



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

CHRISTIAN HONORATO ALBUNIO DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE BIFENTRINA RESIDUAL ASSOCIADA  
À RESISTÊNCIA À LAVAGEM EM CULTIVOS DE SOJA**

---

Londrina  
2025

CHRISTIAN HONORATO ALBUNIO DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE BIFENTRINA RESIDUAL ASSOCIADA  
À RESISTÊNCIA À LAVAGEM EM CULTIVOS DE SOJA**

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Maria Cristina Solci.

Londrina  
2025

S586d Silva, Christian.  
DETERMINAÇÃO DE BIFENTRINA RESIDUAL ASSOCIADA À  
RESISTÊNCIA À LAVAGEM EM CULTIVOS DE SOJA / Christian Silva. -  
Londrina, 2025.  
101 f. : il.

Orientador: Maria Cristina Solci.  
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina,  
Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2025.  
Inclui bibliografia.

1. Bifentrina - Tese. 2. Soja - Tese. 3. Validação de método analítico - Tese. 4.  
Resistência à lavagem - Tese. I. Solci, Maria Cristina. II. Universidade Estadual de  
Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química.  
III. Título.

CDU 54

CHRISTIAN HONORATO ALBUNIO DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE BIFENTRINA RESIDUAL ASSOCIADA  
À RESISTÊNCIA À LAVAGEM EM CULTIVOS DE SOJA**

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Profa. Dra. Maria Cristina Solci  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Maria Luiza Zeraik  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Osmar Damian Prestes  
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM

Londrina, 24 de fevereiro de 2026.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, que me deu forças em momentos de desmotivação, sabedoria nas escolhas realizadas e serenidade para não desistir diante das dificuldades. Sem Ele, nada disso teria sido possível.

Um agradecimento mais do que especial à minha noiva Camila Yuri, que esteve ao meu lado em cada etapa deste processo. Seu apoio incondicional, amor e compreensão foram fundamentais para que eu pudesse manter a motivação e chegar até aqui. Dividir essa conquista com você torna tudo ainda mais significativo.

Aos meus pais, Silvana Honorato e Wagner Alburnio, deixo meu amor e gratidão por todo o apoio e incentivo. Foram a base que me sustentou e a inspiração diária para seguir em frente. Cada palavra de carinho e cada gesto de confiança tiveram um valor imenso nessa caminhada.

À coordenação da empresa ADAMA, em especial à Maria Juliane, registro minha sincera gratidão pela disponibilização dos equipamentos e pela estrutura concedida, que foram indispensáveis para tornar este estudo possível. Esse suporte foi decisivo para a concretização deste trabalho.

Aos amigos da Empresa ADAMA, em especial ao Cleiton Silverio, Augusto Cesar e Fabio Sabino, muito obrigado por toda ajuda e disposição em colaborar, mesmo quando não havia nenhuma obrigação. A parceria de vocês em resolver problemas instrumentais, teóricos e amostrais foram essenciais e mostrou um verdadeiro espírito de amizade.

Aos amigos da universidade, em especial ao Pedro Angelis. Agradeço por ter estado sempre por perto, compartilhando conhecimentos, desafios e direcionamento nesta caminhada.

À minha orientadora Maria Cristina Solci, agradeço a paciência e orientação cuidadosa nesta pesquisa. Sua confiança e apoio foram fundamentais para que eu pudesse amadurecer como pesquisador e alcançar este resultado.

E aos professores da UEL, em especial às professoras Maria Lurdes Felsner e Ieda Scarminio, registro minha gratidão pela dedicação e por cada ensinamento transmitido. Vocês foram fundamentais não apenas na construção deste trabalho, mas também no meu crescimento como pessoa e profissional.

A cada um que, de alguma forma, contribuiu para que eu chegasse até aqui, deixo meu sincero muito obrigado.

“O sucesso nasce do querer, da  
determinação e persistência em se  
chegar a um objetivo.”

— Fernando Pessoa

## RESUMO

SILVA, Christian Honorato Alburnio da. **Determinação de bifentrina residual associada à resistência à lavagem em cultivos de soja**. 2025. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

A soja é uma cultura essencial para o Brasil, e o controle de pragas com inseticidas como a bifentrina é fundamental, embora possa ser afetado por fatores como chuva e irrigação. O estudo teve como objetivo desenvolver e validar um método por CG-EM para identificar e quantificar resíduos de bifentrina em folhas de soja, avaliando a resistência de diferentes formulações à lavagem. Para isso, foram aplicados diferentes produtos sobre as folhas, seguidos de lavagens simuladas e análise cromatográfica, garantindo a confiabilidade dos resultados com materiais de referência e equipamentos calibrados. A validação do método seguiu normas nacionais e internacionais, contemplando os seguintes parâmetros em diferentes níveis da curva analítica: Linearidade com  $R^2$  de 0,9977 com calibração quadrática e ponderação  $1/y^2$ ; Seletividade com variação relativa de intensidade dos íons  $< 2,33\%$ ; Sensitividade analítica variando de 92,87 à 139,96 área/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Exatidão de 95,54% à 99,18%; Precisão com DPR de 2,73% à 9,03%; Limites de detecção de  $15,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e quantificação de  $26,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Faixa de trabalho de  $26,0$  à  $926,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Robustez confirmada para dureza da água padrão 20 e  $342 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{CaCO}_3$  e incerteza (U) de 0,0074 à  $0,0942 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Os resultados evidenciaram desempenho satisfatório em todos os critérios, confirmando a confiabilidade do método, além de revelar diferenças significativas (ANOVA, one-way) entre as formulações quanto à resistência à lavagem. A formulação EC demonstrou maior resistência à lavagem, com remoção de apenas 7,49% do ativo aplicado, sendo aproximadamente três vezes mais resistente que a WG (20,70%) e duas vezes mais que a SC (13,81%). Tais achados destacam não apenas a importância da escolha correta do produto para garantir eficácia no campo, mas também a relevância de práticas que contribuam para o uso sustentável de agrotóxicos.

**Palavras-chave:** Bifentrina; Soja; Cromatografia Gasosa; Validação de método analítico; Resistência à lavagem.

## ABSTRACT

SILVA, Christian Honorato Alburnio da. **Determination of residual bifenthrin associated with wash-off resistance in soybean crops.** 2025. 101 f. Dissertation (Master's degree in analytical chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2026.

Soybean is an essential crop for Brazil, and pest control using insecticides such as bifenthrin is fundamental, although it may be affected by factors such as rainfall and irrigation. This study aimed to develop and validate a GC–MS method to identify and quantify bifenthrin residues in soybean leaves, evaluating the wash-off resistance of different formulations. For this purpose, different products were applied to the leaves, followed by simulated washing procedures and chromatographic analysis, ensuring the reliability of the results through the use of reference materials and calibrated equipment. Method validation was carried out in accordance with national and international guidelines, considering the following parameters at different levels of the analytical curve: linearity with  $R^2$  of 0.9977 using quadratic calibration with  $1/y^2$  weighting; selectivity with relative ion intensity variation  $< 2.33\%$ ; analytical sensitivity ranging from 92.87 to 139.96  $\text{area}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; accuracy from 95.54% to 99.18%; precision with RSD ranging from 2.73% to 9.03%; limits of detection and quantification of 15.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and 26.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively; working range from 26.0 to 926.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ; robustness confirmed for water hardness levels of 20 and 342  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  as  $\text{CaCO}_3$ ; and expanded uncertainty (U) ranging from 0.0074 to 0.0942  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . The results demonstrated satisfactory performance across all validation criteria, confirming the reliability of the method, and also revealed significant differences (one-way ANOVA) among formulations regarding wash-off resistance. The EC formulation showed the highest resistance, with only 7.49% of the applied active ingredient removed, being approximately three times more resistant than WG (20.70%) and twice as resistant as SC (13.81%). These findings highlight not only the importance of selecting the appropriate formulation to ensure field efficacy, but also the relevance of practices that contribute to the sustainable use of pesticides.

**Key-words:** Bifenthrin; Soybean; Gas chromatography; Analytical method validation; Wash-off resistance.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Molécula de Bifentrina .....	26
<b>Figura 2</b> – Semeadura das sementes de soja .....	49
<b>Figura 3</b> – Trifólio composto por três fólhos.....	49
<b>Figura 4</b> – Fólho posicionado sobre lâminas de vidro, envolvido com algodão.....	50
<b>Figura 5</b> – Fólho em suporte improvisado para aplicação dos formulados .....	52
<b>Figura 6</b> – Esquema representativo simplificado de aplicação (dia 1).....	53
<b>Figura 7</b> – Fólhos em processo de secagem após aplicação dos formulados .....	53
<b>Figura 8</b> – Perfil Cromatográfico: Solvente de diluição puro (Acetona PA).....	63
<b>Figura 9</b> – Perfil Cromatográfico: Extrato de lavagem (Acetona + Folha).....	63
<b>Figura 10</b> – Perfil Cromatográfico: Solução padrão (Acetona + Analito).....	64
<b>Figura 11</b> – Perfil Cromatográfico: Solução amostra (Acetona + Água + Analito) .....	65
<b>Figura 12</b> – Solução Padrão modo SCAN (Íon Base).....	65
<b>Figura 13</b> – Fragmentação da Bifentrina .....	66

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> – Curva Analítica Quadrática Ponderada ( $1/Y^2$ ) .....	61
<b>Gráfico 2</b> – Sobreposição das equações Solvente x Matriz .....	70
<b>Gráfico 3</b> – Gráfico de Resíduos x Valores Ajustados (Modelo Linear).....	73
<b>Gráfico 4</b> – Heterocedasticidade .....	74
<b>Gráfico 5</b> – Gráfico de Resíduos x Valores Ajustados (Modelo Quadrático) .....	75

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	–	Concentração dos padrões analíticos.....	48
<b>Tabela 2</b>	–	Dados da curva analítica: Área e concentração dos padrões.....	60
<b>Tabela 3</b>	–	Intensidade Relativa dos Íons.....	67
<b>Tabela 4</b>	–	Tempo de Retenção .....	67
<b>Tabela 5</b>	–	Avaliação dos Intervalos de Confiança (IC) dos coeficientes.....	69
<b>Tabela 6</b>	–	Sinal Ruído .....	71
<b>Tabela 7</b>	–	Limites de Detecção e Quantificação .....	72
<b>Tabela 8</b>	–	Termos Estatísticos (Ajuste Linear).....	72
<b>Tabela 9</b>	–	Ponderações Estatísticas .....	74
<b>Tabela 10</b>	–	Termos Estatístico (Ajuste Quadrático Ponderado).....	76
<b>Tabela 11</b>	–	Incerteza Padrão (curva analítica).....	78
<b>Tabela 12</b>	–	Eficiência de Extração .....	79
<b>Tabela 13</b>	–	Recuperação .....	80
<b>Tabela 14</b>	–	Teste de Grubbs – Precisão .....	82
<b>Tabela 15</b>	–	Repetitividade e Precisão Intermediária .....	82
<b>Tabela 16</b>	–	ANOVA.....	83
<b>Tabela 17</b>	–	Incerteza Padrão (Precisão).....	84
<b>Tabela 18</b>	–	Avaliação Robustez: Dureza da Água em Calda .....	85
<b>Tabela 19</b>	–	Incerteza conjunta e expandida.....	88
<b>Tabela 20</b>	–	Amostras: Valores Observados .....	90
<b>Tabela 21</b>	–	Amostras: Cálculo das Frações.....	90

## APÊNDICES

<b>Tabela A1</b>	–	Avaliação do Tune – Posição dos Íons de Referência.....	100
<b>Tabela A2</b>	–	Avaliação do Tune – Razões Isotópicas.....	100
<b>Tabela A3</b>	–	Avaliação do Tune – Intensidade Relativa.....	100
<b>Tabela A4</b>	–	Avaliação do Tune – Precusores.....	101
<b>Tabela A5</b>	–	Avaliação do Tune – Vazamentos e Tensão .....	101

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> – Referências Normativas x Parâmetros .....	34
<b>Quadro 2</b> – Compilação dos dados de Validação.....	89
<b>Quadro 3</b> – Interpretação dos dados segundo características dos surfactantes .....	92

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council
CITAC	Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CODEX	Codex Alimentarius (FAO/OMS)
DCE	Detector por Captura de Elétrons (Electron Capture Detector)
DIC	Detector de Ionização de Chama (Flame Ionization Detector)
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo (Relative Standard Deviation, RSD)
EC	Concentrado Emulsionável
EI	Electron Impact (Ionização por impacto de elétrons)
EM	Espectrometria de Massas (Mass Spectrometry)
EP	Erro Padrão
EURACHEM	European Network of Analytical Chemistry
GC-MS	Gas Chromatography – Mass Spectrometry
GEE	Gases de Efeito Estufa
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
IC	Intervalo de Confiança (Confidence Interval)
ICH	International Conference on Harmonisation
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	International Organization for Standardization
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MIP	Manejo Integrado de Pragas
MRM	Multiple Reaction Monitoring (Monitoramento de Reações Múltiplas)
PFTBA	Perfluorotributilamina

POP's	Procedimentos Operacionais Padrão
$r_{corr}$	Coefficiente de Correlação
$R^2$	Coefficiente de Determinação
RBC	Rede Brasileira de Calibração
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RSDr	Desvio Padrão Relativo da Repetitividade
RSDR	Desvio Padrão Relativo da Precisão Intermediária
$Sy/x$	Erro de Regressão
S/N	Relação Sinal/Ruído
SANTE	Directorate-General for Health and Food Safety
SCAN	Scanning Mode (Modo de Varredura)
SC	Suspensão Concentrada
SIM	Selected Ion Monitoring (Monitoramento de Íons Seleccionados)
TR	Tempo de retenção
UEL	Universidade Estadual de Londrina
WG	Water Dispersible Granules (Grânulos Dispersíveis em Água)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1</b>	<b>A soja</b> .....	<b>20</b>
<b>2.2</b>	<b>A indústria</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3</b>	<b>Os inseticidas e suas formulações</b> .....	<b>23</b>
2.3.1	A bifentrina .....	25
<b>2.4</b>	<b>Resistência à lavagem</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5</b>	<b>Cromatografia de gases</b> .....	<b>29</b>
2.5.1	Cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massas.....	31
<b>2.6</b>	<b>Validação de método analítico</b> .....	<b>32</b>
<b>2.7</b>	<b>Referências normativas e bibliográficas</b> .....	<b>33</b>
<b>2.8</b>	<b>Figuras de linguagem</b> .....	<b>34</b>
2.8.1	Seletividade.....	34
2.8.2	Sensitividade analítica.....	35
2.8.3	Linearidade .....	36
2.8.4	Exatidão .....	36
2.8.5	Precisão .....	37
2.8.6	Faixa de trabalho .....	38
2.8.7	Limite de detecção e quantificação .....	38
2.8.8	Robustez .....	40
2.8.9	Incerteza .....	41
<b>3</b>	<b>OBJETIVO DE ANÁLISE</b> .....	<b>43</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>43</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO METODOLÓGICA</b> .....	<b>44</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais</b> .....	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Solventes, reagentes e padrões</b> .....	<b>44</b>
<b>4.3</b>	<b>Equipamentos</b> .....	<b>44</b>
<b>4.4</b>	<b>Condições cromatográficas</b> .....	<b>45</b>

4.4.1	Injeção.....	45
4.4.2	Coluna.....	45
4.4.3	Forno.....	46
4.4.4	Linha de transferência CG-EM.....	46
4.4.5	Detector EM.....	47
<b>4.5</b>	<b>Preparo de soluções padrão.....</b>	<b>47</b>
<b>4.6</b>	<b>Preparo das amostras.....</b>	<b>48</b>
4.6.1	Coleta das amostras.....	48
4.6.2	Armazenamento e conservação.....	50
4.6.3	Preparo da calda.....	51
4.6.4	Aplicação.....	51
4.6.5	Procedimentos de lavagem e extração.....	53
4.6.6	Etapas críticas e cuidados.....	55
<b>4.7</b>	<b>Tratamento dos dados.....</b>	<b>56</b>
4.7.1	Processamento e registro dos resultados.....	56
4.7.2	Software e ferramentas estatísticas utilizadas.....	56
<b>4.8</b>	<b>Controle de Qualidade Interno.....</b>	<b>57</b>
<b>4.9</b>	<b>Justificativa da escolha do método.....</b>	<b>58</b>
<b>4.10</b>	<b>Verificação de desempenho instrumental.....</b>	<b>59</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>60</b>
<b>5.1</b>	<b>Calibração e curva analítica.....</b>	<b>60</b>
5.1.1	Construção da curva analítica.....	60
5.1.2	Equação de regressão e correlação.....	61
<b>5.2</b>	<b>Validação do método analítico.....</b>	<b>62</b>
5.2.1	Seletividade.....	62
5.2.2	Limite de detecção e quantificação.....	70
5.2.3	Linearidade.....	72
5.2.4	Exatidão.....	79
5.2.5	Precisão.....	81
5.2.6	Faixa de trabalho.....	84
5.2.7	Robustez.....	85
5.2.8	Incerteza expandida.....	86
5.2.9	Síntese dos dados.....	89

<b>5.3</b>	<b>Aplicação do método .....</b>	<b>90</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>94</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>95</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>100</b>
	<b>APÊNDICE A – Tune automático .....</b>	<b>100</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A soja desempenha um papel crucial na economia brasileira, sendo uma das principais culturas agrícolas do país, tanto para consumo interno, quanto para as exportações. Além de ser uma fonte importante de alimentos para humanos e animais, a soja também é utilizada na produção de óleo vegetal, biocombustíveis e uma variedade de produtos industriais. Para proteger as plantações de soja contra pragas e doenças, os agricultores frequentemente utilizam agrotóxicos, como a bifentrina, um piretroide, eficaz no controle de uma série de pragas que afetam a soja, como pulgões e percevejos.

No entanto, um desafio ambiental enfrentado pelos agricultores é a lavagem dos produtos químicos aplicados nas plantações pela água da chuva, orvalho e irrigação. Essa lavagem, além de diminuir a eficácia dos produtos no combate a pragas presentes nas lavouras, pode contribuir na contaminação do solo, cursos d'água e ecossistemas, representando sérios problemas ambientais, como a morte de organismos não-alvo e riscos para a saúde humana.

Para mitigar esses problemas, o presente estudo realizou testes de resistência à lavagem do princípio ativo em diferentes formulações, aplicados em folha de culturas de soja através do método de folha destacada (Yarwood, 1946), por meio do uso da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) a qual será validada. Esses testes auxiliaram na avaliação da capacidade do inseticida em permanecer nas folhas, após a aplicação e exposição dos produtos a condições de lavagem. Selecionar a formulação do produto de acordo com a necessidade de utilização é crucial para garantir sua eficácia. Isso pode envolver a utilização de formulações específicas que garantam a aderência do produto à folha da planta, reduzindo a sua suscetibilidade à lavagem pela água, facilitando processos sustentáveis no plantio.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A SOJA

A soja (*Glycine max*) é uma leguminosa de grande importância global, tanto na agricultura quanto na alimentação humana e animal. Originária da China, a soja tornou-se uma cultura agrícola essencial em todo o mundo, especialmente nas últimas décadas, devido à sua versatilidade e benefícios nutricionais. Segundo dados atualizados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2026), o Brasil mantém-se como o maior produtor mundial de soja, com produção estimada em aproximadamente 178 milhões de toneladas na safra 2025/26, superando Estados Unidos e Argentina e consolidando sua liderança no cenário global. Tal volume de produção no País revela a importância da soja na economia brasileira (Dall’Agnol, 2016), importância essa que se deve à versatilidade do uso da soja, estendendo sua aplicabilidade a uma variedade de produtos. Além do grão de soja, que pode ser consumido diretamente ou processado em farinha, óleo e leite de soja, a leguminosa é uma fonte chave de ingredientes para uma gama diversificada de produtos alimentícios, como tofu, tempeh, molhos de soja, proteína texturizada de soja, entre outros. Além disso, os subprodutos da soja podem também ser utilizados em muitos setores industriais, incluindo na fabricação de biocombustíveis, plásticos, cosméticos, tintas e produtos de limpeza (AGROADVANCE, 2023).

Segundo RAMOS et al. (2022), a cultura de soja desempenha um papel crucial na preservação ambiental e na sustentabilidade agrícola em diversas regiões do mundo. Embora às vezes seja alvo de críticas devido a práticas de cultivo intensivas e à expansão descontrolada, a soja, quando cultivada de forma responsável e sustentável, pode trazer uma série de benefícios ambientais significativos. Uma das principais contribuições da cultura de soja para o meio ambiente é a capacidade de promover a rotação de culturas. A rotação de culturas, que envolve alternar o plantio de diferentes tipos de plantas em uma mesma área ao longo do tempo, ajuda a melhorar a saúde do solo, reduzir a erosão e controlar doenças e pragas. A soja, em associação simbiótica com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, apresenta capacidade de fixação biológica de nitrogênio, beneficiando as culturas subsequentes ao fornecer uma fonte de nitrogênio naturalmente disponível para o solo, reduzindo assim a necessidade de fertilizantes sintéticos que podem causar poluição e

degradação do solo.

Outro aspecto crucial é o potencial da soja como uma alternativa aos combustíveis fósseis. A soja é atualmente a principal fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel no Brasil, respondendo por cerca de 70% da produção nacional (ANP, 2024), sendo este um biocombustível renovável que pode substituir o diesel convencional em veículos automotores. O uso de biodiesel de soja pode reduzir significativamente as emissões de gases de efeito estufa e a dependência de combustíveis fósseis, contribuindo assim para a mitigação das mudanças climáticas e a transição para uma economia mais verde e sustentável. Em conjunto a isso, a cultura de soja também atua como uma grande fonte de sequestro de gases do efeito estufa (GEE) no ambiente, devido ao fato de sua área plantada contemplar aproximadamente 45.235,4 mil hectares (Conab, 2024), o equivalente a mais de 4,5% do território brasileiro. O processo de sequestro de gases de efeito estufa (GEE) promovido pela cultura de soja é uma parte importante do papel ambiental positivo desempenhado por essa cultura, sendo ela suficiente até mesmo para neutralizar a emissão de GEE contida no próprio processo de plantio da lavoura, quando realizada de forma a adotar as leis ambientais brasileiras (Toloi et al., 2024). O sequestro de carbono, em particular, é uma função essencial das plantas, contribuindo para a mitigação dos gases de efeito estufa (GEE) e das mudanças climáticas.

