de produção a temperatura pode aumentar ainda mais, chegando a aproximadamente 120°C a 130°C. Como observado, estas temperaturas não atingem o ponto de degradação do fipronil que é igual a 230 °C, o que pode indicar a existência deste princípio no caldo de cana-de-açúcar.

Não há muitas informações consolidadas a respeito da toxicidade do fipronil para mamíferos. Alguns estudos relatam grau moderado de toxicidade para ratos, resultando em mudanças comportamentais destes animais, quando expostos ao agrotóxico (BARROS; FORMAGIO; KASSUYA, 2012). No solo, o fipronil pode ser persistente, o que significa que pode permanecer ativo por períodos prolongados levando a um acúmulo gradual no ambiente, Segundo ZHU (et. al. 2004), em solo arenoso, o tempo de meia vida do fipronil pode chegar a 126 dias. Por ser um acaricida e inseticida, o fipronil pode ser tóxico para as espécies de insetos benéficos, microrganismos e outros pequenos animais que desempenham papéis importantes no equilíbrio do ecossistema do solo. Em ambientes aquáticos como rios, lagos e estuários, principalmente devido à sua persistência e capacidade de se acumular nos sedimentos, peixes e outros organismos aquáticos podem ser expostos ao fipronil por meio de água contaminada.

Segundo a ANVISA, para peixes, o fipronil é considerado altamente tóxico para o meio ambiente ocupando a classe toxicológica II. GÓMEZ (2009) destaca sintomas como hiperexcitação, natação errática, localização na coluna de água e letargia em peixes expostos a concentrações que variam de 0,025 mg.L⁻¹ a 0,15 mg.L⁻¹ deste agrotóxico. Os estudos de Ohi et. al. (2004) mostram que concentrações de 280 mg/ kg de fipronil reduzem em 67% o índice de gravidez devido a efeitos prejudiciais no desenvolvimento de fetos de ratos de linhagem albina da espécie *Rattus norvegicus*, Estes resultados podem indicar efeitos sérios no desenvolvimento tanto de animais quanto de humanos.

Contudo, ainda não foi evidenciado um risco para a população brasileira, considerando o tipo de contaminação ocorrida nos ovos na Europa, conforme demonstram os dados de monitoramento disponíveis.

2.3 Limites máximos de resíduos (LMR)

Os limites máximos de resíduos são estabelecidos por cada país por órgãos reguladores e agências de segurança alimentar em pesquisas científicas. Estes órgãos têm como objetivo proteger a saúde pública e garantir a segurança, qualidade e eficácia de produtos e serviços relacionados à saúde.

No Brasil, o órgão regulamentador responsável por determinar o LMR para resíduos em alimentos é a ANVISA. Na tabela a seguir, está listado o LMR de fipronil para diferentes culturas de alimentos.

Tabela 2: LMR (Limite Máximo de Resíduo) de fipronil em alimentos.

Culturas	LMR (mg/kg)
Amendoim	0,01
Arroz	0,01
Batata	0,05
Cana-de-açúcar	0,03
Feijão	0,01
Milho	0,01
Soja	0,01
Trigo	0,01

Fonte: ANVISA; LMR: Limite Máximo de Resíduo.

No Brasil, não há determinação de LMR para fipronil em açúcar. Isso ocorre, pois, ao estabelecer o LMR, o órgão regulamentador vigente pode considerar apenas os alimentos como as commodities no estado *in natura* como a cana-de-açúcar.

Devido a uma baixa probabilidade de resíduos no açúcar cristal, e por este ser um produto ultraprocessado, reduz-se a probabilidade de resíduos de pesticidas ou contaminantes persistirem no produto final. Em tais casos, os reguladores podem considerar que os resíduos

são pouco prováveis e, portanto, optam por não estabelecer um LMR específico para esse alimento (TELTEBOIM et. al., 2007).

2.4 Método de extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura

Na literatura científica, estão descritos vários métodos de extração de amostras para análise por cromatografia líquida. Um exemplo clássico e muito empregado é o método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Rugged, Effective, and Safe) desenvolvido em 2003 por (ANASTASSIADES et al., 2007; ANOb). Outro método bastante conhecido já empregado para extração de fipronil e seus produtos de degradação em mel (COSTA, 2014) é a extração com cartuchos SPE C18 (Extração em Fase Sólida, do inglês Solid Phase Extraction) desenvolvido por (SÁNCHEZ-BRUNETE et al.; 2008). Como em sua grande maioria, ambos os métodos de extração são laboriosos e economicamente caros, devido à necessidade de várias etapas de limpeza e filtração das amostras (PRESTES et al., 2009).

Para realização desta pesquisa, utilizou-se a técnica de extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura (ESL-PBT), que consiste na adição de um solvente em uma amostra sólida, sendo este solvente insolúvel em água e menos denso que a água, mantendo-se líquido a -20 °C. A amostra é mantida por cerca de três horas em uma temperatura abaixo de zero e, durante esse processo, o analito desloca-se para a fase orgânica, onde é separado para análise.

O método de extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura (ESL-PBT) é um método alternativo que tem demonstrado alta eficiência na determinação e quantificação de agrotóxicos em diferentes matrizes, tais como abacaxi (MORAIS et al., 2014), abobrinha (RODRIGUES et al., 2018), alface (COSTA et al., 2015), alho (MORENO et al., 2012), manteiga (MARTHE et al., 2010), morango (HELENO et al., 2014) e solo (ASSIS et al., 2011; GOULART, 2017; RAMÍREZ et al., 2018).

Além da eficiência, o método é economicamente viável, pois necessita de pouco solvente extrator, pouca quantidade de amostra e, devido à partição a baixa temperatura, não necessita de etapas de filtragem (GOULART, 2010; HELENO, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Otimização do método ESL-PBT para determinação e quantificação do fipronil em açúcar

Na elaboração ou otimização de métodos analíticos, vários fatores podem influenciar na extração do analito na matriz. São muitas as variáveis que podem apresentar resultados com aumento ou diminuição de respostas nos procedimentos iniciais de otimização (BRITO et al., 2003). Desta forma, métodos que possibilitem analisar vários fatores de forma sistemática e com menores números de ensaios são bem-vindos, a fim de diminuir os gastos desnecessários de tempo e financeiro (GOULART et al., 2010). O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística que permite avaliar vários fatores ao mesmo tempo (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Desta forma, para a otimização da extração do analito fipronil nas matrizes de açúcar foi utilizado um planejamento completo do tipo 2^2 , que possibilita a análise de dois fatores em dois níveis diferentes. Os fatores analisados foram o tipo de agitação e tipo de solvente. Os níveis de cada fator foram respectivamente: O banho ultrassônico (5 minutos) ou vortex (1,5 minutos); e metanol (4 mL) ou acetonitrila (4 mL). Na Tabela 1, é apresentado o planejamento fatorial com seus fatores e níveis. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 03 - Planejamento fatorial 2^2 para extração do fipronil nas matrizes de açúcar.

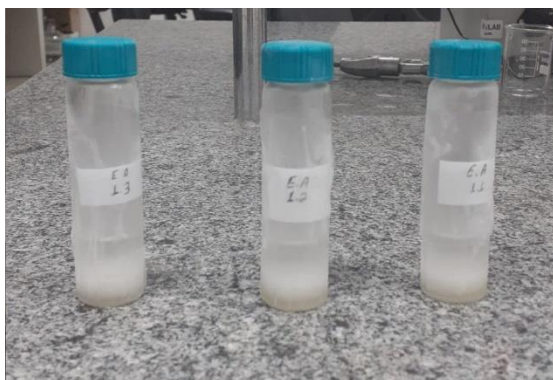
Ensaio	Fatores codificados		Fatores originais	
	Tipo de agitação	Tipo de solvente	Tipo de agitação	Tipo de solvente
1	-	-	B.U	Acetonitrila
2	+	-	Vórtex	Acetonitrila
3	-	+	B.U	Metanol
4	+	+	Vórtex	Metanol

Nota: (-) banho-utrassonico + acetonitrila

(+)vórtex + metanol

Nos ensaios para otimização do método, foram utilizados frascos de vidro com capacidade volumétrica de, no mínimo, 10 mL. Nestes frascos, foram pesados 1,0000 g de matriz (açúcar) isentas de agrotóxicos, em seguida as matrizes foram fortificadas com solução do padrão fipronil. Em seguida, para o processo de extração, foi aplicado ao sistema 2 mL de água e 4 mL do solvente extrator, Metanol ou Acetonitrila, seguindo o planejamento fatorial, apresentado na Tabela 01. Posteriormente, o sistema foi agitado em banho ultrassônico ou vortex obedecendo o planejamento fatorial. Em seguida, o sistema foi colocado em um freezer a -20 °C para partição a baixa temperatura.

Figura 02: Frascos contendo amostras resfriadas obtidas por meio da ESL-PBT do fipronil em matrizes de açúcar.



Após o congelamento da água e matriz, foi retirado uma alíquota de 1 mL do solvente orgânico, parte do sobrenadante, para ser injetado em cromatógrafo a líquido de alta eficiência.

3.2 Equipamentos e reagentes necessários para otimização do método

Os ensaios laboratoriais foram realizados no laboratório de química analítica do IFG (Instituto Federal de Goiás) Campus Itumbiara, onde foi realizada a extração sólido líquido com partição a baixa temperatura seguido de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As amostras foram adquiridas em comércios das cidades de Itumbiara -GO e Bom Jesus-GO e conservadas em temperatura ambiente, em um local protegido de umidade e luz até o momento da análise.

Paras a realização dos ensaios, foram necessários os seguintes equipamentos:

- Agitador de tubos vortex (Biomixer, velocidade 2.800 rpm, potência 60 W;

- Banho ultrassônico (capacidade 2,1 litros; frequência 50/60 Hz);
- Freezer vertical;
- Balança analítica de precisão com capela (capacidade 220g);
- Cromatógrafo a líquido Shimadzu LC com detector UV-VIS Shimadzu SPD; sistema de operação LabSolutions Shimadzu.

Os reagentes necessários foram:

- Acetonitrila (grau 99,9% HPLC) ; Metanol (grau 99,9% HPLC);
- Água ultrapurificada ;
- Padrão analítico com o princípio ativo fipronil.