Sendo assim, a soja desempenha um papel significativo na economia global, tanto como cultura agrícola quanto como commodity. O comércio internacional do grão movimenta bilhões de dólares anualmente, tendo evoluído de menos de US\$ 10 bilhões em 2000 para mais de US\$ 64 bilhões em 2020, evidenciando sua relevância econômica crescente (FAO, 2022). No contexto brasileiro, a soja destaca-se como o principal produto de exportação, representando parcela expressiva da balança comercial e respondendo por mais de 50% das exportações globais em 2025 (EMBRAPA, 2023; CEPEA, 2025). Essa cadeia produtiva exerce impacto direto na economia, contribuindo para a geração de renda, dinamização do setor logístico e criação de empregos ao longo de toda a cadeia, desde a produção agrícola até a industrialização e comercialização (VIEIRA FILHO, 2024).

Além da importância econômica, a cultura da soja também pode desempenhar papel relevante nas questões ambientais, especialmente quando associada a práticas agrícolas sustentáveis. Nesse contexto, o manejo adequado pode contribuir para a conservação do solo, uso eficiente de recursos naturais e

redução de impactos ambientais. Iniciativas como a Moratória da Soja, que restringe a comercialização de grãos oriundos de áreas desmatadas na Amazônia, evidenciam o potencial do setor em alinhar produção agrícola e preservação ambiental (ABIOVE; ANEC, 2023) . Dessa forma, quando conduzida de forma responsável, a cultura da soja pode contribuir para a conservação da biodiversidade, mitigação de emissões e proteção de ecossistemas estratégicos.

## 2.2 A INDÚSTRIA

A indústria agroquímica no Brasil desempenha um papel crucial no apoio à produção agrícola do país, que se destaca como uma das maiores potências agrícolas do mundo. Nesse contexto, essa indústria é responsável pela fabricação e comercialização de uma ampla variedade de insumos agrícolas, incluindo fertilizantes e defensivos químicos, como herbicidas, fungicidas e inseticidas, fundamentais para a proteção das lavouras e o aumento da produtividade (EMBRAPA, 2023). Esses insumos são essenciais para sustentar os elevados níveis de produção agrícola nacional, contribuindo diretamente para a eficiência e competitividade do agronegócio brasileiro.

Com uma extensão territorial vasta e grande diversidade climática e de solos, o Brasil apresenta condições altamente favoráveis para o desenvolvimento de uma agricultura diversificada e produtiva (IBGE, 2022). Nesse cenário, a indústria agroquímica desempenha um papel fundamental no fornecimento de tecnologias e soluções que visam maximizar a produtividade e a qualidade dos cultivos em todas as regiões do país (EMBRAPA, 2023), contribuindo para a eficiência dos sistemas agrícolas e para o fortalecimento do agronegócio nacional.

A pesquisa e o desenvolvimento de novos produtos constituem áreas de destaque na indústria agroquímica brasileira, sendo fundamentais para a inovação no setor agrícola. As empresas investem continuamente em programas de pesquisa visando o desenvolvimento de novas formulações de agrotóxicos mais eficazes, seguras e ambientalmente sustentáveis (OECD, 2020). Nesse contexto, questões relacionadas à sustentabilidade e à preservação ambiental têm ganhado crescente relevância nas indústrias do setor agrícola, impulsionando a adoção de tecnologias mais eficientes e menos impactantes ao meio ambiente.

Produtos com formulações eficazes resultam em economias para as

indústrias durante o processo fabril, reduzindo o consumo de insumos e o volume de substâncias químicas liberadas no ambiente. Adicionalmente, a maior eficácia e persistência desses ativos, especialmente em relação à resistência à lavagem pela água da chuva, pode reduzir a necessidade de aplicações repetidas, o que acarreta economias significativas para os agricultores em termos de custos com insumos e mão de obra (FAO, 2018). Nesse contexto, os interesses industriais das empresas no desenvolvimento de produtos agroquímicos eficazes estão alinhados com a oferta de soluções eficientes, competitivas e sustentáveis, capazes de atender às necessidades produtivas e, ao mesmo tempo, minimizar os impactos ambientais.

Vale ressaltar também a importância da indústria agroquímica no Brasil no tocante à economia nacional. A produção e comercialização de insumos agrícolas geram empregos diretos e indiretos em toda a cadeia produtiva, desde a pesquisa e desenvolvimento até a distribuição e venda dos produtos (OECD, 2020). Além disso, as exportações relacionadas ao agronegócio, incluindo insumos e produtos associados, contribuem significativamente para a balança comercial do país, reforçando a relevância do setor para a economia brasileira.

Sendo assim, a indústria agroquímica desempenha um papel vital no suporte à agricultura brasileira, fornecendo tecnologias e insumos essenciais para a produção de diversos produtos. Ao mesmo tempo, é importante que a indústria continue a inovar, buscando dados e soluções sustentáveis para os desafios enfrentados pela agricultura moderna.

### 2.3 OS INSETICIDAS E SUAS FORMULAÇÕES

Os inseticidas são produtos químicos (agrotóxicos) desenvolvidos para controlar e eliminar insetos indesejados, sejam eles pragas agrícolas, que prejudicam plantações — como percevejos e pulgões —, ou pragas domésticas, como baratas e mosquitos. Quando utilizados de maneira adequada, esses produtos desempenham um papel crucial na proteção da saúde pública, na preservação dos alimentos e na manutenção da saúde das plantas.

No Brasil, os inseticidas compõem uma das principais classes de defensivos agrícolas registrados para uso no controle de pragas, sendo amplamente utilizados em diferentes culturas de importância econômica. Esses produtos passam por rigoroso processo de avaliação e registro, conduzido por órgãos reguladores como

o Ministério da Agricultura e Pecuária, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, que analisam aspectos relacionados à eficácia agronômica, toxicidade e impacto ambiental (BRASIL, 2019). Há uma ampla variedade de inseticidas registrados para uso agrícola, os quais podem ser consultados em bases oficiais como o sistema Agrofit do Ministério da Agricultura. Entre os principais ingredientes ativos utilizados no controle de pragas destacam-se compostos como acefato, metomil, imidacloprido, e bifentrina, pertencentes a diferentes grupos químicos e com distintos mecanismos de ação (MAPA, 2024).

Nesse contexto, existem diferentes tipos de formulações de inseticidas, cada uma com características específicas, desenvolvidas para atuar sobre distintos grupos de insetos e em diferentes estágios do seu ciclo de vida. Esses produtos podem ser classificados segundo diversos critérios, como composição química, modo de ação e alvo de aplicação. Entre essas classificações, destaca-se aquela baseada no tipo de formulação, uma vez que esta influencia diretamente o preparo, a aplicação e a eficiência do produto. Dentre as formulações mais utilizadas, destacam-se:

O Concentrado Emulsionável (EC) consiste em uma formulação líquida à base de solventes orgânicos que forma uma emulsão estável quando diluída em água, sendo amplamente empregada para ingredientes ativos de natureza lipofílica (FAO; WHO, 2016). Essa formulação apresenta elevada eficiência agronômica; no entanto, pode estar associada a maior risco de fitotoxicidade e maior exposição do aplicador durante o manuseio, em função da presença de solventes orgânicos.

A Suspensão Concentrada (SC) consiste em uma formulação líquida à base de água, na qual o ingrediente ativo encontra-se disperso sob a forma de partículas finas, proporcionando boa estabilidade física e facilidade de aplicação, além de reduzir o uso de solventes orgânicos (FAO; WHO, 2016). Essa característica torna esse tipo de formulação uma alternativa mais segura em termos de manuseio e impacto ambiental quando comparada a formulações baseadas em solventes.

Os Grânulos Dispersíveis em Água (WG) consistem em uma formulação sólida, apresentada na forma de grânulos, que se dispersam facilmente em água, originando uma suspensão homogênea (FAO; WHO, 2016). Essa formulação oferece vantagens como menor risco de inalação durante o preparo,

facilidade de transporte e armazenamento, além de reduzir a exposição do aplicador durante o manuseio, quando comparada a formulações em pó ou líquidas à base de solventes.

Além dessas, existem outras formulações, como pós e aerossóis, cada qual com aplicações e vantagens específicas, de acordo com o objetivo do controle de pragas.

Os inseticidas também podem ser classificados segundo seu modo de ação. Alguns atuam como neurotoxinas, afetando o sistema nervoso dos insetos e provocando paralisia e morte, como é o caso dos inseticidas inibidores da acetilcolinesterase. Outros interferem no desenvolvimento e crescimento, impedindo que os insetos atinjam a fase reprodutiva, como os reguladores de crescimento. Há ainda aqueles que atuam como repelentes, afastando os insetos sem necessariamente eliminá-los (WARE; WHITACRE, 2004).

Apesar de sua importância no controle de pragas, o uso inadequado ou excessivo de inseticidas pode trazer consequências ambientais e agrônomicas negativas. A aplicação indiscriminada pode resultar na eliminação de insetos benéficos, como polinizadores e inimigos naturais das pragas, além de favorecer o surgimento de populações resistentes, dificultando o manejo a longo prazo.

Diante disso, é fundamental que o uso de inseticidas seja realizado de maneira criteriosa e responsável, respeitando-se as orientações de uso seguro, que incluem a leitura atenta das instruções de aplicação, o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) adequados e a consideração de estratégias alternativas, como o manejo integrado de pragas e o controle biológico, sempre que possível.

Em geral, os inseticidas desempenham um papel relevante na proteção da saúde humana, da agricultura e do meio ambiente, mas seu uso deve estar alinhado a práticas sustentáveis, priorizando a segurança e a preservação ecológica.

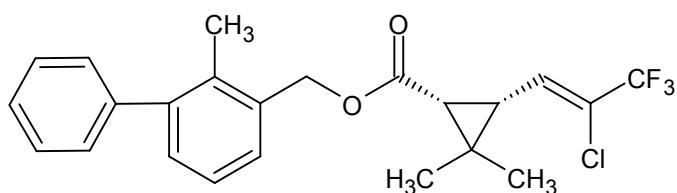
### 2.3.1 A Bifentrina

Embora não figure entre os ingredientes ativos mais comercializados em termos de volume (BR: 6.161,94 ton/ano; PR: 760 ton/ano) (IBAMA, 2024), a bifentrina apresenta elevada relevância agrônômica, especialmente em função de sua alta potência inseticida e uso em baixas doses, característica comum aos piretroides

(IBAMA, 2025), sendo também um dos compostos amplamente utilizados em escala global, em razão de sua elevada eficácia no controle de uma ampla gama de insetos-praga.

Classificada como um éster pertencente à classe dos piretroides (figura 1), a bifentrina atua como neurotoxina, afetando o sistema nervoso dos insetos através da interferência nos canais de sódio. Em condições normais os canais de sódio abrem-se rapidamente para permitir o influxo de íons  $\text{Na}^+$  durante o potencial de ação e, em seguida, se inativam de forma quase imediata. A bifentrina, assim como outros piretroides, prolonga o estado de abertura desses canais, impedindo o fechamento adequado e causando descargas nervosas repetitivas (Soderlund; Bloomquist, 1989; Bloomquist, 1991) causando paralisia e eventual morte. O modo de exposição dos insetos ao ativo encontra-se principalmente por contato e/ou ingestão.

**Figura 1** – Molécula de Bifentrina



**Fonte:** Software ACD/ChemSketch.

Um dos principais atrativos da bifentrina, além de sua eficácia, é sua versatilidade de aplicação. Ela está disponível em várias formulações, incluindo líquidos concentrados, granulados e aerossóis, o que permite sua utilização tanto em ambientes domésticos quanto em áreas agrícolas. Além disso, sua estabilidade química garante uma eficácia prolongada após a aplicação.

No contexto doméstico, a bifentrina é amplamente empregada no controle de pragas como baratas, formigas, aranhas, traças, pulgas e percevejos. Sua ação residual é especialmente útil para impedir infestações recorrentes em residências e espaços comerciais. Em áreas agrícolas, a bifentrina é aplicada para combater uma variedade de pragas que afetam culturas como grãos, frutas, vegetais e árvores frutíferas, sendo também utilizada em culturas de soja no controle de lagartas e percevejos (NPIC, 2010). Essa versatilidade está associada ao seu amplo espectro de ação e elevada eficácia como inseticida piretroide.

Apesar de sua eficácia, é fundamental que a utilização de inseticidas ocorra de forma consciente e seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante. O uso excessivo ou inadequado desses produtos pode acarretar consequências negativas ao meio ambiente, incluindo a mortalidade de insetos benéficos, como polinizadores e inimigos naturais das pragas (FAO; WHO, 2016). Além disso, é essencial o uso de equipamentos de proteção individual durante a aplicação, a fim de minimizar a exposição humana aos produtos químicos e reduzir riscos à saúde do aplicador.

Como com qualquer inseticida, é recomendável considerar métodos de controle de pragas alternativos e integrados sempre que possível, como o manejo adequado da vegetação e o controle biológico, em consonância com os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Dessa forma, é possível aproveitar os benefícios da bifentrina no controle de pragas, ao mesmo tempo em que se protege o meio ambiente e a saúde humana.

#### 2.4 RESISTÊNCIA À LAVAGEM

A resistência à lavagem de agrotóxicos em superfície foliar é um fenômeno de extrema relevância no contexto da agricultura moderna. Compreender esse processo é fundamental para garantir a eficácia dos produtos fitossanitários e minimizar os impactos ambientais.

Quando aplicados sobre as folhas das plantas, os agrotóxicos estão sujeitos a diversos fatores que podem comprometer sua permanência e eficácia. A resistência à lavagem refere-se à capacidade desses produtos de permanecerem aderidos à superfície foliar diante da ação da água da chuva, irrigação ou mesmo do orvalho (HOLLOWAY, 1993). Esse fenômeno está diretamente relacionado às propriedades físico-químicas do ingrediente ativo e da formulação, bem como às características da superfície foliar.

Existem vários fatores que influenciam a resistência à lavagem desses compostos. A formulação do produto, a morfologia da folha, as condições climáticas e o tempo decorrido desde a aplicação são alguns dos principais aspectos envolvidos. Além disso, a presença de resíduos orgânicos, como ceras e exsudatos na superfície foliar, também pode afetar significativamente a aderência dos agrotóxicos (KIRKWOOD, 1999), uma vez que essas características interferem nas

interações físico-químicas entre o produto e a superfície da planta.

A resistência à lavagem é particularmente importante em culturas que demandam aplicações frequentes de agrotóxicos, como é o caso de muitas monoculturas intensivas (ex: soja, milho, trigo, algodão). Nesses sistemas, a eficácia dos tratamentos fitossanitários está diretamente relacionada à capacidade dos produtos em permanecerem ativos sobre as folhas por períodos prolongados, garantindo uma proteção contínua contra pragas e doenças.

Para contornar os desafios relacionados à lavagem desses ativos, os produtores podem adotar algumas estratégias. Isso inclui a escolha de produtos com formulações específicas que promovam uma melhor aderência às folhas, a aplicação em momentos climáticos mais favoráveis e o uso de adjuvantes que auxiliem na fixação dos agrotóxicos. Essas práticas ajudarão a manter o produto aderido às folhas, e consequentemente após a colheita, aderidos à palhada, dificultando sua disseminação no ambiente, facilitando práticas sustentáveis para sua remoção.

Quando os agrotóxicos aplicados sobre a superfície foliar apresentam baixa resistência à lavagem, tornam-se mais suscetíveis à remoção por chuva, irrigação ou processos de lixiviação. Esse arraste facilita o transporte dos compostos para o solo, onde podem se acumular, migrar para camadas mais profundas ou contaminar corpos d'água adjacentes. A persistência desses resíduos é especialmente preocupante no caso dos piretróides, como a bifentrina, cuja bioacumulação já foi relatada em peixes de rios de bacias ibéricas (Corcellas et al., 2015) e em amostras de cera de abelhas (García et al., 2017).

A bifentrina apresenta elevada lipofilicidade ( $\log P \approx 6,0 - 6,6$ ), baixa solubilidade em água e forte adsorção à matéria orgânica. Essas características conferem não apenas alta afinidade pela matriz foliar, mas também elevada recalcitrância, favorecendo sua permanência no solo por períodos que podem variar de 7 dias a até 8 meses, dependendo das condições ambientais (KUMAR et al., 2018; MUKHERJEE, 2019). Essa persistência pode desencadear diversos impactos negativos, incluindo redução da biodiversidade, contaminação de águas subterrâneas, toxicidade a organismos benéficos do solo e aumento da resistência de pragas, além de possíveis riscos à saúde humana em populações expostas.

Diante desse cenário, a adoção de estratégias sustentáveis para mitigação da contaminação torna-se fundamental. A biorremediação destaca-se como uma alternativa eficaz ao empregar micro-organismos capazes de degradar poluentes

e convertê-los em produtos menos tóxicos, como água, CO<sub>2</sub> e biomassa (AZIZ; MONIER et al., 2019). Bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Sphingomonas* e *Acinetobacter* apresentam capacidade de metabolizar bifentrina e outros piretróides por meio de enzimas como esterases e monooxigenases, podendo alcançar reduções superiores a 75% em apenas 10 dias, como demonstrado com *Pseudomonas fulva* (YANG et al., 2018; ZHANG et al., 2021). Esse processo pode ser intensificado pela adição de matéria orgânica ou fontes simples de carbono, que estimulam o co-metabolismo microbiano e aceleram a degradação (LI et al., 2019).

Paralelamente, a fitorremediação configura-se como abordagem natural e de baixo custo para remoção ou imobilização de contaminantes, utilizando plantas com alta biomassa e tolerância a toxinas (SINGH et al., 2020). Espécies como *Brassica juncea*, *Helianthus annuus*, *Zea mays* e *Vetiveria zizanioides* demonstram capacidade de acumular bifentrina em tecidos radiculares e caulinares, além de estimular micro-organismos rizosféricos degradadores (SINGH et al., 2020). A associação entre plantas fitorremediadoras e micro-organismos benéficos, conhecida como fitorremediação assistida, potencializa a eficiência do processo por meio da sinergia entre absorção vegetal e degradação microbiana (KUMAR; SHARMA, 2022).

Em conjunto, esses processos — quando aplicados de forma integrada — ampliam a eficiência da remediação, reduzindo a carga residual no solo e contribuindo para práticas agrícolas mais seguras, eficazes e ambientalmente responsáveis.

## 2.5 CROMATOGRAFIA DE GASES

A cromatografia de gases é uma técnica instrumental de separação amplamente utilizada na análise química de compostos orgânicos e organometálicos voláteis. Baseia-se na partição dos analitos entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária, geralmente composta por polímero fixado em um suporte sólido no interior de uma coluna. Trata-se de uma técnica com elevado poder de resolução, sensibilidade e rapidez, o que a torna indispensável em diversas áreas da ciência, como química analítica, farmacêutica, ambiental, alimentícia e petroquímica (SKOOG et al., 2014; HARRIS, 2019).

Na cromatografia de gases, a amostra é vaporizada e injetada em um fluxo contínuo de gás inerte – geralmente hélio, nitrogênio ou hidrogênio – que atua

como fase móvel. Esse fluxo transporta os componentes da amostra através da coluna cromatográfica, onde ocorre a separação devido à interação diferencial de cada composto com a fase estacionária. Compostos com maior afinidade pela fase estacionária se movimentam mais lentamente, enquanto aqueles com menor afinidade são eluidos mais rapidamente (POOLE, 2004). Esse comportamento diferencial permite a separação eficiente de misturas complexas.

A separação cromatográfica é influenciada por diversos fatores, como a temperatura da coluna, a velocidade do fluxo de gás, o tipo de fase estacionária utilizada, o comprimento da coluna e as propriedades físico-químicas dos analitos, como volatilidade e polaridade. As colunas podem ser empacotadas ou capilares, sendo estas últimas mais utilizadas atualmente devido à sua maior eficiência e capacidade de separação (CHRISTIAN; BRUNO, 2012).

A detecção dos compostos eluidos pode ser realizada por diferentes detectores, sendo os mais comuns o detector de ionização de chama (DIC), o detector por captura de elétrons (DCE) e o espectrômetro de massas (EM). O DIC é amplamente utilizado por sua sensibilidade e ampla faixa linear, especialmente na análise de compostos orgânicos. O acoplamento da cromatografia de gases ao espectrômetro de massas (CG-EM) permite, além da separação, a identificação estrutural dos analitos com alto grau de especificidade (HARRIS, 2019), como é o caso deste estudo.

Devido à sua elevada capacidade de separar e quantificar compostos em níveis traço, a cromatografia de gases tem sido aplicada com sucesso em análises ambientais, como na detecção de agrotóxicos, solventes e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. No controle de qualidade de produtos farmacêuticos e industriais, permite verificar a presença de impurezas e solventes residuais. Em alimentos, é empregada na análise de contaminantes e compostos voláteis relacionados ao aroma e sabor (SKOOG et al., 2014).

No presente trabalho, a cromatografia de gases acoplada ao espectrômetro de massas foi empregada como técnica analítica principal para a quantificação de resíduos presentes nas superfícies foliares tratadas com diferentes formulações. A escolha dessa técnica justifica-se pela sua compatibilidade com a matriz de interesse, pela robustez metodológica e pela capacidade de oferecer resultados confiáveis com elevada resolução analítica.

### 2.5.1 Cromatografia de Gases Acoplada à Espectrometria de Massas

A cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massas (CG-EM ou GC-MS, do inglês *Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) representa uma das abordagens mais poderosas da análise instrumental moderna, combinando a elevada capacidade de separação da CG com o alto poder de identificação estrutural da espectrometria de massas. Esta integração permite a detecção, identificação e quantificação de compostos orgânicos voláteis ou semivoláteis com alta sensibilidade, seletividade e especificidade, mesmo em matrizes complexas (HARRIS, 2019; POOLE, 2004).