3.3 Condições cromatográficas

As condições cromatográficas iniciais foram definidas levando em consideração as propriedades físico-químicas do fipronil e também por meio de informações obtidas na literatura científica com foco na determinação e quantificação do fipronil em outras matrizes. As configurações cromatográficas foram as seguintes:

- Detector de UV a 213 nm;
- Coluna Kinetex 5 μ m EVO C 18 - 150 X 4,6 mm;
- Fase móvel (modo isocrático); Acetonitrila: Água deionizada 65:35 v/v;
- Vazão da fase móvel: 0,8 mL min⁻¹;
- Temperatura da coluna: 35 °C;
- Volume de injeção: 20 μ L;
- Tempo de análise: 4,5 minutos.

3.4 Análise qualitativa e quantitativa do fipronil

O fipronil foi identificado pelo seu tempo de retenção no cromatograma. Para isso, uma solução do padrão de fipronil foi injetada no cromatógrafo. Para quantificar a concentração do fipronil nas amostras, foi construída uma curva analítica. Esta curva analítica foi elaborada a partir de diferentes concentrações da solução do padrão fipronil, numa faixa de 0,07 a 0,7 mg L⁻¹. Mediante a equação da reta resultante das injeções das diferentes concentrações, as

porcentagens de recuperação das matrizes fortificadas foram obtidas, com isso, foi possível eleger o melhor ensaio para prosseguimento das análises e validação do método.

3.5 Validação do método ESL-PBT otimizado

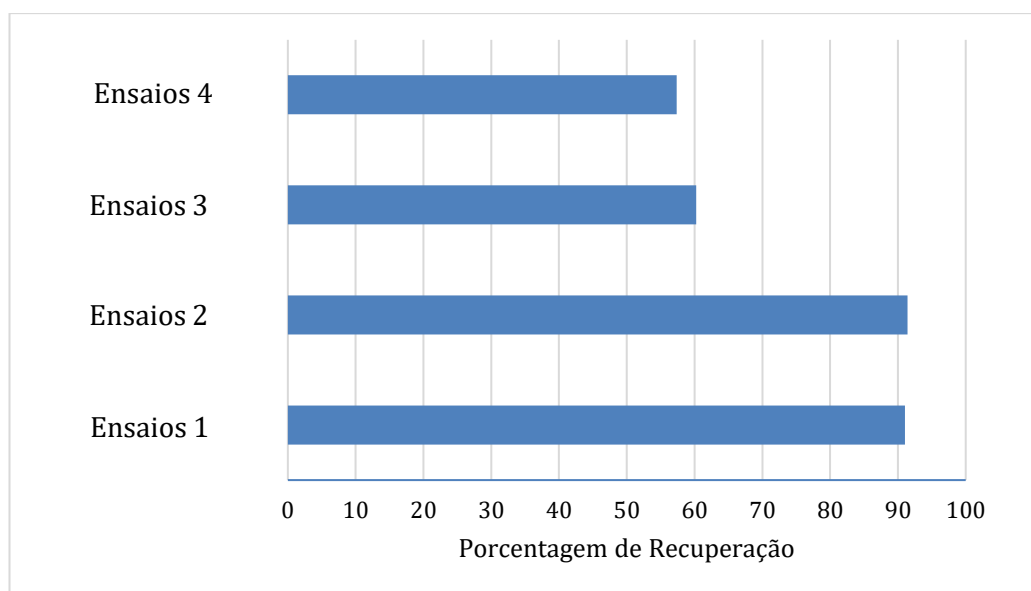
No Brasil, a validação de metodologias analíticas é regulada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), especifica para o ramo alimentício, e o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (INMETRO, 2020; BRASIL, 2017) voltado para o ramo farmacêutico. Para a validação do método otimizado, esta pesquisa seguiu padrões recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o guia europeu específico para validação de métodos analíticos de agrotóxicos em alimentos, o documento SANTE (Guidances analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed) (BRASIL, 2003; SANTE/11312/2021). Os parâmetros estudados foram: Seletividade; Linearidade; Limite de detecção (LD); Limite de Quantificação (LQ); Precisão e Exatidão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Otimização do método ESL-PBT em açúcar

Na Figura 03, são apresentadas as porcentagens de recuperação de fipronil na matriz do açúcar utilizando-se diferentes tipos de agitação e solvente. Nos ensaios 1 e 2, foram utilizados o solvente extrator a acetonitrila. Já nos ensaios 3 e 4 foi empregado o solvente orgânico metanol.

Figura 03 - Porcentagem de recuperação do fipronil extraído das amostras de açúcar empregando método ESL-PBT.



Uma possível explicação para que a acetonitrila tenha uma maior eficiência na extração deve-se a sua polaridade visto que a acetonitrila é mais polar que o metanol. Otaviano (2022) em seu estudo sobre a extração de fipronil em cascas de ovos utilizando o método ESL-PBT, obteve uma maior taxa de recuperação do fipronil também utilizando como solvente extrator a acetonitrila. É possível observar que o ensaio 2 obteve uma taxa de recuperação de 91,43%, já o ensaio 1 obteve porcentagem de 91,04%, porém optou-se pelo ensaio 1 que utilizaram como método de agitação o banho ultrassônico.