O funcionamento da CG-EM baseia-se em duas etapas principais. Inicialmente, a amostra é separada na coluna cromatográfica, onde os analitos são vaporizados, transportados por um gás inerte, e separados com base em suas interações diferenciais com a fase estacionária. Em seguida, à medida que os compostos eluem da coluna, são direcionados ao espectrômetro de massas, onde sofrem ionização, fragmentação e posterior análise de seus íons gerados (SKOOG et al., 2014).

O tipo mais comum de ionização utilizado em sistemas de CG-EM é a ionização por impacto de elétrons (EI – *Electron Impact*), na qual os analitos gasosos são bombardeados com um feixe de elétrons de alta energia. Esse processo gera íons fragmentados de forma reprodutível, o que permite a construção de espectros de massas característicos e únicos para cada composto, funcionando como uma “impressão digital molecular”. Tais espectros podem ser comparados com bibliotecas comerciais para a identificação confiável dos compostos presentes na amostra (CHRISTIAN; BRUNO, 2012).

A aplicação da CG-EM na determinação de bifentrina justifica-se pelas propriedades físico-químicas do analito, cuja volatilidade e termo estabilidade favorecem a separação cromatográfica com alta eficiência e resolução. O acoplamento ao espectrômetro de massas amplia a seletividade e a sensibilidade, permitindo detecção em níveis de traço, identificação por íons característicos e quantificação robusta mesmo em matrizes complexas. Além disso, a técnica possibilita análise qualitativa e quantitativa simultânea com reduzida massa de amostra, sendo amplamente empregada em investigações de resíduos de agrotóxicos e compostos voláteis (POOLE, 2004).

No contexto de análises de resíduos agrícolas, como agrotóxicos e solventes, a CG-EM oferece vantagens decisivas, permitindo não apenas a quantificação de resíduos em baixos níveis (ppm, ppb ou até ppt), mas também a confirmação estrutural dos analitos, mesmo na presença de interferentes da matriz. Sua aplicação é especialmente relevante quando se trabalha com substâncias termicamente estáveis e voláteis, como é o caso da bifentrina.

Diversos estudos demonstram a viabilidade da quantificação de bifentrina em matrizes foliares por GC-MS ou detectores seletivos, como em métodos validados para folhas de chá verde (TEIXEIRA et al., 2025) e em análises de depósitos do pesticida em folhas de ervilha utilizando QuEChERS e GC- $\mu$ ECD (HANAFI et al., 2016). Relatórios regulatórios da EFSA (2022) e de Health Canada (2021) também descrevem métodos multirresíduos por GC-MS/MS aplicados a folhas e produtos vegetais. Em soja, estudos de campo avaliam a dissipação da bifentrina em folhas após pulverização, principalmente por LC-MS/MS ou GC-MS/MS (ZHANG et al., 2019; LIU et al., 2020).

No entanto, não foram encontrados estudos que abordassem especificamente a quantificação da bifentrina residual aderida à superfície foliar da soja após ensaios de resistência à lavagem. Assim, o presente estudo apresenta caráter inédito ao integrar experimentos controlados de lavagem com a determinação analítica por GC-MS (quadropolo simples), validado para essa finalidade, ampliando a aplicabilidade do método para estudos de resistência a chuva (*rainfastness*), formulações agrícolas e dinâmica de resíduos na superfície foliar — áreas ainda pouco exploradas na literatura científica nacional e internacional.

De forma geral, a técnica CG-EM, constitui-se na literatura como uma ferramenta essencial para métodos analíticos que exigem confiabilidade e robustez na identificação e quantificação de traços de substâncias em matrizes complexas.

## 2.6 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO

A validação de métodos analíticos constitui uma etapa fundamental no desenvolvimento e aplicação de técnicas destinadas à quantificação ou qualificação de substâncias químicas em diferentes matrizes. Trata-se de um processo sistemático e documentado que visa demonstrar, com base em evidências experimentais, que um método analítico é adequado para o seu propósito pretendido,

assegurando confiabilidade, precisão intermediária e robustez dos resultados (ABNT NBR ISSO/IEC 17025).

Do ponto de vista regulatório, a validação é obrigatória quando o método será utilizado para controle de qualidade, ensaios de rotina, estudos de resíduos ou monitoramento ambiental (ABNT NBR ISSO 17025:2017), especialmente em contextos que envolvam registros de produtos, certificações ou fiscalizações. No Brasil, órgãos como a ANVISA (2017), o MAPA (2011) e INMETRO (2020) estabelecem diretrizes claras para a validação de métodos aplicáveis a agrotóxicos e resíduos em produtos vegetais.

Vale ressaltar que embora o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) estabeleça diretrizes específicas para a validação de métodos analíticos em laboratórios oficiais e credenciados – em especial para análise de agrotóxicos – tais requisitos possuem caráter regulatório e são aplicáveis principalmente a análises destinadas ao controle oficial, fiscalização, certificação e atendimento a programas governamentais. No entanto, o presente trabalho trata-se de um estudo experimental acadêmico, cujo objetivo é desenvolver, avaliar e aplicar um método analítico para fins de pesquisa científica, não se enquadrando na obrigatoriedade de cumprimento integral das normas do MAPA. Por isso foram selecionados guias específicos, como SANTE, ANVISA, INMETRO e Eurachem com o objetivo de assegurar um atendimento criterioso aos parâmetros avaliados.

Neste trabalho, a validação contemplou os parâmetros: seletividade, sensibilidade analítica, linearidade, exatidão, precisão, faixa de trabalho, limites de detecção e quantificação (LQ/LD), robustez e incerteza.

## 2.7 REFERÊNCIAS NORMATIVAS E BIBLIOGRÁFICAS

A validação do método foi conduzida em conformidade com guias e normativas reconhecidas. O documento SANTE/12682/2019 orientou a avaliação da seletividade através do efeito matriz e do uso de ponderações e ajuste de modelo em casos de heterocedasticidade na avaliação da linearidade. A RDC nº 166/2017 da ANVISA estabeleceu os critérios para limites de detecção e quantificação (LD e LQ), exatidão, faixa de trabalho e robustez, esta última verificada pela variação deliberada da dureza da água. O INMETRO em DOQ-CGCRE-008/2020 fundamentou a análise

de resíduos na linearidade (análise de regressão) e a estimativa da incerteza padrão, combinada e expandida, enquanto a sensibilidade analítica e a precisão, foram definidas de acordo com a Eurachem (2014).

#### **Quadro 1 – Referências Normativas x Parâmetros**

<b>Referências Normativas</b>	<b>Parâmetro</b>
SANTE	Seletividade e Linearidade
ANVISA	LQ/LD, Exatidão, Faixa de Trabalho e Robustez
INMETRO	Linearidade e Incerteza
EURACHEM	Sensibilidade Analítica e Precisão

**Fonte:** O próprio autor.

Vale lembrar que este estudo possuiu caráter exclusivamente acadêmico e experimental, não se enquadrando nas exigências regulatórias do MAPA destinadas a métodos aplicados ao controle oficial. Assim, embora o Ministério disponha de diretrizes específicas para validação analítica em âmbito governamental, o presente trabalho adotou guias técnicos selecionados para assegurar rigor metodológico, sem a obrigatoriedade de seguir integralmente as normas regulatórias.

## 2.8 FIGURAS DE LINGUAGEM

### 2.8.1 Seletividade

A seletividade, também denominada especificidade, corresponde à capacidade do método em determinar de forma inequívoca o analito de interesse na presença de possíveis interferentes, como componentes da matriz, impurezas, metabólitos e produtos de degradação. De acordo com a ICH Q2(R2) (2023), trata-se da habilidade do método em medir com precisão e exatidão o analito em matrizes complexas, sendo reforçada por diretrizes da ANVISA (2017) e do INMETRO (2020), que destacam sua importância especialmente em análises de resíduos em matrizes biológicas, ambientais e agrícolas.

Um aspecto diretamente relacionado à seletividade é o efeito de matriz, caracterizado pela influência dos constituintes da amostra na resposta

analítica, podendo causar supressão ou intensificação do sinal. Esse fenômeno pode comprometer a precisão, exatidão e precisão intermediária do método, sendo dependente da composição da matriz e do preparo da amostra. A avaliação da seletividade envolve a comparação entre amostras em branco, amostras fortificadas e padrões do analito, verificando-se a ausência de interferências na região de interesse analítico. Em métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas, essa confirmação pode incluir a consistência do tempo de retenção, a razão entre íons monitorados e a ausência de sinais interferentes. A falta de seletividade pode levar à quantificação incorreta do analito, comprometendo a confiabilidade dos resultados, especialmente em análises regulatórias.

### 2.8.2 Sensitividade Analítica

A sensibilidade analítica é um parâmetro fundamental na validação de métodos analíticos, especialmente em aplicações que envolvem a quantificação de analitos em matrizes complexas, como alimentos, amostras ambientais, biológicas e farmacêuticas. De forma geral, a sensibilidade está relacionada à capacidade do método em detectar pequenas variações na concentração do analito, sendo diretamente associada à inclinação da curva de calibração (slope). Quanto maior a inclinação da curva, maior será a resposta instrumental para uma mesma variação de concentração, indicando maior sensibilidade do método.

$$Sensitividade = \frac{\Delta Resposta}{\Delta Concentração}$$

Do ponto de vista matemático, a sensibilidade pode ser expressa como a razão entre a variação da resposta analítica e a variação da concentração do analito (INMETRO, 2020), sendo normalmente determinada a partir da curva analítica obtida com padrões de concentração conhecida. Em métodos lineares, esse parâmetro tende a permanecer constante ao longo da faixa de trabalho, enquanto em métodos não lineares, como modelos polinomiais, a sensibilidade pode variar conforme a concentração, refletindo a complexidade da resposta instrumental.

### 2.8.3 Linearidade

A linearidade é um parâmetro essencial na validação de métodos analíticos quantitativos, pois representa a capacidade do método em fornecer respostas diretamente proporcionais à concentração do analito dentro de uma faixa específica (ICH, 2023). Sua avaliação é realizada por meio da construção de uma curva analítica com diferentes níveis de concentração, aplicando-se regressão linear para obtenção da equação da reta e do coeficiente de correlação ( $R^2$ ), que deve ser próximo de 1,0 (HARRIS, 2015).

Além do coeficiente de correlação, a linearidade pode ser avaliada por critérios estatísticos complementares, como análise de resíduos, verificação da homoscedasticidade e uso de regressão ponderada, especialmente em métodos com ampla faixa de concentração ou em baixos níveis analíticos. Esse parâmetro pode ser influenciado por fatores como desempenho instrumental, preparo de amostras, estabilidade das soluções padrão e efeitos de matriz, que podem alterar a resposta analítica (EURACHEM, 2014).

A linearidade deve ser estabelecida dentro da faixa de trabalho do método, abrangendo as concentrações esperadas nas amostras reais, sendo fundamental para garantir a exatidão da quantificação. Em técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas, sua avaliação é ainda mais crítica devido à alta sensibilidade dos detectores e à possibilidade de desvios em concentrações extremas (SANTE, 2021).

### 2.8.4 Exatidão

A exatidão é um dos principais parâmetros na validação de métodos analíticos, representando o grau de concordância entre o valor obtido experimentalmente e o valor verdadeiro ou de referência. Esse parâmetro é essencial para garantir a confiabilidade dos resultados analíticos. De acordo com o INMETRO (2020), a exatidão deve ser preferencialmente avaliada por meio de materiais de referência certificados; na ausência destes, utilizam-se ensaios de recuperação, nos quais quantidades conhecidas do analito são adicionadas à amostra e posteriormente quantificadas.

A exatidão é geralmente expressa em termos de recuperação

percentual, sendo, de modo geral, aceitáveis valores entre 80% e 120% para a maioria dos métodos (ANVISA, 2017), embora esses limites possam variar conforme a matriz, concentração e/ou aplicação. Além disso, podem ser aplicados testes estatísticos, como o teste de Grubbs (1950), para identificação de valores discrepantes que possam comprometer a avaliação. A adequada verificação da exatidão é fundamental para assegurar resultados consistentes e confiáveis, evitando erros na interpretação dos dados analíticos.

### 2.8.5 Precisão

A precisão é um parâmetro importante na validação de métodos analíticos, representando o grau de concordância entre resultados obtidos em análises repetidas de uma mesma amostra. Ela reflete a dispersão dos dados em torno da média, sendo geralmente expressa pelo desvio padrão (DP) ou pelo desvio padrão relativo (DPR). A avaliação da precisão é essencial para garantir que o método produza resultados consistentes e reprodutíveis ao longo do tempo.

De acordo com o INMETRO (2020) e a ANVISA (2017), a precisão deve ser avaliada em diferentes níveis, incluindo a repetitividade, que considera condições idênticas de análise, e a precisão intermediária, que envolve variações como dias, analistas ou equipamentos. Em alguns casos, também pode ser avaliada a precisão intermediária, especialmente quando há necessidade de comparação entre diferentes laboratórios.

A precisão é determinada por meio da análise estatística dos resultados obtidos em repetições sucessivas, sendo o DP utilizado para expressar a dispersão absoluta e o DPR para expressar essa variação em termos percentuais. Os critérios de aceitação variam conforme o tipo de método, a matriz analisada e o objetivo do estudo, devendo estar de acordo com normas específicas. Em análises de resíduos, pode-se utilizar o critério de Horwitz como referência adicional para avaliar a aceitabilidade da precisão, relacionando o DPR à concentração do analito (HORWITZ, 1982; SANTE, 2021).

Além disso, recomenda-se, em algumas abordagens, a aplicação de um fator de correção ao valor de Horwitz, tornando o critério mais restritivo e adequado às condições de repetitividade. Dessa forma, a avaliação da precisão é indispensável para assegurar a confiabilidade do método analítico, sendo especialmente relevante

em áreas como controle de qualidade, análises ambientais e estudos de resíduos de agrotóxicos.

#### 2.8.6 Faixa de Trabalho

A faixa de trabalho é o intervalo de concentrações no qual o método analítico apresenta resposta diretamente proporcional à concentração do analito, com precisão, exatidão e linearidade adequadas (ICH, 2023). Trata-se, portanto, de um desdobramento direto da linearidade, sendo um dos parâmetros críticos na definição da aplicabilidade e da robustez de um método analítico.

Durante o desenvolvimento e validação de um método, a determinação da faixa de trabalho visa assegurar que a resposta instrumental permaneça linear dentro dos limites inferiores e superiores de concentração esperados para as amostras reais, permitindo quantificação precisa e exata ao longo deste intervalo (EURACHEM, 2014).

A definição da faixa de trabalho pode envolver:

- Seleção dos níveis de concentração: devem incluir o menor e o maior nível esperado nas amostras, preferencialmente abrangendo o limite de quantificação inferior (LQ).
- Construção da curva analítica: com múltiplos pontos distribuídos uniformemente ao longo da faixa pretendida.
- Avaliação estatística da regressão: através da análise do coeficiente de correlação ( $R^2$ ), resíduos, homocedasticidade e, quando necessário, aplicação de ponderação nos métodos de regressão linear (SANTE/12682/2019).

A faixa de trabalho pode variar amplamente dependendo da técnica instrumental e do objetivo do método. Métodos para determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos e amostras ambientais, por exemplo, frequentemente exigem faixas que abrangem níveis de traço, enquanto métodos de controle de qualidade farmacêutico podem operar em faixas superiores (INMETRO, 2020).

#### 2.8.7 Limite de Detecção e Quantificação

O Limite de Detecção (LD) é definido como a menor quantidade de

analito que pode ser detectada em uma amostra, embora não necessariamente quantificada com exatidão, sendo distinguível do ruído de fundo do método (ICH, 2023). Já o Limite de Quantificação (LQ) corresponde à menor concentração que pode ser determinada com níveis aceitáveis de precisão e exatidão, garantindo resultados confiáveis (ICH, 2023; ANVISA, 2017). Esses parâmetros são especialmente importantes em análises de resíduos, contaminantes e impurezas, nas quais os analitos estão presentes em baixas concentrações.

A determinação de LD e LQ pode ser realizada por diferentes abordagens, destacando-se os métodos estatísticos baseados na curva analítica e aqueles fundamentados na relação sinal/ruído (S/R). Este último é amplamente utilizado em técnicas instrumentais, como cromatografia e espectrometria, sendo particularmente útil quando os sinais do analito e do ruído são diretamente observáveis em amostras reais.

A relação sinal/ruído é obtida pela comparação entre a intensidade do sinal do analito e o ruído da linha de base, permitindo o cálculo dos limites analíticos por meio das seguintes expressões (ABNT, NBR 14029:2016):

$$LD = \frac{3 \times C_{std}}{\left(\frac{S}{R}\right) \times C_s} \times 100 \quad LQ = \frac{C_{std'}}{C_s} \times 100$$

em que:

$LD$  = Limite de Detecção (% m/m);

$\left(\frac{S}{R}\right)$  = Razão entre sinal e altura do ruído da solução calibração mais diluída;

$C_{std}$  = Concentração da solução calibração ( $3 < \frac{\bar{S}}{R} < 10$ ) mais diluída e detectável, mas não necessariamente quantificável;

$C_s$  = Concentração nominal teórica da amostra;

$LQ$  = Limite de Quantificação (% m/m);

$C_{std'}$  = Concentração da solução calibração ( $\frac{\bar{S}}{R} > 10$ ) de menor concentração detectável e quantificável.

De acordo com a RDC nº 166/2017 da ANVISA, os critérios de aceitabilidade baseiam-se na razão sinal/ruído, sendo o LD associado a uma relação mínima de 3:1 e o LQ a uma relação mínima de 10:1. Dessa forma, a adequada

determinação desses parâmetros é essencial para assegurar a sensibilidade e a confiabilidade do método analítico, especialmente em aplicações que envolvem baixos níveis de concentração.

#### 2.8.8 Robustez

A robustez é um parâmetro importante na validação de métodos analíticos, pois avalia a capacidade do método em manter sua confiabilidade diante de pequenas variações controladas nas condições operacionais. Esse parâmetro garante que mudanças sutis na amostra, como estágio fenológico e substrato, ou no método, como diluentes, solventes e equipamento utilizados não comprometam significativamente os resultados.

Sua avaliação é conduzida após a validação dos demais parâmetros, como seletividade, linearidade, LD, LQ, exatidão e precisão. Consiste em introduzir variações intencionais nos fatores críticos para verificar se o método permanece estável. As abordagens podem ser univariadas, alterando um fator por vez, ou multivariadas, utilizando delineamentos experimentais fatoriais para avaliar múltiplos fatores e suas interações simultaneamente.

Guias como RDC nº 166/2017 da ANVISA estabelece que a robustez é indispensável para garantir a confiabilidade dos dados, a reprodutibilidade, precisão intermediária e a consistência dos resultados. Quando o método demonstra ser robusto, assegura-se sua aplicabilidade na rotina laboratorial, mesmo diante de variações operacionais inevitáveis, contribuindo para a segurança e qualidade dos processos analíticos.

Neste trabalho, a avaliação de robustez foi conduzida inicialmente com variação da dureza da água por se tratar de um fator diretamente relevante ao processo de lavagem foliar e potencialmente impactante na solubilização e remoção do analito (DARAMOLA et al., 2022). De acordo com as diretrizes citadas (RDC nº 166/2017 da ANVISA) e até mesmo o documento DOQ-CGCRE-008/2016 do INMETRO, a robustez pode ser avaliada a partir da variação deliberada de parâmetros críticos selecionados, não sendo obrigatória a investigação simultânea de múltiplas variáveis. Nesse contexto, a dureza da água foi considerada um fator crítico representativo. Ainda assim, reconhece-se que outras variáveis, como temperatura, tempo de lavagem, tamanho de gota pulverizada, agitação e pH podem influenciar o

desempenho do método, sendo recomendada sua avaliação em estudos futuros para uma abordagem mais abrangente da robustez.

### 2.8.9 Incerteza

A incerteza de medição representa um dos pilares fundamentais da metrologia e da garantia da confiabilidade dos resultados analíticos. De maneira geral, ela expressa o grau de dúvida associado a um resultado obtido, indicando a faixa dentro da qual o valor verdadeiro da mensurada é plausivelmente encontrado. Assim, mesmo quando um método é executado sob condições rigorosamente controladas, sempre existirão fontes inerentes de variabilidade — instrumentais, operacionais, ambientais ou relacionadas ao próprio procedimento analítico — que influenciam o resultado. A quantificação dessa variabilidade permite que os resultados laboratoriais sejam interpretados com transparência, rastreabilidade e comparabilidade, especialmente em contextos regulatórios e científicos. As incertezas contidas no trabalho são:

#### 2.8.9.1 Incerteza padrão

A incerteza padrão é a estimativa da variabilidade associada a um resultado de medição, expressa como um desvio-padrão. Segundo o GUM, ela pode ser obtida por dois caminhos: tipo A, quando deriva da análise estatística de medições repetidas, e tipo B, quando provém de informações externas, como certificados de calibração, especificações do equipamento ou literatura.

A incerteza padrão é fundamental porque constitui a base para o cálculo da incerteza combinada, que integra todas as fontes relevantes de variabilidade por meio da lei de propagação de incertezas. A partir dessa combinação, obtém-se a incerteza expandida, que expressa um intervalo de confiança para o valor verdadeiro do mensurando. Assim, a determinação da incerteza padrão é essencial para demonstrar a confiabilidade e a rastreabilidade dos resultados analíticos, conforme exigido por documentos como o GUM, DOQ-CGCRE-008 (INMETRO) e a RDC 166/2017.

### 2.8.9.2 Incerteza combinada

A incerteza combinada ( $\mu C$ ) resulta do agrupamento de todas as incertezas padrão identificadas ao longo do procedimento analítico. Conforme o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição (GUM), ela é calculada aplicando-se a lei de propagação de incertezas, que pondera cada contribuição de acordo com sua sensibilidade (coeficientes de derivada parcial) no modelo matemático do mensurando. Dessa forma, a incerteza combinada representa a variabilidade total acumulada pelas etapas críticas do método e traduz a robustez estatística do resultado analítico.

### 2.8.9.3 Incerteza expandida

A incerteza expandida ( $U$ ) expressa o intervalo final de confiança associado ao resultado. Ela é obtida multiplicando a incerteza combinada por um fator de abrangência  $k$ , geralmente selecionado para assegurar um nível de confiança aproximado de 95% (tipicamente  $k \approx 2$  ou valores ajustados pelo número efetivo de graus de liberdade via método de Welch–Satterthwaite). A incerteza expandida fornece ao usuário do método uma indicação clara da faixa dentro da qual o valor verdadeiro da concentração provavelmente se encontra, permitindo a tomada de decisões com maior segurança analítica.

### 3 OBJETIVO DE ANÁLISE

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

✓ Investigar a eficiência de diferentes formulações de bifentrina na manutenção do ingrediente ativo em superfície foliar de soja, com ênfase na resistência à remoção por lavagem.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

✓ Desenvolver uma metodologia para análise de baixas concentrações de bifentrina em superfície foliar de soja (*Glycine max*), utilizando a técnica de cromatografia de gases acoplada à espectroscopia de massas;

✓ Validar a metodologia nos parâmetros: exatidão, precisão, linearidade, LD, LQ, faixa de trabalho, sensibilidade analítica, seletividade, robustez e incerteza;

✓ Avaliar a dinâmica de remoção dos produtos em função de suas formulações (EC, SC e WG), de modo a subsidiar decisões técnicas que favoreçam a escolha mais eficiente e economicamente viável para a empresa/agricultor.

## 4 FUNDAMENTAÇÃO METODOLÓGICA

### 4.1 MATERIAIS

- Filtros PVDF de 0,45 $\mu$ m (Whatman);
- Vials de vidro com septo de Teflon (Agilent);
- Lã de vidro (Liner).

### 4.2 SOLVENTES, REAGENTES E PADRÕES

- Água pluvial;
- Água Padrão (Dureza 20 e 342 mg·L<sup>-1</sup>);
- Acetona PA (Sigma-Aldrich);
- Padrão analítico de bifentrina, certificado de concentração conhecida;
- Solução estoque A – [bifentrina] 119,43 mg·L<sup>-1</sup>;
- Solução estoque B – [bifentrina] 5,97 mg·L<sup>-1</sup>.

### 4.3 EQUIPAMENTOS

- Balança analítica (Mettler-Tolledo), modelo MX105DU/A, São Paulo - BR, com resolução de 0,01mg, previamente verificada com Pesos padrões (Toledo), e certificação pela Rede Brasileira de Calibração (RBC) com incerteza padrão ( $\mu$ ) de 0,00001 g (em nível de 0,005 g), 0,00004 g (em nível de 0,1, 0,5 e 1,0 g) e 0,00006 g (em nível de 5,0 g);
- Balões volumétricos de 5, 10 e 100 ml, calibrados e certificadas pela RBC com incerteza padrão ( $\mu$ ) de 03, 04 e 20  $\mu$ L, respectivamente;
- Micropipetas de 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L e 5 ml com volume ajustável (Brand), calibrados e certificadas pela RBC com incerteza padrão ( $\mu$ ) de 0,3, 0,5 e 4,0  $\mu$ L, à nível nominal, respectivamente;
- Termômetro Digital Data Logger modelo Texto Saveris 2 calibrado e certificado pela RBC com incerteza padrão ( $\mu$ ) de 0,1°C à nível de 15, 23 e 30°C;
- Termo-higrômetro digital modelo Simpla TH01 calibrado e certificado pela RBC com incerteza padrão ( $\mu$ ) de 1,9% (a nível de 40%) e 2,6% (a nível de 55%);
- Banho Ultrassom (Branson) modelo 3800;
- Suporte para ancoragem e aplicação foliar (elaborado pelo autor);

- Borrifador jato spray com gotículas de 100 a 300  $\mu\text{L}$  de diâmetro;
- Incubadora com agitação Orbital (Tecnal) de 200 rpm, modelo TE-4200;
- Cromatógrafo a gás (Agilent), modelo 7890B, Wilmington – EUA;
- Injetor automático (Agilent), modelo 7693;
- Seringa cromatográfica de 10  $\mu\text{L}$ . PN: 9301-0713;
- Linner Ultra Inert Splitless sem divisão, cone único com volume de 900  $\mu\text{L}$ . PN: 5190-2293;
- Coluna capilar HP5-MS (Agilent), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme. PN:19091S-433;
- Detector espectrômetro de massas (Agilent), modelo 5977A, Wilmington – EUA, single quadrupole, 1 a 800 m/z;
- Software para aquisição e tratamento dos dados: OpenLab CDS.

#### 4.4 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

##### 4.4.1 Injeção

As condições adotadas para a etapa de injeção foram definidas em laboratório com o objetivo de maximizar a eficiência da introdução da amostra no sistema, garantindo a integridade do analito (evitando a degradação) e a precisão intermediária dos resultados. Optou-se pelo modo de injeção sem divisor de fluxo (splitless), tendo em vista sua eficácia para amostras em baixa concentração, permitindo que todo o volume injetado seja direcionado à coluna capilar durante o tempo de purga controlado, contribuindo ao sinal analítico. Estão detalhadas as condições específicas utilizadas:

- Modo: Splitless;
- Fluxo de purga p/ ventilação do *split*: 10 ml/min em 4 minutos
- Volume: 1  $\mu\text{L}$ ;
- Temperatura: 280  $^{\circ}\text{C}$ ;
- Fluxo de Purga do Septo: 3 ml/min.

##### 4.4.2 Coluna

No presente estudo, devido à característica da amostra, foi

selecionada uma coluna capilar para a análise de compostos orgânicos voláteis que atende uma ampla faixa de polaridade dos analitos. Em conjunto a isso, foi selecionado um gás de arraste inerte, sendo este eficiente e compatível com detectores de espectrometria de massas:

- Fase estacionária: coluna de sílica fundida contendo 5% de fenil-dimetilpolissiloxano (baixa polaridade);
- Fase móvel (gás de arraste) Hélio: 2 ml/min.

#### 4.4.3 Forno

O programa de aquecimento do forno do cromatógrafo foi estabelecido de forma univariada, buscando promover uma separação eficiente e adequada dos analitos no menor tempo possível, sem comprometer a resolução dos picos cromatográficos. A rampa de temperatura adotada permite uma eluição rápida dos compostos de interesse, enquanto o tempo de espera no final da corrida assegura a limpeza da coluna e a estabilização do método antes da próxima injeção. As condições empregadas foram:

- Início: 150 °C;
- Rampa: taxa de 75 °C/min até 280 °C;
- Tempo de espera: 10 min;
- Tempo de corrida: 12 min;
- Pós corrida: 150 °C;
- Tempo de espera: 2 min.

#### 4.4.4 Linha de Transferência CG-EM

A linha de transferência entre o cromatógrafo de gases e o espectrômetro de massas desempenha papel fundamental na condução eficiente dos analitos eluidos da coluna até a fonte de ionização do detector. Para evitar a condensação dos compostos voláteis e preservar a integridade do sinal analítico, a temperatura da linha foi mantida elevada — em consideração à temperatura de separação — e constante ao longo de toda a análise. A condição adotada foi:

- Temperatura: 300 °C.

#### 4.4.5 Detector EM

As condições de detecção dos compostos foram realizadas por espectrometria de massas, de forma univariada, utilizando um sistema de ionização por impacto eletrônico, que promove a fragmentação dos analitos a partir do bombardeamento com elétrons de alta energia. Para garantir a eficiência da ionização e a estabilidade na análise, foram estabelecidas temperaturas controladas na fonte e no analisador quadrupolar, além da aplicação de uma tensão de 70 eV — valor convencionalmente adotado em espectrometria de massas por produzir espectros de fragmentação reprodutíveis e compatíveis com bibliotecas de referência, além de garantir a formação eficiente de íons moleculares e fragmentos diagnósticos. As condições aplicadas no detector foram:

- Temperatura do quadrupolo: 150 °C;
- Temperatura da fonte: 280 °C;
- Tensão da fonte: 70 eV;
- Varredura de massas (modo scan): 50 a 600 m/z;
- Íons de Monitoramento (modo SIM): 181 m/z e 165 m/z.

#### 4.5 PREPARO DE SOLUÇÕES PADRÃO

Inicialmente foram preparados dois padrões analíticos, denominados solução estoque A e solução estoque B. Para o preparo da solução estoque A, foi pesada uma massa de 12,2 mg do padrão de bifentrina, com teor de pureza de 97,89%, a qual foi transferida para um balão volumétrico de 100 ml e posteriormente avolumada com acetona até o menisco. Em seguida, para o preparo da solução estoque B, foi retirada uma alíquota de 5,0 ml da solução estoque A, utilizando-se micropipeta de volume variável, e transferida para um balão volumétrico de 100 ml, sendo também completado o volume com acetona.

A partir da solução estoque B, foram preparadas outras sete soluções padrão (pontos da curva), abrangendo diferentes níveis de concentração. Para o preparo dessas soluções, volumes específicos da solução estoque B foram transferidos para balões volumétricos, com capacidades de 100 ml, 25 ml, 10 ml e 5

ml, de acordo com a concentração final desejada. Em seguida, o volume de cada balão foi completado com acetona. As condições de preparo de cada solução estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Concentração dos padrões analíticos

Solução	Alíquota	Balão volumétrico (ml)	Concentração (mg·L <sup>-1</sup> )
Estoque A	12,2 mg de padrão	100	119,43
Estoque B	5,0 ml do estoque A	100	5,97
1	108,8 µL do estoque B	25	0,0260
2	736,8 µL do estoque B	25	0,1760
3	545,8 µL do estoque B	10	0,3260
4	797,0 µL do estoque B	10	0,4760
5	524,2 µL do estoque B	05	0,6260
6	649,8 µL do estoque B	05	0,7760
7	775,4 µL do estoque B	05	0,9260

**Fonte:** O próprio autor.

#### 4.6 PREPARO DAS AMOSTRAS

A adequada escolha dos insumos para o plantio, o acondicionamento e tratamento das amostras visaram garantir a representatividade do material analisado, minimizando interferências e assegurando a integridade das substâncias de interesse ao longo do processo.

No presente estudo, foram adotados protocolos padronizados com o objetivo de assegurar a uniformidade das etapas experimentais, desde a coleta até a análise instrumental.

##### 4.6.1 Coleta das Amostras

###### 4.6.1.1 Semeadura

Com intuito de se implementar a metodologia em Casa Vegetação, foi realizada a semeadura das sementes de soja (figura 2) em condições controladas de temperatura (25 °C) e irrigação por gotejamento constante de um emissor à 1,6 L/h para plantios de soja. O plantio consistiu na semeadura de três plantas de soja,

pertencentes à mesma jardineira, com distanciamento próximo de 10 – 15 centímetros entre cada planta.

**Figura 2** – Semeadura das sementes de soja



**Fonte:** O próprio autor.

#### 4.6.1.2 Crescimento

Foi realizado o monitoramento do plantio (a cada dois dias) durante o período de crescimento da planta, objetivando-se o crescimento por aproximadamente 50 dias (fase reprodutiva R4 – aplicação definitiva), onde é dado o início do período de maior ocorrência de percevejos no plantio de soja.

#### 4.6.1.3 Amostragem

Após os períodos de 50 dias, foi realizada a amostragem (destaque do folíolo) de um único trifólio de cada planta uma das três plantas (três trifólios, nove fólhos) em dois dias distintos e consecutivos (totalizando três plantas, seis trifólios e dezoito fólhos), localizados a uma altura intermediária do ramo (aproximadamente 35 a 45 cm do solo) sendo realizado cuidadosamente por meio do corte do pecíolo para obtenção dos fólhos individualizados de tamanho e idade semelhantes (figura 3).

**Figura 3** – Trifólio composto por três fólhos



**Fonte:** O próprio autor.

#### 4.6.2 Armazenamento e Conservação

Logo após o destaque dos fólhos, cada unidade foliar foi submetida a um procedimento de acondicionamento específico, conhecido como “método de folhas destacadas”. Os nove fólhos foram posicionados sobre lâminas de vidro e envolvidos com algodão umedecido, dispostos em nove placas de Petri diferentes, com dimensões de 90×15 mm, previamente preparadas com uma fina camada de algodão e papel filtro também umedecidos, sendo transportados diretamente ao laboratório de análise (figura 4). As condições ambientais de registro foram: Temperatura 22,0 °C e umidade em 41%.

**Figura 4** – Fólho posicionado sobre lâminas de vidro, envolvido com algodão.



**Fonte:** O próprio autor.

A utilização da lâmina de vidro teve como finalidade evitar o contato direto entre o folíolo e o papel filtro, prevenindo, assim, o excesso de umidade e o consequente encharcamento e apodrecimento do tecido vegetal. Esse procedimento foi adaptado com base na metodologia proposta por Kamikoga (2001), que descreve tal cuidado como essencial para a preservação da integridade fisiológica das folhas destacadas.

Conforme evidenciado por Reis e Kimati (1974), o método de folhas destacadas permite a manutenção da viabilidade das folhas de soja por períodos prolongados — podendo chegar há mais de setenta dias — permitindo, inclusive, a formação de raízes a partir das estruturas foliares, dependendo das condições e do tempo de cultivo.

#### 4.6.3 Preparo da Calda

As amostras foram diluídas seguindo as orientações técnicas recomendadas na bula dos produtos, de modo a reproduzir as condições de aplicação utilizadas no cultivo de soja. Tal procedimento visou garantir que as concentrações empregadas fossem representativas das práticas realizadas em campo, assegurando, assim, maior fidedignidade aos resultados obtidos.

Dessa forma, para cada modal de formulação foi preparado 100mL de calda, utilizando-se águas com dureza de 20 mg·L<sup>-1</sup> e 342 mg·L<sup>-1</sup>, contemplando, assim, as possíveis variações nas características da água comumente utilizadas em aplicações agrícolas.

A diluição e preparo das caldas ocorreram da seguinte forma:

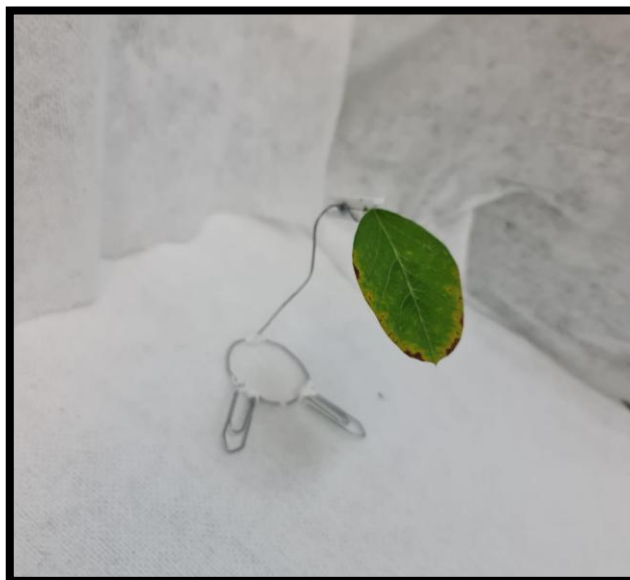
- Calda 01: Suspensão Concentrada (SC): 0,16% (m/v);
- Calda 02: Concentrado Emulsionável (EC): 0,10% (m/v);
- Calda 03: Grânulos Dispersíveis em água (WG): 0,50% (m/v).

#### 4.6.4 Aplicação

Realizou-se, inicialmente, a tara da balança com o conjunto formado pela placa de Petri e o respectivo folíolo. Os fólhos foram posicionados à um suporte

improvisado (figura 5), garantindo o mínimo contato da unidade foliar com a superfície da bancada, evitando perda da aplicação por adsorção.

**Figura 5** – Fólio em suporte improvisado para aplicação dos formulados



**Fonte:** O próprio autor.

Posteriormente, procedeu-se à aplicação dos modais à cerca de 40 cm de distância entre o pulverizador manual e o fólio. Posteriormente foi realizada a pesagem do fólio com o inseticida aplicado. Dessa forma, a quantificação da massa de produto aplicado foi feita por diferença, através da massa na balança analítica antes e pós a tara do conjunto, possibilitando o controle da quantidade depositada sobre cada amostra foliar. Após a aplicação, aguardou-se um período aproximado de uma hora e meia para a completa secagem do inseticida na superfície das folhas.

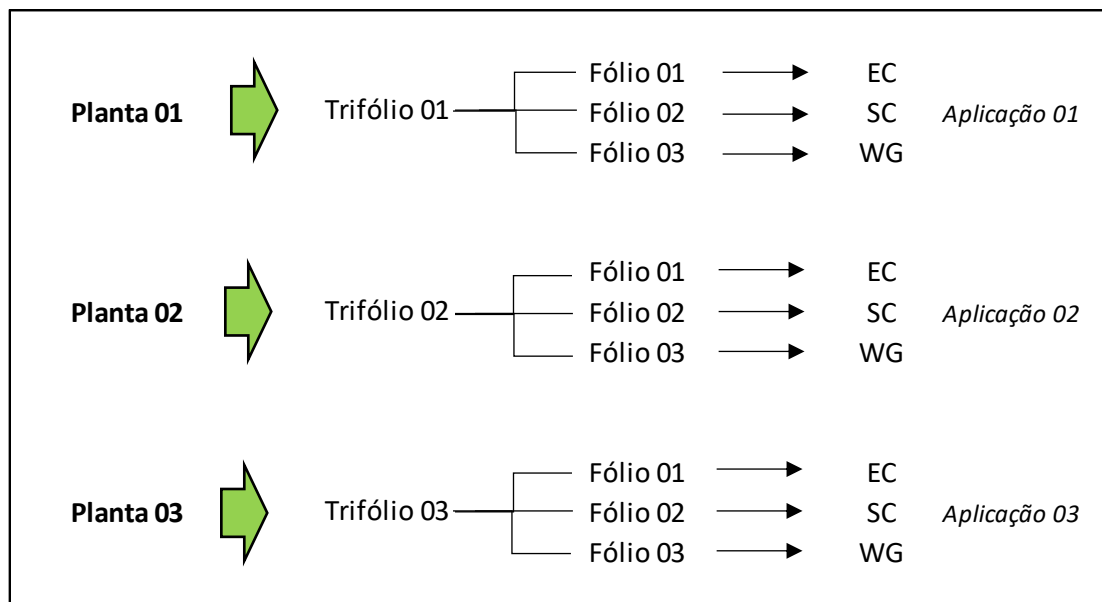
A aplicação da calda foi conduzida nas três formulações de estudo, orientando-se nos seguintes valores teóricos:

- Aplicação da calda 01: Suspensão Concentrada (SC): ~135,45 mg
- Aplicação da calda 02: Concentrado Emulsionável (EC): ~131,79 mg
- Aplicação da calda 03: Grânulos dispersíveis em água (WG): ~42,32 mg

A distinção das massas aplicadas entre os modais de formulação justificou-se através das diferentes concentrações de bifentrina presente em cada tipo de formulação, de modo a assegurar que, ao final do processo, a quantidade de ingrediente ativo depositada por unidade foliar fosse próxima de  $\sim 1,50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (m/V)

entre os tratamentos.

**Figura 6** – Esquema representativo simplificado de aplicação (dia 1)



Legenda: EC: Concentrado Emulsionável, SC: Suspensão Concentrada, WG: Grânulos dispersíveis;

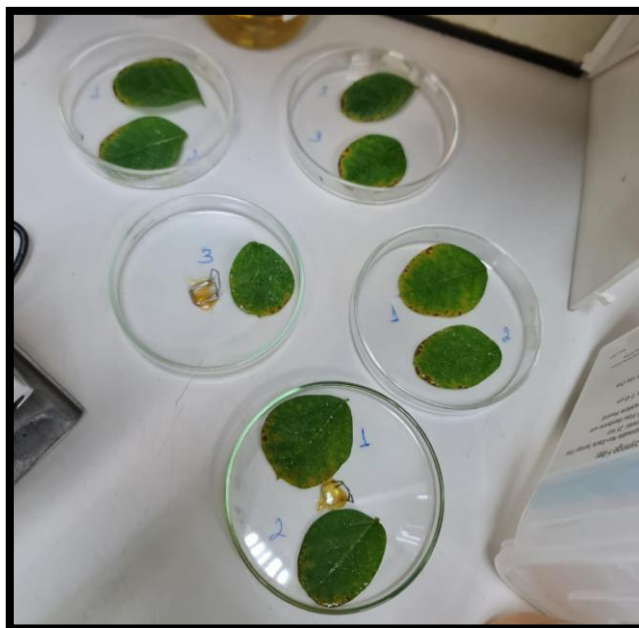
**Fonte:** O próprio autor.

Cada tipo de formulação foi aplicado à um fólio distinto, porém pertencente a uma mesma folha (trifólio), para cada uma das três plantas, de modo a garantir a uniformidade morfológica (idade, tamanho, altura (localização) na planta...) entre as unidades experimentais e, assim, permitir uma avaliação comparativa do desempenho de cada formulação sobre superfícies foliares com características semelhantes. O processo de aplicação foi realizado em dois dias distintos, sendo triplicata para cada modal, totalizando seis aplicações para cada formulação. A aplicação simplificada (referente a um dia) é representado na figura 6. As condições ambientais de registro no momento da aplicação e secagem do produto foram de 22,2 °C e umidade em 41%.

#### 4.6.5 Procedimentos de Lavagem e Extração

Após a completa secagem dos produtos na superfície foliar (figura 7), os fólhos foram submetidos a duas etapas sequenciais e distintas de lavagem, com o objetivo de quantificar a fração superficial do inseticida removido.

**Figura 7** – Fólhos em processo de secagem após aplicação dos formulados



**Fonte:** O próprio autor.

A primeira lavagem foi realizada através da imersão do fólio em 50 ml de água pluvial, sendo o material agitado (agitação orbital) em incubadora por 25 segundos à 200 rpm. Após a agitação, removeu-se a folha da solução, encaminhando a solução de lavagem para a refrigeração à 5°C. Esta etapa corresponde à chamada *Solução de Lavagem*, voltada à remoção da fração do ativo em água, presente sobre a cutícula. O mesmo fólio foi então destinado para a segunda etapa.

A segunda etapa, denominada *Lavagem Residual*, foi conduzida com 50 ml de acetona, utilizando as mesmas condições de agitação, porém por 15 segundos. Após a agitação, removeu-se a folha da solução, descartando-a. A solução de lavagem residual foi destinada então para a refrigeração à 5°C.