Uma vantagem do banho ultrassônico sobre o vortex é que ele possui a capacidade de realizar a agitação de uma maior quantidade de amostras.

4.2 Estudo do efeito dos fatores do planejamento fatorial 2²

Os efeitos dos fatores do planejamento fatorial 2² foram avaliados pelo teste *t* de *Student* ao nível de 95% de confiança e 5% de significância. Na Tabela 04, são apresentados os efeitos de cada fator bem como o erro do experimento e o P-valor de cada parâmetro analisado. Valores de $P < 0,05$ indicam que o fator apresentou efeitos significativos na extração do fipronil na matriz açúcar.

Tabela 04 – Efeito dos fatores do planejamento fatorial 2² para avaliação do melhor tipo de agitação e melhor tipo de solvente na extração do fipronil em amostras de açúcar.

Fatores		Efeitos		Erros	P-valor
Tipo de agitação		-1,248	±	0,799	0,1569
Tipo de Solvente		-32,45	±	0,799	0.0000000001
Interação 1x2		-1,641	±	0,799	0,074

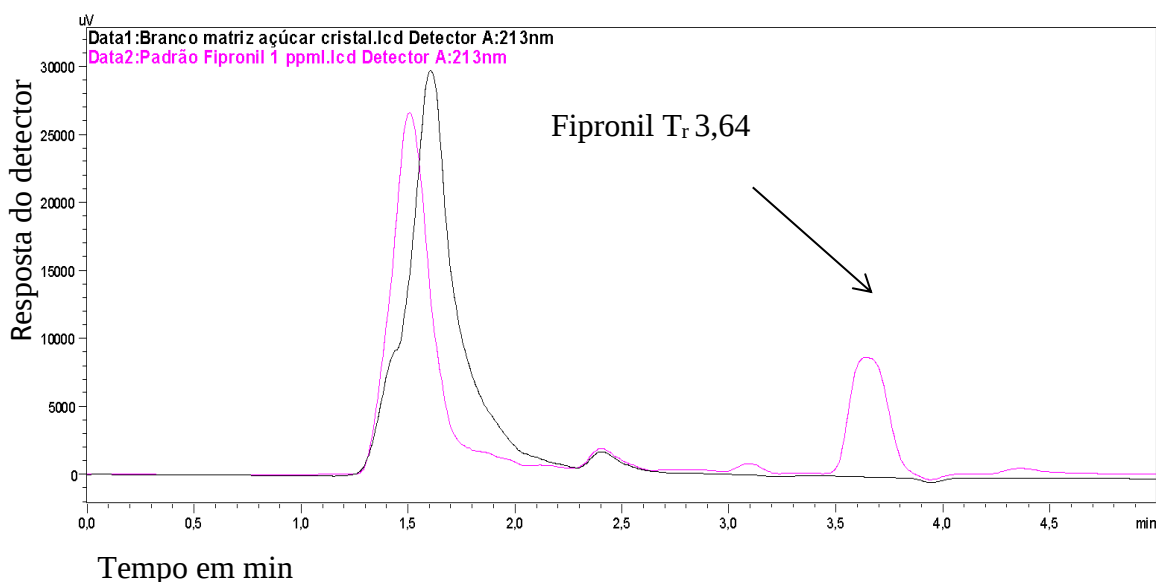
Como pode ser observado na Tabela 02, apenas o fator solvente orgânico foi significativo. Ao mudar o solvente acetonitrila para metanol, houve uma redução de 32,45% na recuperação do fipronil na matriz açúcar. A mudança do tipo de agitação não foi significativa, ao mudar o tipo de agitação de vórtex para banho ultrassônico a recuperação do fipronil na matriz açúcar teve uma leve queda de apenas 1% que não foi significativa no processo de extração. Desta forma, com base na análise estatística realizada foi selecionado o ensaio 1.

4.3.1 Confirmação do tempo de retenção do fipronil e seletividade do método

A seletividade corresponde à capacidade do método de distinguir a resposta do analito em específico dos demais componentes presentes na amostra, neste caso analito específico é o fipronil.

Para confirmação do tempo de retenção do fipronil nas condições cromatográficas otimizadas, foi injetada uma solução contendo o padrão do agrotóxico fipronil a uma concentração de 5 mg L^{-1} . A seletividade do método ESL-PBT, para determinação do fipronil nas matrizes de açúcar, foi verificada mediante a comparação dos cromatogramas do branco da amostra (açúcar produzido de forma orgânica) com o cromatograma da solução padrão de fipronil a 5 mg L^{-1} . Na Figura 04, são apresentados ambos os cromatogramas.

Figura 04 - Cromatograma obtido pela ESL-PBT em matriz de açúcar isenta de fipronil em comparativo com uma solução do padrão de fipronil a 5 mg L^{-1} .