A escolha do tempo de exposição ao solvente orgânico baseou-se em estudos (HAGEDORN et al., 2017, p. 2347) que demonstram que compostos presentes na superfície foliar da soja apresentam solubilidade constante quando imersos em solventes orgânicos específicos por aproximadamente 10 segundos. Tempos superiores a 30 segundos, tendem a promover a extração de compostos intracuticulares o que não é desejável neste estudo, uma vez que o composto em avaliação não possui ação sistêmica.

A refrigeração da solução (5°C) se justificou devido à alta volatidade do solvente, evitando percas durante o processo analítico.

Foi realizada a pesagem em balança analítica de aproximadamente

2.500 mg das soluções de lavagem e residual diretamente em balões volumétricos de 5 ml, completando-se o volume até o menisco com acetona PA. As soluções amostrais foram submetidas à sonicação em banho ultrassônico por um período de 3 minutos, com o objetivo de promover a homogeneização das amostras. Após a sonicação, aguardou-se a estabilização térmica à temperatura ambiente. Em seguida, as amostras foram filtradas por meio de membranas de polivinilideno difluoreto (PVDF) com porosidade de 0,45 µm. Os extratos obtidos foram transferidos para frascos de vidro tipo *vial*, os quais foram devidamente fechados e encaminhados para a análise instrumental.

#### 4.6.6 Etapas Críticas e Cuidados

Durante o processo de destaque das folhas, atentou-se ao isolamento adequado do pecíolo, utilizando-se algodão umedecido, imediatamente após o corte. Tal procedimento foi essencial para prevenir a perda de água pela folha, uma vez que falhas no isolamento comprometeram a integridade hídrica do tecido foliar, ocasionando seu murchamento e, conseqüentemente, interferindo na qualidade e na representatividade da amostra.

Durante o processo de aplicação atentou-se visualmente à distribuição homogênea das gotículas sobre a superfície foliar, de modo a evitar o acúmulo localizado do produto. Em testes iniciais do estudo, quando a distância entre aplicador x fólio ainda não havia sido definida, a distribuição inadequada resultou em tempos distintos de secagem entre as diferentes áreas da folha, ocasionando um tempo total maior de secagem do produto aplicado devido à redução da superfície de contato durante a secagem, o que comprometeu a uniformidade do procedimento e ocasionou variações metodológicas entre as formulações avaliadas.

Outro ponto importante ocorreu durante o processo de pesagem. Foi necessário que este processo fosse conduzido de forma rápida e eficiente, utilizando-se recipientes fechados e aplicando-se a técnica de pesagem por diferença, na qual o frasco contendo o solvente era pesado antes e após a retirada da alíquota desejada, além de resfriamento na temperatura do solvente (5°C). A adoção desses cuidados mostrou-se indispensável para garantir a precisão e a confiabilidade das análises.

## 4.7 TRATAMENTO DOS DADOS

### 4.7.1 Processamento e Registro dos Resultados

Após a aquisição instrumental, os dados analíticos foram submetidos a tratamento sistemático, incluindo integração de picos, correção da linha de base, exclusão de artefatos e verificação manual das respostas, com o objetivo de minimizar interferências provenientes de ruído instrumental, coeluição e instabilidades da linha de base.

As áreas dos picos cromatográficos foram registradas em planilhas eletrônicas previamente validadas, contendo mecanismos automáticos de verificação, como conferência de duplicatas, cálculo de desvios relativos e identificação de valores discrepantes, garantindo maior confiabilidade e padronização dos registros.

Os dados foram então processados conforme o protocolo estatístico de validação, sendo aplicados cálculos de média, desvio padrão e desvio padrão relativo (RSD), além de testes estatísticos, como Grubbs e avaliação de homogeneidade de variâncias, quando necessário.

Esse procedimento permitiu a organização sistemática dos resultados em tabelas específicas, facilitando a análise, comparação com critérios normativos e assegurando a qualidade e consistência dos dados obtidos.

### 4.7.2 Software e Ferramentas Estatísticas Utilizadas

#### 4.7.2.1 Aquisição e tratamento dos dados – openlab CDS (Agilent)

A aquisição instrumental dos cromatogramas e espectros foi realizada por meio do software OpenLab CDS (Agilent Technologies), que se configurou como a principal ferramenta de interface entre o cromatógrafo/espectrômetro e o pesquisador. Esse sistema permitiu:

- A integração automática dos picos cromatográficos;
- O ajuste e correção de linha de base;
- A extração das áreas dos picos e das intensidades dos íons monitorados;
- A geração de relatórios brutos contendo as informações necessárias para posterior avaliação estatística.

Além disso, o OpenLab assegurou rastreabilidade de cada análise, vinculando amostras, condições instrumentais e replicatas, o que reforçou a confiabilidade dos resultados e a possibilidade de auditoria futura.

#### 4.7.2.2 Tratamento estatístico – microsoft excel

Os resultados extraídos do OpenLab foram posteriormente organizados e processados em planilhas no Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, EUA), estruturadas especificamente para atender às demandas do presente estudo. O software foi empregado para:

- Cálculo de médias, desvios-padrão e desvios relativos (RSD%);
- Análise de repetibilidade e precisão intermediária;
- ANOVA;
- Ajustes de regressão linear e polinomial, incluindo ponderações (ex.:  $1/x$ ,  $1/y^2$ );
- Estimativa do erro padrão da regressão ( $Sy/x$ ) e análise de resíduos;
- Aplicação de testes estatísticos, como o teste de Grubbs para detecção de valores discrepantes;
- Cálculos de LQ e LD;
- Cálculo da equação de Horwitz;
- Construção de gráficos e tabelas dinâmicas que facilitaram a interpretação visual dos resultados.
- Planejamento Fatorial.

O uso do Excel também permitiu a padronização dos cálculos por meio de fórmulas automatizadas, reduzindo o risco de falhas manuais e garantindo maior eficiência no tratamento dos dados.

#### 4.8 CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO

O controle de qualidade interno foi realizado por meio do monitoramento periódico das condições de funcionamento dos equipamentos, com registros de calibração em conformidade com os Procedimentos Operacionais Padrão (POP's) do laboratório, além de verificações intermediárias que são realizadas diariamente, como no caso das balanças analíticas.

Todas as análises foram realizadas com amostras em duplicata, incluindo amostras fortificadas para avaliação da recuperação e amostras em branco para monitoramento de possíveis contaminações.

Além disso, durante a condução dos experimentos, monitoraram-se as condições ambientais do laboratório, com especial atenção ao controle da temperatura  $23\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  e à observação da umidade em  $40\% \pm 3\%$ , de modo a garantir a estabilidade das análises e evitar discrepâncias significativas entre os diferentes dias de execução.

#### 4.9 JUSTIFICATIVA DA ESCOLHA DO MÉTODO

Tendo em vista que os produtos são diluídos e aplicados em concentrações extremamente baixas — frequentemente na ordem de partes por milhão (ppm) ou até mesmo partes por bilhão (ppb) —, foi essencial selecionar uma metodologia analítica capaz de detectar e quantificar, com elevada sensibilidade, precisão e confiabilidade, os resíduos de bifentrina presentes nas superfícies foliares após o processo de remoção por lavagem, atendendo aos critérios de aceitação de guias nacionais e internacionais.

Nesse contexto, embora ensaios com chuva simulada controlada (mm/h) sejam amplamente utilizados para avaliar a lavagem de agrotóxicos, optou-se, neste estudo, pelo método de imersão com agitação como abordagem experimental. Essa escolha foi fundamentada principalmente na necessidade de garantir maior controle experimental e padronização das condições de lavagem, aspectos essenciais quando se trabalha com analitos em níveis traço, como ppm e ppb, especialmente considerando as limitações estruturais e instrumentais associadas à simulação de chuva em laboratório.

Sistemas de chuva simulada requerem controle rigoroso de variáveis como intensidade pluviométrica (mm/h), distribuição e tamanho de gotas, além da energia cinética, fatores que podem introduzir elevada variabilidade experimental caso não sejam cuidadosamente ajustados. Por outro lado, o método de imersão com agitação proporciona condições mais homogêneas de contato entre a superfície foliar e o meio aquoso, reduzindo a variabilidade experimental e contribuindo para maior precisão e exatidão analítica dos resultados obtidos.

Do ponto de vista comparativo, a metodologia adotada permite uma

avaliação consistente da resistência relativa à lavagem entre diferentes formulações, que constitui o principal objetivo deste estudo. Assim, ainda que o modelo de imersão não reproduza fielmente as condições naturais de precipitação, ele se mostra adequado para estudos de triagem e comparação entre tratamentos, sendo amplamente aceito em etapas iniciais de avaliação.

Contudo, reconhece-se como limitação que o método de imersão pode superestimar o processo de remoção do ativo, uma vez que promove contato contínuo e uniforme com o solvente, diferentemente da chuva natural, que ocorre de forma intermitente e com dinâmica dependente da intensidade pluviométrica. Dessa forma, os resultados obtidos devem ser interpretados como representativos de uma condição experimental padronizada, não refletindo diretamente cenários ambientais reais.

Portanto, embora o método não reproduza integralmente as condições ambientais, ele se mostra adequado aos objetivos propostos, fornecendo dados robustos e confiáveis para comparação entre formulações. Estudos futuros poderão complementar esses achados por meio da utilização de sistemas de chuva simulada, possibilitando maior aproximação das condições de campo.

#### 4.10 VERIFICAÇÃO DE DESEMPENHO INSTRUMENTAL

No presente estudo, foi realizado a verificação do desempenho instrumental do espectrômetro de massas por meio do procedimento de auto tune, com infusão do composto padrão perfluorotributilamina (PFTBA). Essa etapa foi essencial para assegurar que o sistema analítico estivesse operando dentro dos parâmetros de desempenho estabelecidos, garantindo a precisão das medições e a confiabilidade dos dados gerados ao longo das análises.

A escolha da PFTBA como padrão de ajuste se deve às suas propriedades físico-químicas favoráveis, como elevada estabilidade térmica, adequada volatilidade e a capacidade de produzir fragmentos iônicos bem distribuídos ao longo da faixa de análise de razão massa/carga ( $m/z$ ), com valores de referência bem definidos. A infusão automatizada desse composto possibilitou o ajuste fino das variáveis críticas do sistema, incluindo o alinhamento do eixo de massa e a resposta do detector, assegurando a correta atribuição dos picos iônicos no espectro.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CALIBRAÇÃO E CURVA ANALÍTICA

#### 5.1.1 Construção da Curva Analítica

A construção da curva analítica foi uma etapa essencial no desenvolvimento e na validação do método analítico, pois foi a partir dela que se estabeleceu a relação entre a resposta fornecida pelo equipamento e as concentrações conhecidas do analito por padronização externa. Essa correlação é o que possibilitou, posteriormente a quantificação dos compostos presentes nas amostras analisadas, garantindo que o método empregado produzisse resultados consistentes.

Para a construção da curva, foram injetados sete pontos, correspondentes a soluções padrão apresentadas na sessão 4.5 “Preparo de Soluções Padrão”, abrangendo a faixa de trabalho do método. Cada ponto foi analisado em duplicata, a fim de garantir maior confiabilidade e reduzir a variabilidade experimental. Os resultados são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2** – Dados da curva analítica: área e concentração dos padrões

Solução	Concentração ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Área (Média $\pm$ DP)
1	26,00	3.035,47 $\pm$ 58,26
2	176,00	17.990,38 $\pm$ 66,34
3	326,00	32.688,58 $\pm$ 242,56
4	476,00	51.785,57 $\pm$ 1.539,10
5	626,00	64.492,46 $\pm$ 2.098,00
6	776,00	86.896,56 $\pm$ 4.740,10
7	926,00	112.257,20 $\pm$ 2.956,60

Legenda: DP = Desvio Padrão

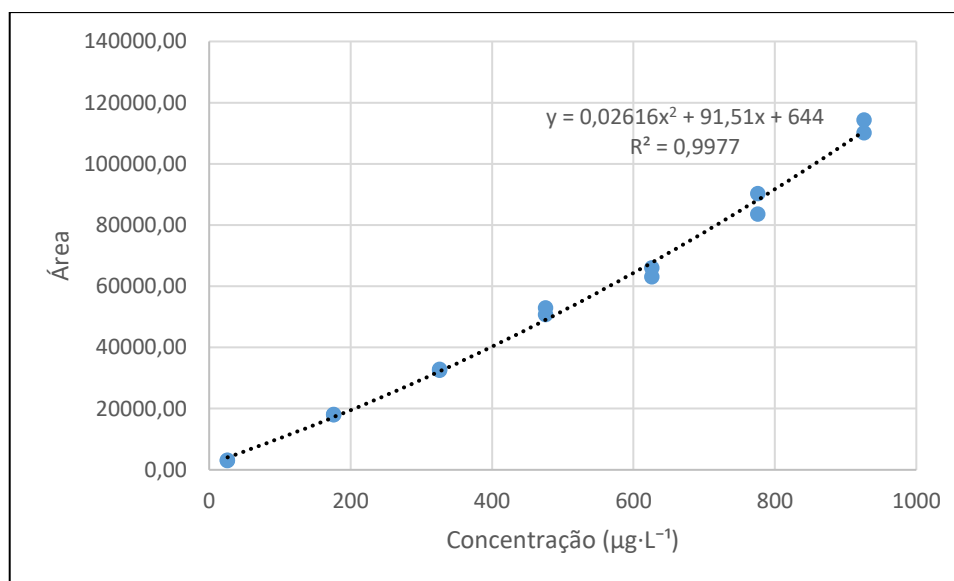
**Fonte:** O próprio autor.

Além dos parâmetros tradicionais de ajuste da curva, uma análise de resíduos foi utilizada como ferramenta complementar para avaliar a qualidade do ajuste do modelo, minimizando efeitos de heterocedasticidade detectados durante o processo de validação.

Dessa forma, as respostas instrumentais obtidas foram devidamente

processadas e registradas, possibilitando a construção do gráfico de calibração, com ajuste quadrático e aplicação de ponderação  $1/Y^2$ . No gráfico 1, as concentrações conhecidas foram inseridas no eixo x, enquanto as respostas analíticas correspondentes foram representadas no eixo y. Detalhes adicionais sobre o tratamento estatístico podem ser encontrados na seção 5.2.3 Linearidade.

**Gráfico 1** – Curva Analítica Quadrática Ponderada ( $1/Y^2$ )



**Fonte:** O próprio autor.

### 5.1.2 Equação de Regressão e Correlação

A equação de regressão, obtida por meio do método dos mínimos quadrados, tem como objetivo descrever matematicamente a relação entre uma variável independente (concentração do analito) e uma variável dependente (área cromatográfica). O modelo de regressão quadrático adotado, refletiu com fidelidade o comportamento dos dados observados dentro da faixa de trabalho estabelecida.

$$\text{Equação de regressão: } 0,02616x^2 + 91,51x + 644$$

O coeficiente de correlação ( $r$ ) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), são utilizados para expressar a força e a qualidade da associação entre as variáveis em estudo. Esses parâmetros permitem verificar o grau de linearidade da curva e, conseqüentemente, a confiabilidade do modelo ajustado. Um valor de  $R^2$  próximo de 1, por exemplo, indica que a maior parte da variação na resposta instrumental pode ser explicada pela variação na concentração do analito, o que reforça a adequação

do modelo estatístico empregado.

Coefficiente de correlação ( $r$ ): 0,999

Coefficiente de determinação ( $R^2$ ): 0,998

O erro de regressão ( $S_{y/x}$ ), por sua vez, representa a estimativa do desvio padrão dos resíduos de um modelo de calibração. Ele indica o quão próximos os valores experimentais estão dos valores preditos pela regressão: quanto menor o  $S$ , melhor o ajuste.

Erro de regressão ( $S_{y/x}$ ): 0,042

Dessa forma, a adoção de um modelo de regressão não linear (quadrático), em conjunto com estratégias de ponderação estatística, configurou-se como uma abordagem analiticamente criteriosa à calibração, proporcionando resultados precisos e exatos ao método aplicado, especialmente diante da faixa de concentração relativamente ampla adotada.

## 5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

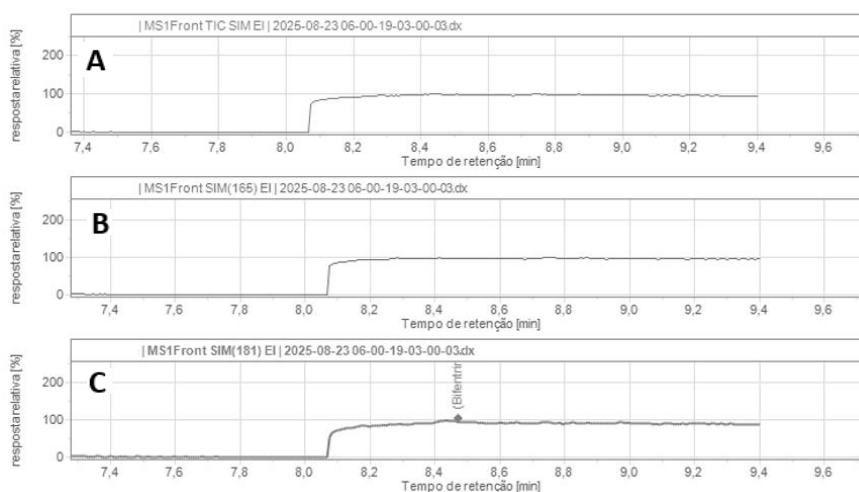
A validação do método analítico foi conduzida de acordo com diretrizes nacionais (ANVISA, 2017 e INMETRO, 2020) e internacionais (SANTE, 2017, 2019, 2021 e Eurachem, 2014) de validação, assegurando a confiabilidade e aplicabilidade do procedimento desenvolvido. Para tanto, foram avaliados e definidos os parâmetros de seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, sensibilidade analítica, exatidão, precisão, incertezas padrão/combinada/expandida, robustez e faixa de trabalho.

### 5.2.1 Seletividade

O teste de seletividade foi avaliado com base em dois critérios complementares: a variação das intensidades relativas dos íons monitorados e a avaliação do efeito de matriz. A avaliação das intensidades permitiu confirmar a identidade do analito por meio da consistência das razões de área entre íons quantificador e qualificadores, enquanto o estudo do efeito de matriz assegurou que não ocorressem interferências provenientes dos componentes da amostra capazes de

comprometer a quantificação. Na figura 8 são apresentados os cromatogramas obtidos, sendo (A)TIC seguido pelas razões massa/carga (B)SIM(165) e (C)SIM(181):

**Figura 8** – Perfil Cromatográfico: Solvente de diluição puro (Acetona PA)



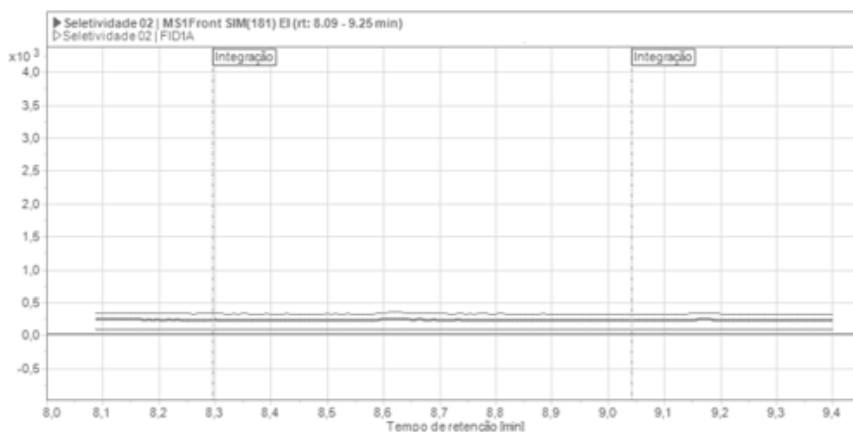
**Legenda:** A: (TIC): Íons Totais; B: (SIM165): Íons 165 Seleccionados; C: (SIM181): Íons 181 Seleccionados

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

A análise do cromatograma do solvente de diluição (figura 8) correspondente ao branco de solvente, evidenciou ausência de picos significativos no tempo de retenção característico da bifentrina ( $\approx 8,4 - 8,6$  min), tanto no cromatograma total de íons (TIC) quanto nos íons monitorados em modo SIM ( $m/z$  165 e 181). O perfil observado apresentou uma discreta elevação da linha de base, sem configuração de pico definido, o que é atribuído à configuração *Timed selective effluente transfer* (TSET) do método, que estabelece o tempo de entrada ( $\sim 8,1$  min) e saída ( $\sim 9,4$  min) da amostra no MS, evitando sobrecarga do detector.

A seguir é apresentado o cromatograma correspondente à análise da lavagem superficial da folha (lavagem residual), na ausência do analito (Figura 9).

**Figura 9** – Perfil Cromatográfico: Extrato de lavagem (Acetona + Folha)

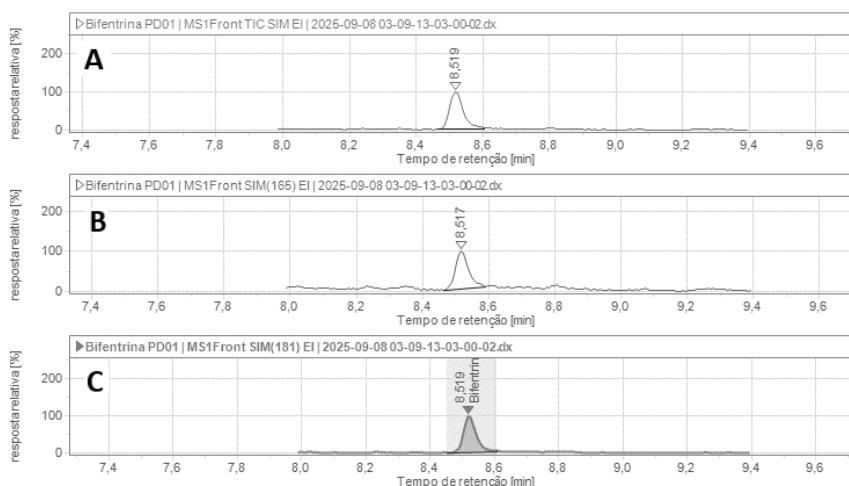


**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

O cromatograma do extrato de lavagem (figura 9), apresentou linha de base estável e ausência de picos relevantes no intervalo de retenção monitorado, evidenciando que não há interferentes detectáveis pelo método. Os canais SIM e TIC mantiveram-se uniformes, sem oscilações significativas no tempo de retenção do ativo. Esses resultados demonstram que o solvente utilizado na lavagem superficial não contribuiu para a resposta instrumental, assegurando a seletividade do método analítico.

A seguir é apresentado o perfil cromatográfico referente a solução padrão de bifentrina (Figura 10)

**Figura 10** – Perfil Cromatográfico: Solução padrão (Acetona + Bifentrina)



**Legenda:** A: (TIC): Íons Totais; B: (SIM165): Íons 165 Selecionados;  
C: (SIM181): Íons 181 Selecionados

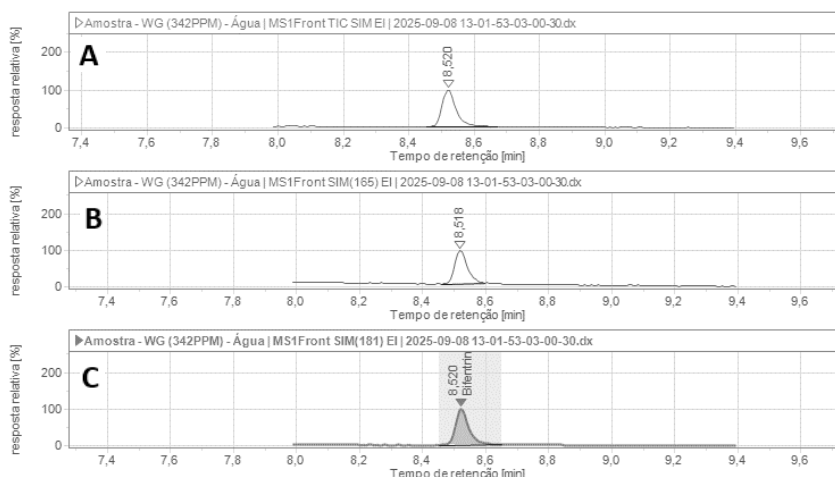
**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

O cromatograma da solução padrão (Figura 10) apresentou um pico

bem definido no tempo de retenção de aproximadamente 8,5 min, correspondente à bifentrina (Figura 10). A resposta foi observada de forma consistente no TIC e confirmada pelos íons monitorados em modo SIM (m/z 165 e 181).

A seguir é apresentado o perfil cromatográfico correspondente à solução amostra (Figura 11), composto pelo solvente de diluição (acetona), água + bifentrina (solução de lavagem).

**Figura 11** – Perfil Cromatográfico: Solução amostra (Acetona + Água + Analito)



**Legenda:** A: (TIC): Íons Totais; B: (SIM165): Íons 165 Seleccionados; C: (SIM181): Íons 181 Seleccionados

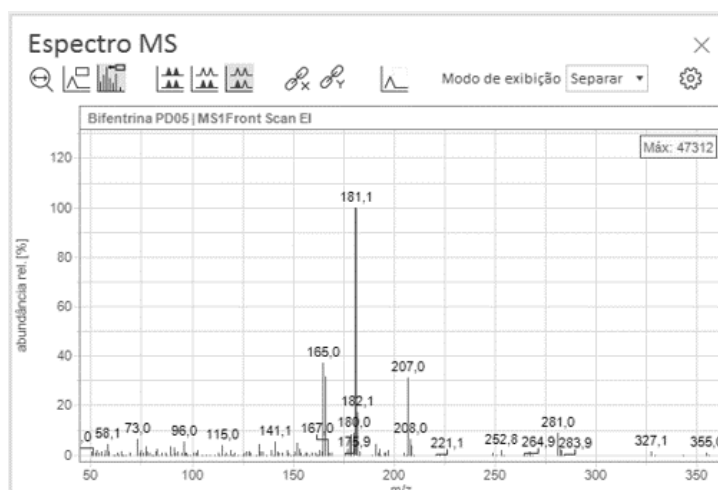
**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

O cromatograma das amostras também apresentou um pico bem definido no tempo de retenção de aproximadamente 8,5 min (Figura 11), coincidente com o padrão de bifentrina. A resposta foi também consistente no TIC e confirmada pelos íons monitorados em modo SIM (m/z 165 e 181). A seguir é apresentado os testes de Intensidade Relativa e Interferência de matriz para confirmação definitiva da seletividade do método.

#### 5.2.1.1 Intensidades relativas

Para avaliação da seletividade do método foi realizado uma análise inicial de varredura em modo SCAN da amostra do padrão de bifentrina (626ppb) em solvente (acetona). Foi observado os íons de maiores intensidades para serem compostos no método como íons Qualificadores e Quantificadores (Figura 12).

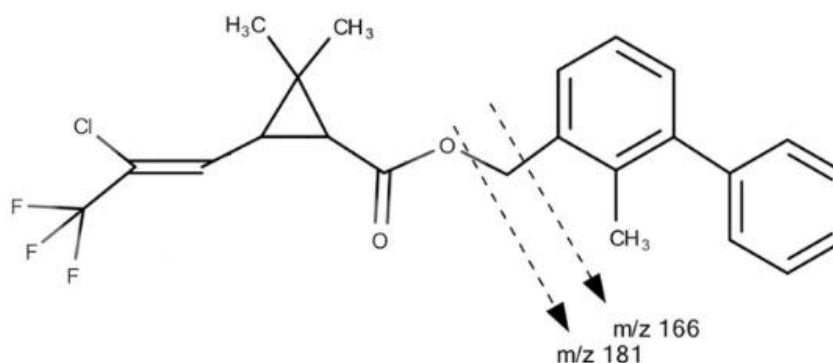
**Figura 12** – Solução Padrão modo SCAN (Íon Base)



Fonte: Software Agilent OpenLab CDS.

Após a seleção dos íons, foi realizado uma análise comparativa entre os cromatogramas obtidos para o padrão de bifentrina e para as amostras provenientes da superfície foliar, considerando as duas matrizes de diluição testadas (água e solvente). Além da verificação do tempo de retenção característico do analito, procedeu-se ao monitoramento do íon quantificador ( $m/z$  181) e do íon qualificador ( $m/z$  165), sendo posteriormente calculada as razões de intensidade entre eles.

Figura 13 – Fragmentação da Bifentrina



Fonte: BUCHWEITZ; MADER; LEHNER (2018). Adaptado de.

A figura 13 apresenta os locais de clivagem da molécula de bifentrina responsáveis pela formação dos íons  $m/z$  181 e  $m/z$  166, ambos provenientes da porção bifenílica. A fragmentação da bifentrina em ionização por impacto eletrônico (EI) segue padrões típicos de piretroides, envolvendo clivagem da ligação éster e formação de fragmentos aromáticos estáveis, especialmente da porção bifenílica, originando íons característicos como  $m/z$  181, 166 e 165 (MUELLER et al., 2008;

NIST, 2020). O íon m/z 165 pode ser atribuído a rotas secundárias de fragmentação, incluindo perdas neutras e rearranjos envolvendo hidrogênio a partir do fragmento m/z 166. De acordo com as diretrizes SANTE (2019), esses fragmentos podem ser utilizados como íons confirmatórios, desde que apresentem consistência nas razões relativas em relação ao íon quantificador, tipicamente m/z 181.

A tabela 3 apresenta a organização dos dados, incluindo os valores teóricos de razão obtidos para o padrão, as razões experimentais determinadas nas amostras e os respectivos limites segundo a SANTE/12682/2019, para íons de confirmação em relação ao íon de quantificação têm-se o limite relativo de  $\pm 30\%$  em relação ao valor do padrão analítico.

**Tabela 3** – Intensidade Relativa dos Íons

Amostra	Íon Quant. (m/z)	Íons Quali. (m/z)	Razão Teórica (%)	Razão experimental (%)	Limite Inferior (%)	Limite Superior (%)
Padrão			31,73	-		
SC			-	(S) 31,71 (A) 31,57		
EC	181	165	-	(S) 30,99 (A) 31,86	22,21	41,25
WG			-	(S) 31,89 (A) 31,14		

Legenda: (S) Solvente; (A) Água.

**Fonte:** O próprio autor.

A tabela 4 apresenta os tempos de retenção (TR) obtidos para os íons monitorados foram comparados entre os padrões analíticos e as amostras. De acordo com a normativa SANTE/11813/2017, a especificação estabelece que o tempo de retenção relativo do analito na amostra deve estar dentro de uma tolerância de  $\pm 0,1$  minutos em relação ao padrão quando se utilizam técnicas cromatográficas acopladas à espectrometria de massas (GC-MS).

**Tabela 4** – Tempo de Retenção

Amostra	Ion 181 TR (min)	Ion 165 TR (min)	Limite Inferior (min)	Limite Superior (min)
Padrão	8,482	8,482		
SC	(S) 8,49 (A) 8,53	(S) 8,49 (A) 8,52	8,382	8,582

Amostra	Ion 181 TR (min)	Ion 165 TR (min)	Limite Inferior (min)	Limite Superior (min)
EC	(S) 8,49	(S) 8,49		
	(A) 8,51	(A) 8,51		
WG	(S) 8,54	(S) 8,54		
	(A) 8,56	(A) 8,55		

Legenda: (S) Solvente; (A) Água.

**Fonte:** O próprio autor.

O pico correspondente ao analito apresentou tempo de retenção em torno de 8,5 min, sem registro de interferências no mesmo intervalo cromatográfico. As diferenças entre os tempos de retenção dos padrões e das amostras foram inferiores a 0,08 min, permanecendo dentro do limite máximo de 0,1 min estabelecido pela SANTE/11813/2017. A identidade do composto foi confirmada pelo espectro de massas, com monitoramento do íon quantificador ( $m/z$  181) e do íon qualificador ( $m/z$  165). As razões de intensidade entre esses íons mantiveram-se próximas ao valor teórico de 31,73% obtido para o padrão, variando de 30,99% a 31,89% nas amostras analisadas. Essas variações permaneceram dentro do limite de  $\pm 30\%$  (variação relativa máxima: 2,33%) estabelecido pela SANTE/12682/2019, assegurando a confiabilidade da identificação da bifentrina nas matrizes avaliadas (solvente e água).

#### 5.2.1.2 Efeito de matriz

Os resultados referentes ao efeito de matriz foram obtidos a partir da comparação entre as respostas analíticas dos padrões preparados em solvente e daqueles adicionados ao extrato de lavagem da matriz (superfície foliar), de modo a verificar a influência de constituintes presentes em superfície foliar sobre a resposta do analito quando comparado as curvas analíticas em solvente e em matriz, conforme recomendado pela SANTE/12682/2019. O método utilizado consistiu na comparação estatística dos intervalos de confiança (IC) dos coeficientes das equações de regressão obtidas nas duas condições (solvente e matriz). Para isso foram construídas duas curvas analíticas de mesma faixa, obtendo as seguintes equações e seus respectivos intervalos de confiança à nível de 95% de confiança:

- Equação de regressão I (em solvente):

$$Y = 0,0259x^2 (\pm 0,016) + 91,8x (\pm 9,855) + 592 (\pm 374,760)$$

- Equação de regressão II (na matriz):

$$Y = 0,0198x^2 (\pm 0,013) + 96,7x (\pm 8,386) - 32 (\pm 292,733)$$

O intervalo de confiança de cada coeficiente é dado por:

$$\widehat{b}_0 \pm t_{\frac{\alpha}{2},v} \cdot SE(\widehat{b}_0) \quad \widehat{b}_1 \pm t_{\frac{\alpha}{2},v} \cdot SE(\widehat{b}_1) \quad \widehat{b}_2 \pm t_{\frac{\alpha}{2},v} \cdot SE(\widehat{b}_2)$$

Sendo,

$\widehat{b}_0, \widehat{b}_1, \widehat{b}_2$  : os coeficientes das equações (intercepto, linear e quadrático);

$t_{\frac{\alpha}{2},v}$  : o valor crítico da distribuição t de Student para o nível desejado;

$SE(\widehat{b}_0, \widehat{b}_1, \widehat{b}_2)$  : o erro padrão dos coeficientes.

O erro padrão dos coeficientes foi realizado pelo software Microsoft Excel® 365, através da ferramenta análise de dados, pela função:

$$SE(\widehat{\beta}_i) = \sqrt{\{s^2 \cdot ((X^T X)^{-1})_{ii}\}}$$

Sendo,

$SE(\widehat{\beta}_i)$  : Erro padrão estimado do coeficiente;

$s^2$  : Variância residual do modelo;

$X$  : Matriz de delineamento.

Realizou-se, então, a comparação dos limites das funções obtidas (Tabela 5), com o objetivo de verificar a ocorrência ou não de sobreposições entre os intervalos, possibilitando avaliar a equivalência estatística entre as curvas.

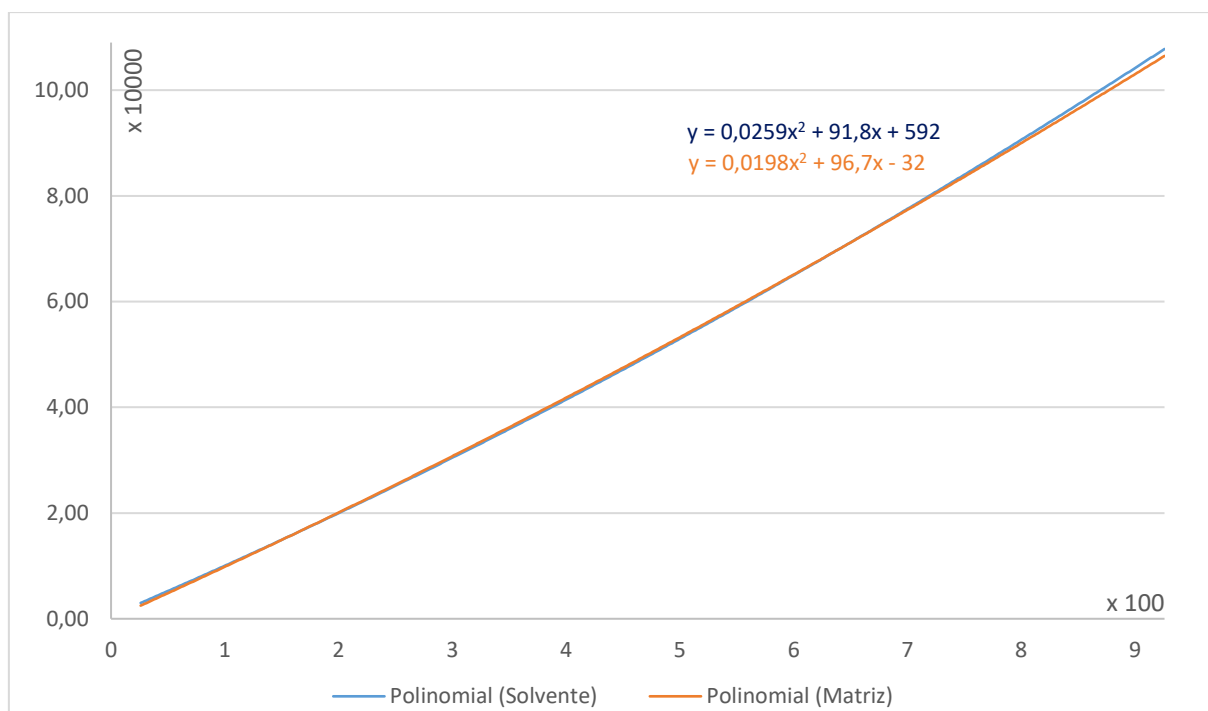
**Tabela 5** – Avaliação dos Intervalos de Confiança (IC) dos coeficientes

Termo	Função 1 (Solvente)	Função 2 (Matriz)	Interseção (sobreposição)
Intercepto ( $b_0$ )	[217,240;966,760]	[-324,733;260,733]	[217,240;260,733]
$x$ ( $b_1$ )	[81,945;101,655]	[88,294;105,066]	[88,294;101,655]
$x^2$ ( $b_2$ )	[0,010;0,042]	[0,006;0,033]	[0,010;0,033]

**Fonte:** O próprio autor.

Constatou-se sobreposição dos IC à 95% de confiança dos três coeficientes (intercepto, linear e quadrático) entre as funções preparadas em solvente e na superfície foliar. Assim, pelo critério de IC<sub>95%</sub>, não houve diferença estatisticamente significativa entre os modelos, descaracterizando qualquer possível efeito de matriz sobre os coeficientes da regressão na faixa estudada.

**Gráfico 2** – Sobreposição das equações Solvente x Matriz



**Fonte:** O próprio autor.

Dessa forma, ao considerar conjuntamente a avaliação das intensidades relativas dos íons monitorados, tempo de retenção dos íons e a análise do efeito de matriz, conclui-se que o método demonstrou seletividade adequada para a determinação da bifentrina em superfície foliar de soja, assegurando a correta identificação do analito e a ausência de interferências significativas da matriz.

### 5.2.2 Limite de Detecção e Quantificação

Os resultados referentes aos parâmetros de Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) foram determinados com base no critério da razão sinal/ruído (S/N), conforme recomendado pela RDC nº 166/2017 da ANVISA. Nesse método, o LD foi definido como a concentração que produz uma razão S/N de aproximadamente 3:1, enquanto o LQ corresponde à concentração capaz de gerar

uma razão mínima de 10:1, assegurando quantificação com segurança. A equação de Horwitz foi utilizada como verificação complementar da precisão nos níveis de LD e LQ.

Além disso, a definição dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) considerou a resposta dos diferentes íons monitorados por GC-MS. Optou-se por atribuir o LD ao íon qualificador (m/z 165), em razão de sua menor intensidade de sinal, assegurando que a detecção do analito fosse possível mesmo em condições mais críticas de abundância relativa. Por outro lado, o LQ foi estabelecido com base no íon quantificador (m/z 181), fragmento de maior estabilidade e abundância, garantindo maior confiabilidade estatística para a quantificação. A seguir, apresentam-se os dados obtidos para os parâmetros do método proposto (Tabela 6):

**Tabela 6** – Sinal Ruído

Parâmetro	Íon	Leituras	Média S/N	Concentração Teórica ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Concentração Média ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	%DPR Horwitz	DPR%	Limites ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
LD	165	7	3,33	8,3	-	-	-	15,00
LQ	181	7	11,19	8,3	9,0	21,28	2,716	16,66

**Nota:** Para o parâmetro LD, não se aplicou os cálculos de concentração média, %DPR Horwitz e DPR%, uma vez que este representa o menor nível detectável do analito, não sendo destinado à quantificação com precisão e exatidão.

**Fonte:** O próprio autor.

A avaliação dos limites de detecção (o LD) e quantificação (LQ) demonstrou que o método apresenta desempenho adequado para a determinação do analito nas condições estudadas. O LD, calculado a partir das sete leituras no íon 165, resultou em sinal médio de 3,33 ( $3,00 < S/N < 10,00$ ). Os valores de concentração para o cálculo de %DPR para este limite não foram considerados (embora o cálculo matemático tenha sido permitido) visto que estes devem assegurar apenas que o sinal do analito seja distinguível do ruído de fundo. O resultado do limite calculado foi de  $15,00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , confirmando que o método é capaz de detectar o analito em níveis próximos a este patamar.

De forma análoga, o LQ foi determinado a partir de sete leituras no íon 181, com sinal médio de 11,19 ( $S/N > 10,00$ ), concentração média obtida de 9,0

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , DPR de 2,716% e limite teórico de 21,28% pela equação de Horwitz. O resultado obtido foi de  $16,66 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , indicando que o método garante resposta reprodutível e aceitável em níveis de concentração suficientemente baixos, compatíveis com o limite inferior da faixa de trabalho. No entanto, para assegurar maior confiabilidade e robustez ao processo analítico (além da necessidade analítica do estudo proposto), optou-se por estabelecer um valor de LQ superior ao encontrado experimentalmente, fixado em  $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Tabela 7). Essa decisão visa minimizar riscos de variações próximas ao limite de detecção, fortalecendo a precisão intermediária do método e garantindo que a faixa de trabalho definida mantenha resultados consistentes e de elevada confiabilidade, relacionado a concentrações residuais encontradas no campo.

**Tabela 7** – Limites de Detecção e Quantificação

LQ	LD
$26,00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$15,00 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

**Fonte:** O próprio autor.

### 5.2.3 Linearidade

Os resultados da Linearidade foram avaliados segundo critérios nacionais e internacionais (INMETRO – DOQ-CGCRE-008/2020 e SANTE/12682/2019), através da construção da curva analítica, utilizando-se sete pontos em duplicata, abrangendo a faixa de concentração de  $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $926 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , previamente estabelecida para o método. A análise estatística permitiu verificar o ajuste do modelo proposto, contemplando parâmetros como coeficiente de determinação, equação de regressão e distribuição dos resíduos (Tabela 8).