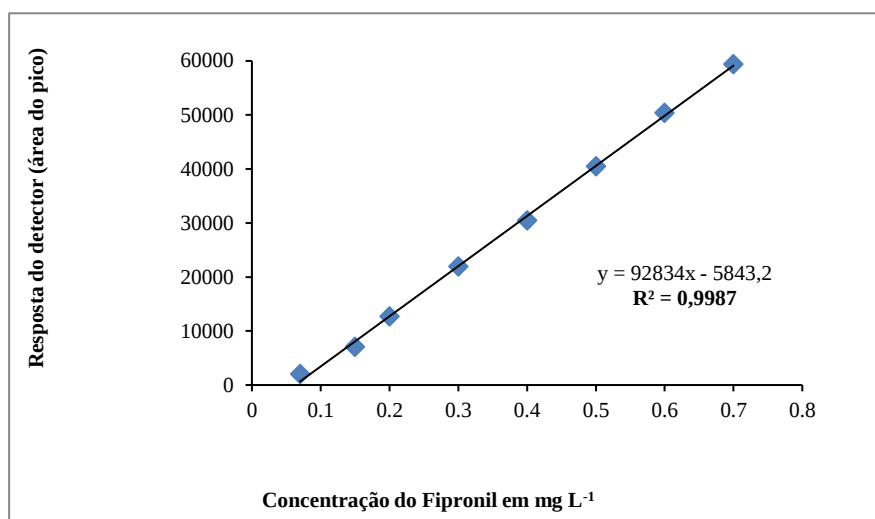
Como pode ser visto na Figura 04, o tempo de retenção do fipronil foi de 3,64 minutos. Ao se comparar os dois cromatogramas, branco da matriz e solução padrão de fipronil, não se observa pico no tempo de retenção do fipronil no cromatograma referente ao branco da matriz, esta observação confere a seletividade do método ESL-PBT para a determinação do fipronil em matriz açúcar.

4.3.2 Linearidade

As concentrações injetadas para obtenção da curva analítica estão proporcionalmente relacionadas à quantidade de padrão interno de fipronil adicionados na matriz do açúcar. Como apresentado na Figura 05, as concentrações variam de $0,07 \text{ mg L}^{-1}$ a $0,7 \text{ mg L}^{-1}$. A linearidade

foi avaliada com base no coeficiente de determinação (R^2) que apresentou um valor superior a 0,99 que para o SANTE/11312/2021 atende as especificações para a linearidade do método.

Figura 05 - Curva analítica preparada em diferentes concentrações de fipronil.



4.3.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Para a determinação do limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD) foram feitas 3 injeções em sistemas isentos de agrotóxicos fortificados com uma solução padrão de fipronil com diferentes concentrações a 0,07 mg/kg, 0,09 mg/kg e 0,1 mg/kg. Onde o menor sinal de ruído da linha de base obtido para LQ foi de 0,07 mg/kg considerado em até 0,02mg/kg para LD, quando os resíduos de pesticidas são analisados em alimentos, o LD e o LQ do método analítico utilizado são parâmetros importantes para garantir que as análises possam detectar e quantificar resíduos de pesticidas em concentrações que estejam abaixo ou próximas dos LMRs estabelecidos.

Na tabela 05, são apresentados os valores de LD e LQ para o fipronil em açúcar utilizando-se método proposto.

Tabela 05: Limite de detecção e Limite de Quantificação do método proposto para fipronil em açúcar

	LQ	LD	LMR em mg/kg-1	LMR em mg/kg-1
Agrotóxico	ESL-PBT mg/Kg	ESL-PBT	para alimentos	para cana-de-
1		mg/Kg ⁻¹	ANVISA	açúcar

Fipronil	0,07	0,02	0,01 a 0,010	0,03
----------	------	------	--------------	------

Fonte: O autor 2023. NR – Não recomendado.¹Monografias de agrotóxicos (Brasil, 2023a); ²Portaria N° 5/2017 Ministério da Saúde (BRASIL, 2017).

Como o observado, os valores de LD e LQ estão dentro da faixa de valores estabelecido pela ANVISA para o LMR em cana-de-açúcar, sendo assim os valores obtidos para LD e LQ obtidos pela aplicação do método ESL-PBT foram satisfatórios para determinação de fipronil em matriz de açúcar.

4.3.5 Análise da precisão e exatidão do método ESL-PBT

Nas seis extrações com a acetonitrila com concentrações do padrão de fipronil a 0,07 mg kg⁻¹ considerado nos níveis de um, três e dez vezes o LQ, obtendo-se porcentagens de recuperação que variam entre 85,20% a 99,74% que confirmam a exatidão do método, pois, de acordo com o guia utilizado para validação deste método o SANTE/11312/2021, a exatidão do método é confirmada obtendo-se as porcentagens de recuperação entre 70 e 120%; Ao verificar o Desvio Padrão Relativo (DPR), é possível observar que as variações para as porcentagens de recuperação são inferiores a 5,25 %. Segundo SANTE/11312/2021, os valores para o DPR devem ser inferiores a 20%, os valores de DPR também indicam a precisão.

Percebe-se, portanto, que o método ESL-PBT pode ser considerado preciso e exato na determinação de fipronil em açúcar

Tabela 06 – Análise da precisão e exatidão do método ESL-PBT.

Nível	% Recuperação		
	Baixo 0,07	Médio 0,2	Alto 0,7
Extração 1	96,91	93,76	85,2
Extração 2	97,41	87,73	95,92
Extração 3	92,39	96,38	90,78
Extração 4	95,26	87,84	98,47
Extração 5	90,1	90,59	90,19
Extração 6	91,07	99,74	90,56
DPR	3,3	5,25	5,18

4.3.6 Aplicação do método ESL-PBT em amostras reais de açúcar

Após a otimização e validação do método ESL-PBT, o mesmo foi aplicado em amostras reais de açúcar coletadas em 2 pontos de comércio nas cidades de Itumbiara e Bom Jesus, posterior aos ensaios realizados obteve-se os cromatogramas dispostos nas figuras 06 e 07 que apresentam a linha de base da solução padrão de fipronil a 5 mg L⁻¹ em comparação com a linha de base de duas amostras coletadas nas respectivas cidades.

Figura 06 - Cromatograma obtido pela ESL-PBT em amostras reais de açúcar coletadas em supermercados na cidade de Itumbiara-GO.

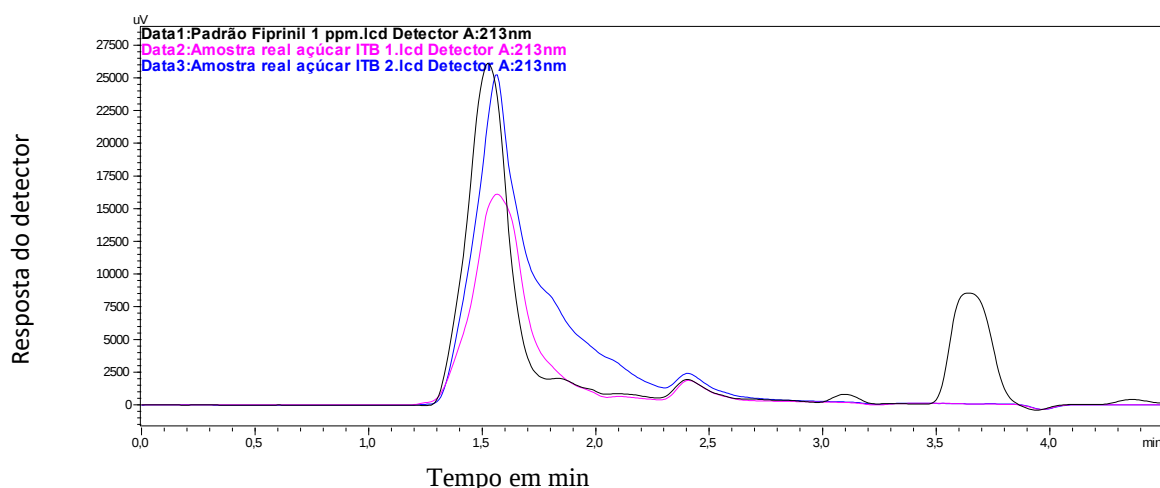
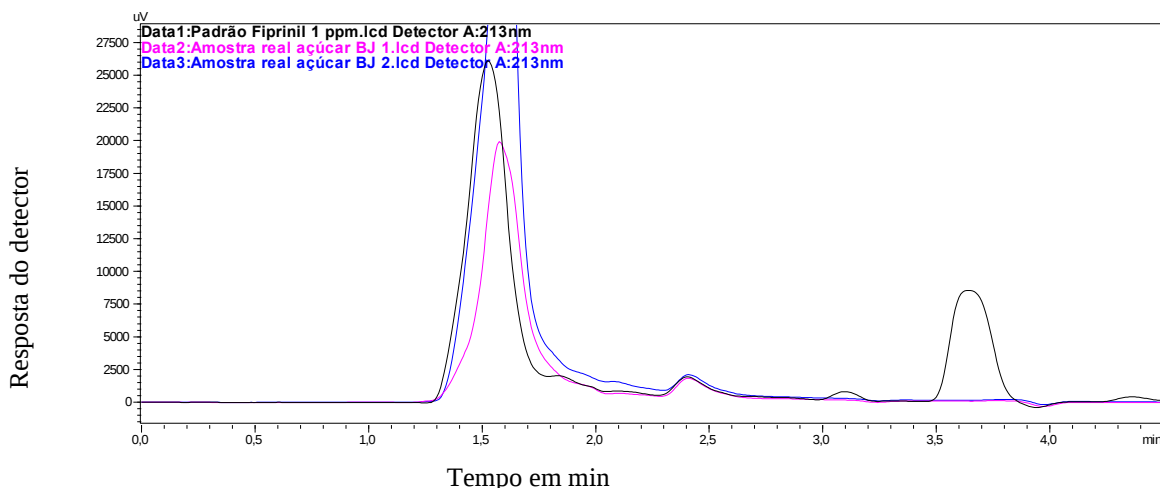


Figura 07 - Cromatograma obtido pela ESL-PBT em amostras reais de açúcar coletadas em supermercados na cidade de Bom Jesus-GO.



Como pode ser observado nos cromatogramas apresentados acima, não foi possível verificar nenhum pico no tempo de retenção do fipronil, desta forma, pode-se inferir que as amostras não estavam contaminadas ou os resíduos do fipronil nestas amostras estavam abaixo do limite de detecção do método que corresponde a 0,02 mg/kg.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta presente pesquisa, desenvolveu-se a otimização e validação do método ESL-PBT para extração de resíduos do agrotóxico fipronil em açúcar cristal, seguido de cromatografia líquida de alta eficiência.