- Equação de regressão I (Ajuste Linear)

$$Y = 118,40x - 3623$$

**Tabela 8** – Termos Estatísticos (Ajuste Linear)

Parâmetros	Valor
Falta de Ajuste	$p < 0,05$

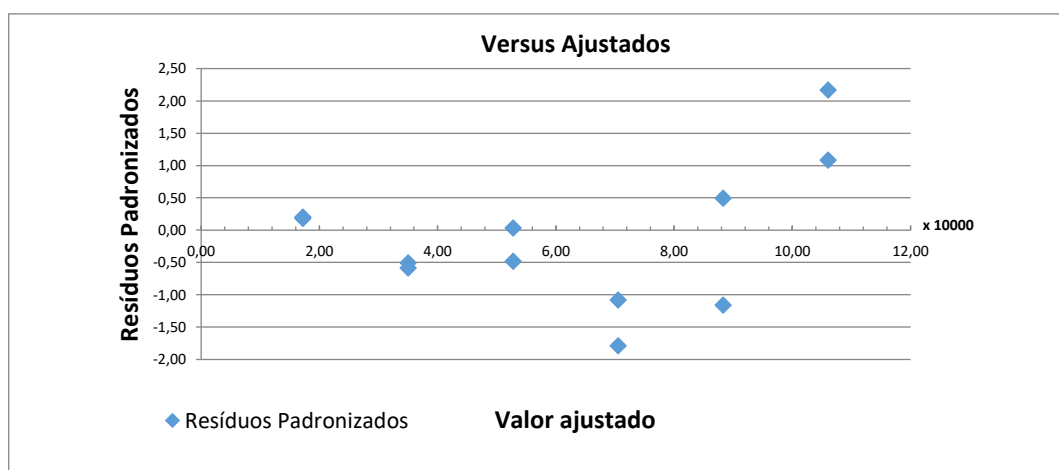
Parâmetros	Valor
Coefficiente de Determinação ( $R^2$ )	98,60%
Erro de Regressão ( $Sy/x$ )	4385,79
Erro Padrão Coef. ( $b_0$ )	2198
Erro Padrão Coef. ( $b_1$ )	3,91

**Fonte:** O próprio autor.

Evidenciou-se a presença de falta de ajuste significativa no modelo linear, indicada pelo valor de  $p < 0,05$  (Tabela 8). Esse resultado confirma que o modelo linear não descreveu de forma adequada os dados experimentais, também observado pelo coeficiente de determinação abaixo de 99,0% ( $R^2 = 98,6\%$ ). Tal discrepância evidencia que apenas o índice de correlação não é suficiente para validar a linearidade, sendo necessário avaliar estatisticamente a qualidade do ajuste.

Além disso, o erro de regressão ( $Sy/x = 4385,79$ ) e os erros padrões dos coeficientes  $b_0$  (2198) e  $b_1$  (3,91) indicam variação significativa em torno da reta ajustada, reforçando a necessidade de considerar modelos alternativos, como o ajuste quadrático, a fim de melhorar a descrição dos dados. Adicionalmente, foi realizada a análise dos resíduos pelo software Microsoft Excel® 365 para verificar a homogeneidade da variância ao longo da faixa de trabalho.

**Gráfico 3** – Gráfico de Resíduos x Valores Ajustados (Modelo Linear)

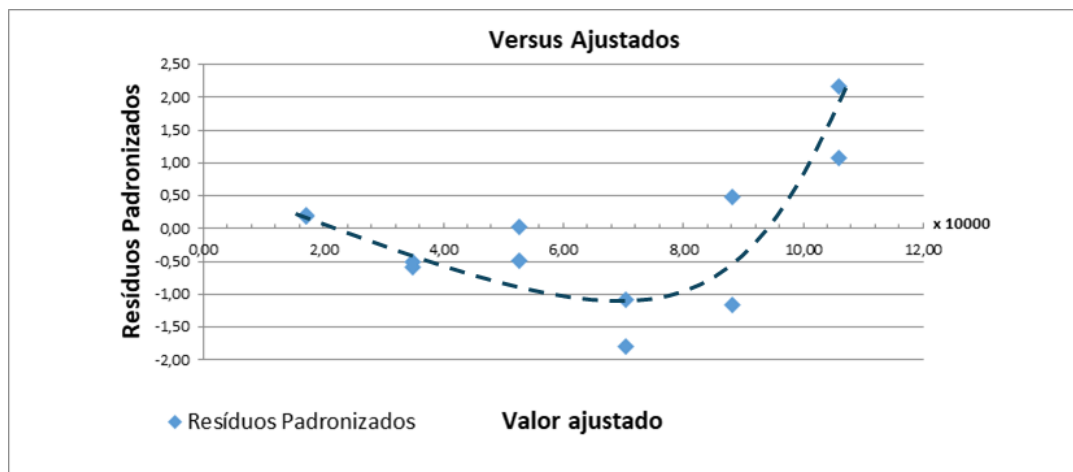


**Fonte:** O próprio autor.

A análise do gráfico de resíduos versus valores ajustados (Gráfico 3) evidenciou a presença de heteroscedasticidade, caracterizada por uma distribuição dos resíduos que tende a se afastar do zero (aumento residual), conforme há aumento

na concentração, assumindo um padrão curvilíneo típico de modelos lineares com falta de ajuste (Gráfico 4):

**Gráfico 4 – Heterocedasticidade**



**Fonte:** O próprio autor.

- Para valores ajustados mais baixos (~20.000 a 60.000), os resíduos concentraram-se próximos de zero, com menor dispersão.
- Para valores ajustados mais altos (acima de ~60.000), há um aumento da amplitude dos resíduos, indicando variância não constante.

Esse comportamento sugeriu que o erro do modelo aumentou conforme o aumento da concentração, o que é típico de dados analíticos em faixas amplas de trabalho. Além disso, foi indicado também que a relação entre concentração e resposta não foi plenamente descrita pelo modelo linear, sugerindo a necessidade de considerar termos adicionais ao ajuste.

Como estratégia de tratativa, foi avaliada a aplicação de modelos alternativos (Tabela 9), incluindo o ajuste quadrático, bem como o uso de ponderações estatísticas, de modo a minimizar o impacto da variabilidade crescente ao longo da faixa de concentrações.

**Tabela 9 – Ponderações Estatísticas**

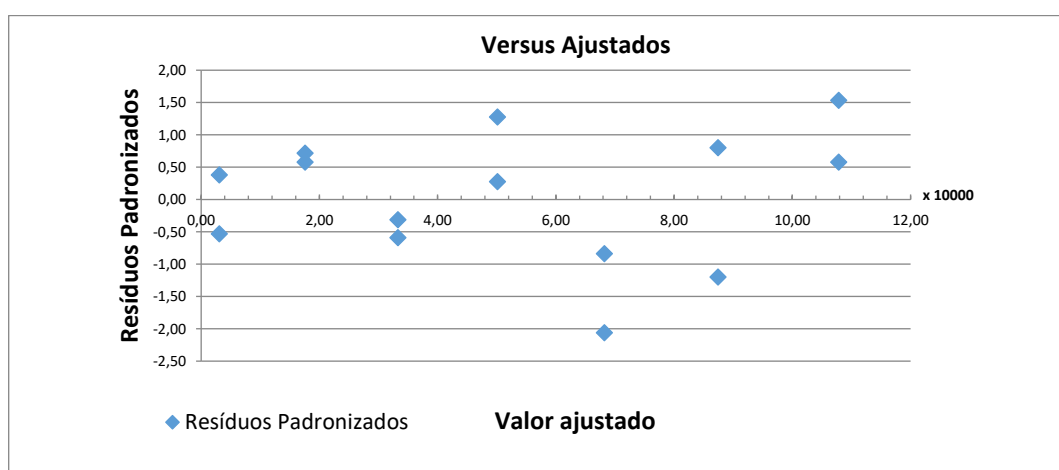
Modelo	Ponderamento	Sy/x	Erro Padrão (b0)	Erro Padrão (b1)	Erro Padrão (b2)
Linear	-	4385,7900	2198	3,91	-
Quadrático	-	2808,8900	1927	9,50	0,00963
Quadrático	1/X	112,8130	469	5,31	0,00686

Quadrático	$1/Y$	10,8439	486	5,30	0,00692
Quadrático	$1/X^2$	4,5772	133	3,67	0,00563
Quadrático	$1/Y^2$	0,0423	137	3,58	0,00571

**Fonte:** O próprio autor.

A avaliação comparativa dos diferentes modelos testados (Tabela 9) demonstrou que o ajuste quadrático com ponderação  $1/Y^2$  apresentou o melhor desempenho estatístico. Esse modelo resultou no menor desvio padrão da regressão ( $Sy/x$ ), bem como nos menores erros-padrão estimados para os coeficientes, evidenciando maior precisão na determinação dos parâmetros. Além disso, a ponderação  $1/Y^2$  mostrou-se eficaz na correção da heteroscedasticidade previamente identificada, proporcionando uma distribuição mais homogênea e aleatória dos resíduos ao longo da faixa de trabalho (Gráfico 5).

**Gráfico 5** – Gráfico de Resíduos x Valores Ajustados (Modelo Quadrático)



**Fonte:** O próprio autor.

Do ponto de vista analítico, essa tratativa é particularmente relevante, pois atribuiu maior peso às respostas de baixa intensidade, próximas ao limite inferior de quantificação, região crítica para a confiabilidade do método. O gráfico 5 demonstra que o ajuste quadrático ponderado por  $1/Y^2$  foi eficaz para corrigir a heteroscedasticidade observada no modelo linear. Os resultados dos termos estatísticos pós tratamento dos dados é apresentado abaixo (Tabela 10):

- Equação de regressão II (Ajuste Quadrático + Ponderação  $1/Y^2$ )

$$Y = 0,02616x^2 + 91,51x + 644$$

**Tabela 10** – Termos Estatístico (Ajuste Quadrático Ponderado)

Parâmetros	Valor
Falta de Ajuste	$p > 0,05$
Coefficiente de Determinação ( $R^2$ )	99,77%
Erro de Regressão ( $Sy/x$ )	0,0423
Erro Padrão Coef. ( $b_0$ )	137
Erro Padrão Coef. ( $b_1$ )	3,58
Erro Padrão Coef. ( $b_2$ )	0,0057

**Fonte:** O próprio autor.

Essas abordagens permitiram o melhor ajuste do modelo ( $p > 0,05$ ), reduzindo o padrão sistemático observado, além de um  $R^2$  superior à 99,0% com coeficiente de correlação ( $r_{\text{corr}}$ ) de 0,9988, o que assegurou maior confiabilidade da curva de calibração para as análises propostas (Tabela 10).

#### 5.2.3.1 Sensitividade analítica

A avaliação da sensibilidade analítica (*slope*) foi conduzida a partir da avaliação da curva analítica obtida no teste de linearidade (Eurachem, 2014), previamente ajustada ao modelo polinomial de 2ª ordem, descrita por:

$$y(x) = 0,02616x^2 + 91,51x + 644$$

Onde  $y$  é a área do pico e  $x$  a concentração. Em modelos quadráticos, a sensibilidade ( $S(x)$ ) não é constante correspondendo à inclinação local da curva, dada pela derivada:

$$S(x) = \frac{dy}{dx} = 0,05232x + 91,51$$

Considerando a faixa de trabalho 26 – 926  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , obtiveram-se os seguintes resultados quantitativos:

- Sensitividade local no início da faixa (26  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em  $\text{área}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ :

$$S(26,00) = 92,8703$$

- Sensitividade média da faixa (476  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em  $\text{área}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ :

$$S(476,00) = 116,4143$$

- Sensitividade local no fim da faixa ( $926 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em  $\text{área}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ :

$$S(926,00) = 139,9583$$

Em síntese, a sensibilidade da curva analítica mostrou-se favorável, permanecendo elevada e previsível em toda a faixa de  $26\text{--}926 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , uma vez que a inclinação local cresce linearmente com a concentração. Observa-se um valor mínimo de  $\sim 92,87 \text{ áreas}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (em  $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e máximo de  $\sim 139,96 \text{ área}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (em  $926 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), correspondendo a incremento absoluto de  $\sim 47,09 \text{ áreas}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $\approx +50,7\%$  em relação ao início da faixa). Na região baixa, a variação é discreta, favorecendo a estabilidade da conversão sinal/concentração, próxima ao limite inferior. Nas concentrações médias e altas, o aumento gradual da sensibilidade contribui para maior capacidade de discriminação sem mudanças abruptas de resposta. A curvatura positiva constante confirma esse ganho progressivo, indicando que a faixa validada apresenta comportamento metrológico consistente para quantificação.

#### 5.2.3.2 Incerteza padrão (curva analítica)

A avaliação da incerteza associada à calibração foi realizada a partir dos parâmetros estatísticos obtidos no estudo de linearidade, utilizando o modelo quadrático ponderado definido para o método. A partir dos erros-padrão dos coeficientes da equação ajustada, do erro de regressão, do comportamento residual e da sensibilidade (conversão da incerteza para ppm), estimou-se a contribuição da curva analítica para a incerteza final das concentrações determinadas. Este procedimento seguiu os princípios gerais de propagação de incerteza, utilizando como base matemática para a aplicação das derivadas parciais ao modelo de regressão descrito no GUM (JCGM, 2008).

Essa etapa permitiu quantificar a variabilidade inerente ao processo de conversão do sinal instrumental em concentração, determinando o impacto do ajuste matemático e da dispersão dos dados sobre a confiabilidade das medidas. Os valores obtidos representam exclusivamente a incerteza proveniente da calibração, sendo posteriormente integrados à incerteza combinada do método. A incerteza

padrão em um ponto  $x_0$  foi dada por:

$$\text{Incerteza } (\mu) = \sqrt{(b'_0)^2 \cdot S_{b_0}^2 + (b'_1)^2 \cdot S_{b_1}^2 + (b'_2)^2 \cdot S_{b_2}^2 + S^2}$$

Sendo,

$b'_i$ : Derivada parcial de Y em relação ao coeficiente

$S_{bi}$ : Erro padrão do coeficiente

$S$ : Erro de regressão

Portanto,

$$\text{Incerteza } (\mu) = \sqrt{S_{b_0}^2 + x_0^2 \cdot S_{b_1}^2 + x_0^4 \cdot S_{b_2}^2 + S^2}$$

Sendo,

$x_0$ : Concentração/nível analítico avaliado

$S_{bi}$ : Erro padrão do coeficiente

$S$ : Erro de regressão

A Tabela 11 apresenta as incertezas padrão estimadas para nível máximo e mínimo da curva analítica, calculadas a partir dos erros-padrão dos coeficientes do ajuste quadrático ponderado e do erro residual da regressão.

**Tabela 11 – Incerteza Padrão (curva analítica)**

Nível	Incerteza Padrão ( $\mu$ )
0,05 mg·L <sup>-1</sup>	± 0,0024 mg·L <sup>-1</sup>
0,926 mg·L <sup>-1</sup>	± 0,0422 mg·L <sup>-1</sup>

**Fonte:** O próprio autor.

Observa-se que a incerteza padrão aumenta conforme a concentração se eleva, refletindo a maior contribuição dos termos quadráticos e da variabilidade associada às regiões superiores da curva analítica. No nível de 0,05 mg·L<sup>-1</sup>, a incerteza é baixa (±0,0024 mg·L<sup>-1</sup>), indicando elevada precisão na faixa próxima ao LQ, enquanto em 0,926 mg·L<sup>-1</sup> o valor cresce para ±0,0422 mg·L<sup>-1</sup>, comportamento esperado para ajustes ponderados cuja sensibilidade varia ao longo

da faixa de trabalho.

#### 5.2.4 Exatidão

Os resultados referentes ao parâmetro de exatidão foram avaliados de dois modos. O primeiro com base na eficiência de extração superficial do método e o segundo com base na recuperação analítica. Em ambos os casos foi considerando como condição experimental de extração o tempo de 15 segundos de lavagem em solvente (acetona) sob rotação de 200 rpm.

Para o processo de eficiência, compararam-se as respostas obtidas no Grupo A (folhas tratadas e submetidas à extração) e no Grupo B (folhas com adição do analito após a extração), sendo a porcentagem de recuperação real calculada pela razão entre os dois grupos (Tabela 12). Este processo permitiu a avaliação de perdas durante a etapa de extração, medindo a retenção à lavagem e perdas durante a manipulação da matriz. O critério de aceitação adotado correspondeu ao intervalo de 80 a 120%, conforme recomendações para métodos aplicados a amostras fortificadas descritas pela RDC nº 166/2017 da ANVISA.

**Tabela 12** – Eficiência de Extração

Grupo	Tipo	Teórico (mg·L <sup>-1</sup> )	Resultado Real (mg·L <sup>-1</sup> )	Recuperação Teórica (%)	Recuperação Real (%)
A	Folhas tratadas e extraídas	0,080	0,074	92,94	102,78
B	Folhas com adição pós-extração	0,080	0,072	90,18	

**Fonte:** O próprio autor.

Observa-se que, para o Grupo A (folhas tratadas e submetidas à extração), a recuperação teórica obtida foi de 92,94%, enquanto no Grupo B (folhas com adição do analito após a extração) o valor encontrado foi de 90,18%. A partir da comparação entre os dois grupos, obteve-se uma recuperação real de 102,78%, valor que confirma a eficiência do procedimento de lavagem e extração (Tabela 12). Estes resultados encontram-se dentro do intervalo de aceitação de 80 a 120%, recomendado pela RDC nº 166/2017 da ANVISA, confirmando uma perda de ativo baixa durante a etapa de extração e manipulação da matriz.

$$\text{Recuperação Teórica (\%)} = \frac{\text{Real (Grupo A)}}{\text{Teórico (Grupo A)}} \times 100$$

$$\text{Recuperação Real (\%)} = \frac{\text{Real (Grupo A)}}{\text{Real (Grupo B)}} \times 100$$

Sendo,

*Real (Grupo A)* : Concentração Real (folhas tratadas e submetidas à extração);

*Real (Grupo B)* : Concentração Real (folhas com adição do analito após a extração);

*Teórico (Grupo A)* : Valor teórico (folhas tratadas e submetidas à extração).

Para o processo de recuperação analítica — processo oficial de avaliação do parâmetro exatidão em validação analítica — foi objetivado a avaliação do método em toda a faixa, sendo conduzido ensaios em três níveis de fortificação — baixo, médio e alto. Para cada nível, aplicou-se o teste de Grubbs, a fim de identificar eventuais valores discrepantes. Foi realizado a comparação entre os valores obtidos experimentalmente e as concentrações teóricas estabelecidas para os níveis de fortificação. Este processo permitiu a avaliação da consistência do método somado ao preparo das amostras e análise instrumental. A seguir, é apresentado na tabela 13 os resultados obtidos em cada condição avaliada, (resultados obtidos considerando a diluição da amostra).

**Tabela 13 – Recuperação**

Nível	Teórico (mg·L <sup>-1</sup> )	Resultado (mg·L <sup>-1</sup> )	Grubbs (G <sub>calc</sub> )	Recuperação (%)	Média (%)
Baixo	0,080	0,0747	G <sub>1</sub> : 0,593	93,38	95,54
		0,0800	G <sub>3</sub> : 1,155	100,00	
		0,0746	G <sub>Crit</sub> : 1,155	93,25	
Médio	0,951	0,9454	G <sub>1</sub> : 1,077	99,41	102,17
		0,9760	G <sub>3</sub> : 0,899	102,63	
		0,9936	G <sub>Crit</sub> : 1,155	104,48	
Alto	1,852	1,8150	G <sub>1</sub> : 0,994	98,00	99,18
		1,8365	G <sub>3</sub> : 1,006	99,16	
		1,8588	G <sub>Crit</sub> : 1,155	100,37	

**Fonte:** O próprio autor.

No nível baixo (0,080 mg·L<sup>-1</sup>), a recuperação média foi de 95,54%,

indicando boa exatidão e eficiência adequada de extração mesmo em concentrações próximas ao limite inferior de quantificação do método. Já no nível médio ( $0,951 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), observou-se a maior média de recuperação (102,17%), evidenciando consistência do procedimento na faixa central da curva. No nível alto ( $1,852 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), a recuperação média foi de 99,18%, confirmando a estabilidade do método também em concentrações elevadas. Em todos os níveis avaliados, o valor de G calculado foi inferior ao G crítico, evidenciando ausência de valores extremos e reforçando a homogeneidade dos resultados obtidos.

Sendo assim, a partir dos valores obtidos conclui-se que as condições experimentais empregadas foram adequadas para garantir a recuperação analítica do analito em superfície foliar.

#### 5.2.5 Precisão

Para verificar a consistência da metodologia de extração do ativo da superfície foliar foi conduzida a avaliação do parâmetro de Precisão seguindo recomendações da Eurachem, 2014. Esse ensaio teve como objetivo confirmar a repetibilidade e precisão intermediária dos resultados obtidos no processo de lavagem das folhas tratadas com o ativo, garantindo que a variabilidade experimental (diferentes dias) se mantivesse dentro de limites aceitáveis.

O procedimento foi realizado a partir da aplicação e subsequente lavagem de folhas submetidas à mesma concentração de bifentrina, em um total de seis repetições independentes em dois níveis distintos (baixo e alto). Os resultados foram analisados estatisticamente por meio do cálculo do desvio padrão relativo (%RSD) e comparados ao valor calculado de %RSD de Horwitz. Além disso, foi aplicado o teste de Grubbs (tabela 14) para identificação de possíveis valores discrepantes (outliers), assegurando maior rigor na interpretação dos dados e confiabilidade nos resultados obtidos.

Com o objetivo de ampliar a abrangência da avaliação, foram realizados ensaios em diferentes dias (intervalo de 7 dias), obtendo-se os conjuntos de dados referentes à repetibilidade 1 e 2. A partir desses resultados, foi posteriormente calculada a precisão intermediária, permitindo avaliar não apenas a variabilidade intra-dia (mesmo dia), mas também a consistência do método ao longo do tempo. (Resultados obtidos considerando a diluição da amostra).

**Tabela 14** – Teste de Grubbs – Precisão

Teórico		Repetitividade 1		Repetitividade 2		Precisão Intermediária		
Concentração (mg·L <sup>-1</sup> )	G <sub>crítico</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>6</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>6</sub>	G <sub>crítico</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>12</sub>
0,080	1,887	1,053	1,399	1,025	1,610	2,412	1,091	2,069
1,852	1,887	1,235	1,302	1,349	1,038	2,412	1,702	1,604

**Fonte:** O próprio autor.

A aplicação do teste de Grubbs (tabela 14) permitiu verificar a ausência de valores discrepantes (*outliers*) nos conjuntos de dados obtidos para as concentrações avaliadas. Observa-se que, em todas as condições analisadas (repetibilidade 1, repetibilidade 2 e precisão intermediária), os valores calculados de G permaneceram inferiores aos respectivos valores críticos (G. crítico), tanto para a concentração mais baixa (0,080 mg·L<sup>-1</sup>) quanto para a mais elevada (1,852 mg·L<sup>-1</sup>). Esse resultado indica a ausência de valores atípicos estatisticamente significativos dentro dos conjuntos experimentais, evidenciando que a variabilidade observada decorre de flutuações normais do processo analítico. Dessa forma, deu-se continuidade à realização das análises estatísticas para os testes de Repetibilidade e Precisão Intermediária. (Resultados obtidos considerando a diluição da amostra).