Os parâmetros de método avaliados, como a seletividade, a linearidade, LD, LQ, exatidão/precisão, mostraram que o método ESL-PBT é aplicável para a extração do agrotóxico fipronil em amostras de açúcar, podendo ser empregado na determinação e quantificação do mesmo nessa matriz de interesse. Verifica-se a eficiência dos resultados de LD e LQ que atendem os valores exigidos pela ANVISA para o LMR em cana-de- açúcar.

Além de sua eficiência para determinação dos parâmetros avaliados, o método possui o fator humano reduzido, é de fácil aplicabilidade e baixo custo, podendo ser utilizado em laboratórios para determinação de outros resíduos em açúcar se sujeitando apenas ao tipo de solvente e padrão utilizado. Para extração do fipronil no açúcar, o solvente acetonitrila, o qual foi utilizado como fator de agitação banho ultrassônico, mostrou-se mais eficiente.

Contudo, ao aplicar o método otimizado e validado em amostras de açúcar coletadas nas cidades de Itumbiara-GO e Bom Jesus- GO conclui-se que não houve a presença de fipronil.

REFERÊNCIAS

AMARAL, Raquel Bonatto do. **Estudo voltamétrico e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica para a determinação do inseticida fipronil**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-08102012-082330/publico/RaquelBonatto_doAmaralR.pdf . Acesso em: 22 jul. 2023.

ANASTASSIADES, M.; SCHERBAUM E.; TASDELEN.; STAJNBAHER D. Recent Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis. *Crop Protection, Public Health, Environmental Safety, Wiley-VCH, Weinheim, Germany*, 2007.

_____. Recent developments in QuEChERS methodology for pesticide multiresidue analysis. In: Ohkawa HM, Hisashi; Lee, Philip W (eds) *Pesticide chemistry: crop protection, public health, environmental safety. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co: KGaA*, p. 439–458, ANOb. doi:10.1002/9783527611249.ch46

ASSIS, E. C. *et al.* Optimization and validation of the solid-liquid extraction technique for determination of picloram in soils by high Performance liquid chromatography. *Planta Daninha*, v. 29, n. 3, p. 683-696, 2011. doi 10.1590/S0100-83582011000300023.

BARROS, A. L.; FORMAGIO, M.; KASSUYA, C. A. L. **Segurança do Uso do Neuroinseticida Fipronil**. In: ° Simpósio de Neurociências da Grande Dourados – SINGraD, 3º Edição, 2012, Grande Dourados. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 2015. Disponível em: <http://www.cienciasecognicao.org/revista/index.php/SINGraD/issue/view/43>>. Acesso em: 16 mai, 2022.

_____. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – **ANVISA; RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**, Ministério da Saúde: Brasil, 2017.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Monografias de agrotóxicos**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/storregulado/regularização/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas-por-letra>, Acesso em: 22 jul, 2023.

Brasil. **Portaria de consolidação de nº5/2017 de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde**. 2017. Disponível em: http://portalsinan.saude.gov.br/imagens/documentos/legislações/Portaria_Consolidação_5_28_SETEMBRO_2017.pdf. Acesso em: 22 jul, 2023.

BRITO, N. M. *et al.* Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

CHINELATO, G. *et al.* **Tudo Sobre As Principais Pragas Da Cana-de-Açúcar e Seu Manejo** - CHBAGRO, 2021. Disponível em: <https://blog.chbagro.com.br/tudo-sobre-as-principais-pragas-da-cana-de-acucar-e-seu-manejo>>. Acesso em: 16 mai. 2022.

COSTA, A. I. G. *et al.* Determination of pesticides in lettuce using solid–liquid extraction with low temperature partitioning. **Food Chemistry**, v. 181, p. 64-71, 2015. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.070.

COSTA, Nancy Rodrigues da. **Determinação de fipronil e imidacloprido em mel utilizando cromatografia gasosa e líquida**. 2014. 85 f., il. Dissertação (Mestrado em Química)—Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

FREITAS, E. Complexo regional do Centro-Sul; **Brasil Escola**. Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/brasil/complexo-regional-centrosul.htm>>. Acesso em 07 de dezembro de 2022.

FREITAS, R. S. *et al.* Desenvolvimento do método de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para determinação de inseticidas em grãos de milho ozonizados. **Química Nova**, 2013. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=8#:~:text=A%20SLE%20FLTP%20consta%20em,mantenha%20l%C3%ADquido%20a%20%2D20%20%C2%BAC>. Acesso em: 16 jun. 2022.

GÓMEZ MANRIQUE, Wilson. Toxicidade aguda e risco ecotoxicológico do fipronil para o guarú (*Poecilia reticulata*) e dissipação no ambiente aquático. 2009. vi, 56 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2009.

GOULART, A. C. **Otimização e aplicação da extração sólido líquido com partição a baixa temperatura para determinação de carbofurano em solo**. 2017. 99 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Qualidade Ambiental) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017. doi: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170141>.

GOULART, S. M. *et al.* Optimization and validation of liquid-liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 671, n. 1-2, p. 41-7, 2010.

GUO, Q. *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in chicken egg, muscle and cake by a modified QuEChERS method coupled with LC-MS/MS. **Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess**. v. 35, p. 1543-1552, 2018.

GUPTA, R. C.; ANANDÓN, A. Fipronil. In: GUPTA, R. **Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles**. Academic Press, 2018. p. 533-538.

HELENO, F. F. *et al.* Otimização, Validação e Aplicação de Método para Determinação da Concentração Residual de Difenconazol em Morangos após Múltiplas Aplicações. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 153-157, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422014000100025>>.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Ministério do Meio Ambiente. **Relatório de comercialização de agrotóxicos: boletim anual de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil**. 2020. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxico>> . Acesso em: 21 de maio de 2022.

_____. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos: vendas de ingredientes ativos por unidade da federação-2020 químicos e bioquímicos**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594>. Acesso em: 05 de junho de 2022.

_____. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Ministério do Meio Ambiente. **Perfis ambientais de agrotóxicos**. 2019. Disponível em: <<http://ibama.gov.br/agrotoxicos/perfis-ambientais>> . Acesso em: 22 mai. 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA - INMETRO. **Orientação sobre a validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008**. Revisão 08, 2020, disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_08.pdf. acesso em: 12 jul. 2023.

LEWIS, KA. Um banco de dados internacional para avaliações e gerenciamento de risco de pesticidas. Avaliação de Risco Humano e Ecológico: **An International Journal** , 22 (4), 1050-1064. doi: 10.1080/10807039.2015.1133242, 2016.

MACHADO, F. **Brasil, a doce terra** - Udop, 2003. Disponível em: <<https://www.udop.com.br/noticia/2003/01/01/a-historia-da-cana-de-acucar-da-antiguidade-aos-dias-atuais.html>>. Acesso em: 30 abr. 2022.

MARTHE, D. B. *et al.* Desenvolvimento de Metodologia para Determinação de Piretróides em Manteiga. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1389-1393, 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600030>

MORAIS. E. H. C. *et al.* Determination of thiamethoxam, triadimenol and deltamethrin in pineapple using SLE-LTP extraction and gas chromatography. **Food Control**.v. 42, p. 9-17, 2014. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.01.024.

MORENO, C. M. *et al.* Determination of maleic hydrazide residues in garlic bulbs by HPLC. **Talanta**, v. 89, p. 369-376, 2012. doi: < <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134967>>.

MOSELEY, W. G; COLLEGE, M; PAUL, S. Food Security and 'Green Revolution'.**International encyclopedia of the social & behavioral sciences**. 2nd ed. Amsterdam:Elsevier, 2015. v. 9. Disponível em: <https://shop.elsevier.com/books/international-encyclopedia-of-social-and-behavioral-sciences/smelser/978-0-08-043076-8>.

OTAVIANO, Cinthia Milena. **Desenvolvimento e otimização de método para extração do inseticida fipronil em cascas de ovos**. 2022. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/34697>. Acesso em: 20 jul. 2023

OHI, M. *et al.* Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats. **Toxicology Letters**, v. 146, 2004, p. 121-127.

PRESTES, O. D. *et al.* QuEChERS – Um método Moderado de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, Vol. 32, No. 6, 1620-1634, 2009. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600046>.

RAMÍREZ, A. R. R. *et al.* Development and Validation of a Solid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning (SLE/LTP) Method for Determination of the Herbicide Indaziflam in Brazilian Soils by High Performance Liquid Chromatography (HPLC-UV/Vis). **Journal of Experimental Agriculture International**, 21(3): 1-8, 2018. doi: 10.9734/JEAI/2018/39554.

RODRIGUES, R. P. *et al.* Otimização da extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura para determinação de carbofurano em *Cucurbita pepo* L. (“Abobrinha”) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, Vol. 41, No. 2, 213-218, 2018.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C. *et al.* Determination of fipronil residues in honey and pollen by gas chromatography. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Vol. 6, p. 7-14, 2008

SANTE. European Commission Reference Laboratories (EURL), document SANTE/11312/2021. **Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed**. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-01/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2019-12682.pdf>. Acesso em: 24 mai. 2022.

SPARKS, T. C. Insecticide discovery: an evaluation and analysis. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 107, n. 1, p. 8–17, Mai 2013.

TELTEBOIM, Maria Chantal et al. Limites máximos de resíduos e suas implicações no comércio internacional de frutas. **Revista de Política Agrícola**, v. 16, n. 1, p. 102-112, 2007.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas Eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**. 2006, Vol. 29, No. 2, 338-350, 2006.

TORRES, L. **Panorama completo da cana-de-açúcar** - Syngenta, 2021. disponível em: <<https://blog.syngentadigital.ag/cana-de-acucar>>. Acesso em: 16 mai. 2022. .

TINGLE, C. C. *et al.* Fipronil: Environmental Fate, Ecotoxicology and Human Health Concerns, Environmental Contamination and Toxicology, **New York**. v. 176, p.1-66, 2003.

UNICA, **Atualização da safra de cana-de-açúcar 2021/2022 – 2ª quinzena de dezembro** - Novacana, 2022. Disponível em: <<https://www.novacana.com/n/cana/safra/unica-atualizacao-safra-cana-de-acucar-2021-22-quinzena-dezembro>>. Acesso em: 30 abr. 2022.