**Tabela 15** – Repetitividade e Precisão Intermediária

Referência		Repetitividade 1 (RSDr)		Repetitividade 2 (RSDr)		Precisão Intermediária (RSDR)	
Concentração (mg·L <sup>-1</sup> )	%DPR Horwitz	Média (mg·L <sup>-1</sup> )	DPR (%)	Média (mg·L <sup>-1</sup> )	DPR (%)	Média (mg·L <sup>-1</sup> )	DPR (%)
0,080	15,138	0,086	9,928	0,079	5,703	0,083	9,029
1,852	9,434	1,805	2,273	1,773	2,411	1,789	2,373

**Fonte:** O próprio autor.

A análise dos resultados apresentados na tabela 15 evidencia que o método de extração da bifentrina diretamente da superfície foliar apresentou desempenho satisfatório em termos de precisão. Para a concentração mais baixa (0,080 mg·L<sup>-1</sup>), a repetitividade mostrou valores de DPR de 9,928% e 5,703%, resultando em uma precisão intermediária de 9,029%. Esses valores encontraram-se bem abaixo do limite de aceitação estabelecido pela equação de Horwitz (15,138%), indicando boa precisão mesmo em condições críticas, próximas ao limite inferior de

quantificação.

Na concentração mais elevada (1,852 mg·L<sup>-1</sup>), os valores de DPR encontrados foram ainda menores, variando entre 2,273% e 2,411% nas avaliações de repetitividade, permanecendo todos abaixo do valor máximo permitido pela equação de Horwitz (9,434%), resultando em uma precisão intermediária de 2,373%. Tais resultados reforçam a baixa variabilidade do método em níveis de concentração mais altos, confirmando a estabilidade e confiabilidade do procedimento.

De modo geral, tanto na faixa mais baixa quanto na mais elevada de concentração, os valores de precisão atenderam plenamente ao critério de aceitação, demonstrando que o método de proposto é consistente, reproduzível e aplicável para a extração da bifentrina em superfícies foliares tratadas.

#### 5.2.5.1 Incerteza padrão (precisão intermediária)

A incerteza padrão do método foi estimada a partir do desvio-padrão da precisão intermediária (SR), obtido pela ANOVA conforme descrito em guias internacionais como a ISO 5725-2. Esse parâmetro representou a variabilidade da metodologia sob condições normais de análise e foi utilizado para o cálculo da incerteza padrão neste capítulo e da incerteza combinada e expandida em capítulos posteriores. Os resultados estão apresentados em níveis baixos (nível 01) e altos (nível 05) da curva analítica na tabela a seguir (tabela 16).

**Tabela 16 – ANOVA**

Nível	SQ		MQ		Repetibilidade (Sr)	Desvio Padrão	
	Dentro dos Grupos	Entre Grupos	Dentro dos Grupos	Entre Grupos		Entre Grupos (SE)	Precisão Intermediária (SR)
01	4,71×10 <sup>-04</sup>	1,55×10 <sup>-04</sup>	4,71×10 <sup>-05</sup>	1,55×10 <sup>-04</sup>	0,007 mg·L <sup>-1</sup>	0,0043 mg·L <sup>-1</sup>	0,008 mg·L <sup>-1</sup>
05	1,18×10 <sup>-04</sup>	1,11×10 <sup>-04</sup>	1,18×10 <sup>-05</sup>	1,11×10 <sup>-04</sup>	0,003 mg·L <sup>-1</sup>	0,0041 mg·L <sup>-1</sup>	0,005 mg·L <sup>-1</sup>

**Fonte:** O próprio autor.

A Tabela 16 apresenta os resultados da ANOVA aplicados aos dois níveis avaliados. Em ambos os casos, observa-se que a maior parcela da variabilidade está associada ao componente dentro dos grupos, refletido pelos maiores valores de MQ e pela predominância do desvio-padrão da repetibilidade (Sr). No nível 01, Sr foi

mais elevado ( $0,007 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), indicando maior dispersão nas medições, enquanto no nível 05 a repetibilidade foi superior ( $0,003 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

A variabilidade entre grupos (SE) permaneceu baixa e semelhante entre os níveis ( $\approx 0,0042 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), evidenciando que as diferenças inter-dia (dias diferentes) exerceram impacto reduzido sobre o método. Como resultado, a precisão intermediária (SR) acompanhou o comportamento de Sr, sendo maior no nível 01 ( $0,008 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e menor no nível 05 ( $0,005 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

De forma geral, os resultados demonstram que a precisão do método é satisfatória e que a maior contribuição para a variação total provém das condições intra-dia, sem influência significativa das condições inter-dia.

**Tabela 17** – Incerteza Padrão (Precisão)

Nível	Limite de Repetibilidade (r)	Limite da Precisão Intermediária (PI)	Incerteza Padrão ( $\mu$ )
01	$\pm 0,0190 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0224 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0023 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
05	$\pm 0,0095 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0148 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

**Fonte:** O próprio autor.

A Tabela 17 apresenta os limites de repetibilidade (r), os limites de Precisão Intermediária (PI) e a incerteza padrão (u) obtidos para os níveis analisados. Observa-se que, no nível 01, tanto r ( $\pm 0,0190 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) quanto R ( $\pm 0,0224 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) são maiores que no nível 05, indicando maior variabilidade nas medições desse nível. Esse comportamento é coerente com o observado na ANOVA, em que o desvio-padrão da repetibilidade também foi mais elevado no nível inferior.

A incerteza padrão seguiu o mesmo padrão, sendo superior no nível 01 ( $\pm 0,0023 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e menor no nível 05 ( $\pm 0,0015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), refletindo diretamente a diferença no desvio-padrão da precisão intermediária de cada nível. Esses resultados demonstram que a precisão do método melhora em concentrações mais altas, enquanto em níveis menores há maior dispersão inerente ao processo analítico.

#### 5.2.6 Faixa de trabalho

A faixa de trabalho do método foi estabelecida entre 26 e  $926 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , abrangendo o intervalo no qual o modelo de calibração apresentou desempenho

adequado em termos de linearidade/curvatura, precisão e exatidão, em conformidade com as diretrizes de validação analítica (ANVISA – RDC 166/2017).

O limite inferior foi definido a partir do limite de quantificação (LQ) validado, que apresentou valor menor do que o adotado na prática; contudo, optou-se por fixar um limite superior mais conservador, de forma a assegurar maior robustez estatística e confiabilidade dos resultados próximos a este ponto.

O limite superior correspondeu à maior concentração avaliada experimentalmente, garantindo que a resposta instrumental permanecesse dentro da região de confiabilidade do modelo. A homogeneidade dos resíduos, a ausência de desvios significativos de falta de ajuste e os baixos valores de dispersão reforçaram a adequação dessa faixa, assegurando a aplicabilidade do método para a quantificação da bifentrina em diferentes níveis de concentração.

### 5.2.7 Robustez

Para cada formulação, foi adotado um delineamento unifatorial com dois níveis, considerando a dureza da água  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (baixa) e  $342 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (alta) de  $\text{CaCO}_3$  como variável de estudo. Alternativamente, sob a abordagem de planejamento experimental, esse delineamento pode ser descrito como um planejamento  $2^n$  ( $n = 1$ ), com o objetivo de avaliar o efeito da dureza sobre a resposta analítica. Tal avaliação é justificada por representar uma variável real e possivelmente influente nas aplicações de agrotóxicos (DARAMOLA et al., 2022).

As formulações em estudo (SC, EC e WG) foram analisadas para verificar a influência da variação sobre as frações obtidas nas soluções de lavagem e seus efeitos nos resultados analíticos, de modo a assegurar a confiabilidade do método em condições práticas de uso, em conformidade com as orientações da ANVISA (RDC nº 166/2017).

**Tabela 18** – Avaliação Robustez: Dureza da Água em Calda

Amostras	Efeito (%)	EP.t <sub>(n-1, 95%)</sub>	Significância
SC	+1,12	± 4,28	Não significativo
EC	-1,41	± 2,66	Não significativo
WG	-3,12	± 6,22	Não Significativo

Legenda: EP: Erro Padrão do efeito (%);

**Fonte:** O próprio autor.

A avaliação da robustez do método (Tabela 18) demonstrou que as pequenas alterações introduzidas (de  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  à  $342 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) não exerceram impacto significativo sobre os resultados analíticos ao nível de 95% de confiança. Para a formulação SC, observou-se efeito de 1,12% com erro padrão de 4,28% na fração extraída em água (solução de lavagem); na EC, efeito de -1,41% com erro padrão de 2,66%; e na WG, efeito de -3,12% com erro padrão de 6,22%. Em todos os casos, a comparação estatística pelo teste t não evidenciou diferença significativa, indicando que as variações propostas não comprometem a confiabilidade do método.

Apesar disso, as pequenas mudanças observadas nos resultados podem estar relacionadas às características próprias de cada formulação, como solubilidade, composição dos adjuvantes e capacidade de aderência à superfície foliar. Tais diferenças refletem o comportamento distinto das amostras frente à interação com a água, mas não comprometem a aplicabilidade e a consistência do método.

Convém ressaltar que os testes realizados se restringem à avaliação da permanência do ativo na superfície foliar, não representando, necessariamente, sua efetividade biológica na planta. Muitos estudos têm demonstrado que a qualidade da água, especialmente sua dureza, pode influenciar a eficiência de pesticidas, uma vez que cátions como cálcio e magnésio podem interagir com o ingrediente ativo, reduzindo sua absorção e movimentação nos tecidos vegetais (IOWA STATE UNIVERSITY, 2023). Adicionalmente, fatores do meio e da formulação podem impactar diretamente processos fisiológicos como absorção foliar e translocação do composto no interior da planta (WANG et al., 2016), aspectos estes que não são contemplados na metodologia adotada neste parâmetro.

Esses resultados confirmam que o procedimento analítico se mantém estável diante de mudanças deliberadas na qualidade da água utilizada no preparo da calda, atendendo ao requisito de robustez preconizado pela RDC nº 166/2017 e assegurando sua aplicabilidade em condições práticas de rotina.

#### 5.2.8 Incerteza Expandida

A estimativa da incerteza combinada e expandida do método foi determinada a partir da combinação das principais fontes de variabilidade identificadas durante o processo de validação, incluindo repetibilidade do método

analítico em diferentes dias (precisão intermediária), curva analítica e instrumentação.

O cálculo foi realizado conforme as recomendações de diretrizes de validação analítica do INMETRO em DOQ-CGCRE-008 do ano de 2020, adotando-se um fator de abrangência  $k = 2,228$ , correspondente a um nível de confiança aproximado de 95%.

$$\text{Incerteza combinada } (\mu C) = \sqrt{\sum_{i=1}^n u_i^2}$$

Sendo,

$u_i$ : Incerteza padrão associada a cada componente independente

$n$ : Número de contribuições de incerteza

$$\text{Incerteza expandida } (U) = k \cdot \mu C$$

Sendo,

$\mu C$ : Incerteza conjunta

$k$ : Fator de cobertura ( $k = 2,228$ ,  $\approx 95\%$  confiança)

A incerteza padrão instrumental foi determinada a partir das incertezas padrão da balança analítica e do balão volumétrico utilizados no preparo da amostra. Considerando que a concentração do analito é proporcional à razão entre a massa e o volume ( $C \propto m/V$ ), as incertezas desses instrumentos foram propagadas para a unidade da mensurada ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) por meio de seus coeficientes de sensibilidade a partir das concentrações  $0,080 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (nível 01) e  $1,852 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (nível 05), além da massa da quantidade de amostra de 2500 mg. A incerteza associada à medição da temperatura não foi considerada, uma vez que não foi aplicada correção de volume em função da temperatura no procedimento analítico.

As contribuições individuais foram combinadas para obtenção da incerteza instrumental, a qual foi posteriormente combinada com as incertezas da precisão intermediária e da curva analítica para cálculo da incerteza padrão combinada e expandida do método.

A seguir, encontram-se os valores referentes às incertezas, padrão ( $\mu$ ), combinada ( $\mu C$ ) e expandida ( $U$ ), para o método:

**Tabela 19** – Incerteza conjunta e expandida

Nível	Incerteza Padrão ( $\mu$ ) Instrumentação Analítica	Incerteza Padrão ( $\mu$ ) Precisão Intermediária	Incerteza Padrão ( $\mu$ ) Curva Analítica	Incerteza Combinada ( $\mu C$ )	Incerteza Expandida (U)
01	$\pm 0,000048 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0023 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0024 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0033 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0074 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
05	$\pm 0,001112 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0422 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0422 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\pm 0,0941 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

**Fonte:** O próprio autor.

Conforme apresentado na Tabela 19, a contribuição da incerteza instrumental é mínima frente às demais fontes de incerteza do método. O menor nível de concentração apresentou incerteza combinada inferior ( $\pm 0,0033 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) em relação ao nível 05 ( $\pm 0,0422 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), refletindo menor variabilidade global. A incerteza expandida seguiu o mesmo comportamento, com valores de  $\pm 0,0074 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no nível 01 e  $\pm 0,0941 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no nível mais elevado.

O nível cinco apresentou maior sensibilidade às fontes de variabilidade, resultando em maior incerteza total. Já o nível mais baixo mostrou desempenho mais consistente, com menor dispersão entre as fontes avaliadas. Esses valores sintetizam a confiabilidade do método em cada nível e evidenciam o impacto das etapas do processo na incerteza final.

## 5.2.9 Síntese dos Dados

**Quadro 2** – Compilação dos dados de Validação

Parâmetro	Avaliação	Resultado	Normativa	Especificação
Seletividade	Var. Relativa: Intensidade dos Íons	< 2,33%	SANTE/12682/2019	Varição relativa ≤ 30% entre padrão e amostra
	Var. Relativa: TR dos Íons	< 0,08 min	SANTE/11813/2017	Varição ≤ 0,1 min entre padrão e amostra
	Efeito matriz (sobreposição de intervalos)	IC sobrepostos	SANTE/12682/2019	Curvas em matriz devem ser comparadas com curvas em solvente.
LQ	S/N > 10	26,00 µg·L <sup>-1</sup>	ANVISA - RDC 166/2017	Declarar a menor concentração quantificável com precisão e exatidão aceitáveis
LD	3 < S/N < 10	15,00 µg·L <sup>-1</sup>	ANVISA - RDC 166/2017	Declarar a menor concentração detectável com confiabilidade estatística
Linearidade	Coefficiente de correlação (r <sub>corr</sub> )	≈ 0,999	INMETRO – DOQ-CGCRE-008/2020	Declarar (r por si só não é suficiente, análise de resíduos é recomendada)
	Resíduos	Homoscedasticidade	INMETRO – DOQ-CGCRE-008/2020	Distribuição aleatória dos resíduos/ Ausência de tendência sistemática/ Verificação de homoscedasticidade
	Grau da Função	Quadrática	SANTE/12682/2019	Modelo deve ser adequado (linear ou não linear); aceite se atender aos critérios de ajuste
	Ponderamento	1/Y <sup>2</sup>	SANTE/12682/2019	Deve-se utilizar uma função de calibração apropriada (com ou sem ponderação)
Sensitividade Analítica	Nível baixo	92,87 áreas/µg·L <sup>-1</sup>	Eurachem, 2014	Declarar sensibilidade através da inclinação da curva de calibração (slope)
	Nível médio	116,41 áreas/µg·L <sup>-1</sup>		
	Nível alto	139,96 áreas/µg·L <sup>-1</sup>		
Exatidão	Nível baixo	95,54%	ANVISA – RDC 166/2017	Deve estar dentro de 80 – 120% (amostras fortificadas)
	Nível médio	102,17%		
	Nível alto	99,18%		
Precisão	Nível baixo	DPR (%) < DPR (%) Horwitz DPR = 9,03%	Eurachem, 2014	DPR experimental deve ser menor que DPR calculado por Horwitz
	Nível alto	DPR (%) < DPR (%) Horwitz DPR = 2,73%		
Faixa de Trabalho	Faixa estimada	26,0 - 926,0 µg·L <sup>-1</sup>	ANVISA – RDC 166/2017	Declarar através da linearidade, precisão e exatidão contidos na faixa de aplicação
Robustez	Dureza da água no preparo da calda	Robusto para água de 20 e 342 mg·L <sup>-1</sup> em SC, EC e WG	ANVISA – RDC 166/2017	Alterações experimentais controladas não devem impactar significativamente os resultados analíticos
Incerteza	Nível baixo	µC = ± 0,0033 mg·L <sup>-1</sup> U = ± 0,0074 mg·L <sup>-1</sup>	INMETRO – DOQ-CGCRE-008/2020	Deve ser estimada a incerteza combinada e expandida (k ≈ 2,2 a 95% de confiança)
	Nível alto	µC = ± 0,0422 mg·L <sup>-1</sup> U = ± 0,0941 mg·L <sup>-1</sup>		

**Fonte:** O próprio autor.

### 5.3 APLICAÇÃO DO MÉTODO

A aplicação do método desenvolvido e validado possibilitou a quantificação da bifentrina presente na superfície foliar de folhas de soja tratadas por meio de dois procedimentos sequenciais de extração. Conforme descrito em capítulos anteriores, na primeira etapa realizou-se a lavagem superficial com água, a fim de simular a remoção de resíduos por enxágue simples. Em seguida, as mesmas amostras foram submetidas à extração com solvente orgânico, visando recuperar a fração residual fortemente aderida à matriz vegetal. Os resultados das análises foram organizados da seguinte forma (Tabela 20).

**Tabela 20** – Amostras: Valores Observados

Amostras	Água (mg·L <sup>-1</sup> )	Solvente (mg·L <sup>-1</sup> )	Teórico (mg·L <sup>-1</sup> )	Total observado (mg·L <sup>-1</sup> )	Residual (mg·L <sup>-1</sup> )
SC	0,15454	0,97758	1,15250	1,13211	~0,020
EC	0,12669	1,36567	1,52220	1,49236	~0,030
WG	0,27644	1,52810	1,82872	1,80454	~0,024

**Fonte:** O próprio autor.

Os testes foram conduzidos em triplicata em dois dias distintos, totalizando seis repetições para cada modal de formulação. Ao final, calculou-se a média das frações de bifentrina recuperadas em água e em solvente, juntamente com o desvio padrão (DP) das réplicas e o erro residual médio atribuído ao balanço de massa (Tabela 21).

**Tabela 21** – Amostras: Cálculo das Frações

Amostras	%DP	%Água	%Solvente	%Residual
SC	1,639	~13,81	~84,42	~1,77
EC	1,554	~7,49	~90,39	~2,12
WG	1,724	~20,70	~77,83	~1,47

**Fonte:** O próprio autor.

A soma dos percentuais de ativo removidos nas etapas de lavagem em água e em solvente não necessariamente totalizaram 100%, apresentando pequenas variações atribuídas a erros inerentes ao processo experimental. Essa diferença, representou a parcela de incerteza associada ao método e resultou de

possíveis fatores como perdas durante o manuseio das amostras, volatilização parcial do composto, adsorção do ativo nas superfícies de contato, variações volumétricas, precisão intermediária ou até mesmo limitações no processo de extração e quantificação.

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA one-way), observando-se diferença estatisticamente significativa entre as formulações ( $p < 0,05$ ). A formulação EC apresentou menor porcentagem de ativo na água ( $7,49 \pm 1,55$ ), indicando maior resistência à lavagem, seguida da formulação SC ( $13,81 \pm 1,64$ ). A formulação WG apresentou os maiores valores ( $20,70 \pm 1,72$ ), indicando menor retenção do ativo na superfície foliar. Testes de comparação múltipla indicaram diferença significativa entre todos os grupos.

De forma complementar, os resultados obtidos demonstraram que a lavagem superficial com água foi capaz de remover entre  $\sim 7,49\%$  e  $\sim 20,70\%$  da bifentrina presente na superfície foliar. Embora em valores absolutos essa fração seja inferior à obtida na extração com solvente, ela é particularmente relevante por representar o resíduo passível de remoção em condições ambientais simuladas, como chuva ou irrigação.

A formulação WG apresentou a maior fração removida em água ( $\sim 20,70\%$ ), seguida por SC ( $\sim 13,81\%$ ) e EC ( $\sim 7,49\%$ ). Esse comportamento evidencia diferenças na disponibilidade superficial do ingrediente ativo entre as formulações.

Além disso, o WG utilizado, (composto majoritariamente por surfactante aniônico de cadeia longa altamente hidrofílica), destacou-se pela elevada capacidade de reduzir a tensão superficial da água, aumentando a molhabilidade da folha e o espalhamento da calda. Como consequência, parte da bifentrina tornou-se mais suscetível à redistribuição e remoção aquosa, tornando essa formulação mais facilmente removível.

Na formulação SC utilizada, contendo majoritariamente surfactante aniônico de caráter hidrofílico, observou-se efeito intermediário: houve aumento da molhabilidade, mas a estrutura polimérica do adjuvante ainda assim pôde manter uma pequena parte do inseticida retido na cutícula cerosa.

Já a formulação EC utilizada, composta por surfactante não iônico de cadeias hidrofóbicas longas associadas a grupos etoxilados, apresentou maior afinidade com a superfície foliar e, conseqüentemente, maior persistência do resíduo,

uma vez que reduziu sua solubilidade em água. Essa característica também foi relatada por J.E. Murrooney e C.D. Elmore (2000), que observaram maior aderência do ingrediente ativo na presença de surfactantes derivados de óleos vegetais.

De forma complementar, a extração em solvente em todos os casos recuperou a maior parte da bifentrina (~77,83% a ~90,39%), evidenciando a forte interação do inseticida com a cutícula, rica em ceras tridimensionais como triacosan-1-ol e octacosan-1-ol (HAGEDORN et al., 2017). Essas substâncias hidrofóbicas favoreceram interações de dispersão de London (Van der Waals) (SKOOG et al., 2014) com o composto, explicando sua elevada retenção.

### Quadro 3 – Interpretação dos dados segundo características dos surfactantes

Surfactantes Presentes	Afinidade Observada	Molhabilidade	Retenção	Lavabilidade
Hidrofílico: Aniônicos	- Maior em Água	- Aumento da Molhabilidade;  - Redução da tensão superficial;  - Promoção de espalhamento;	- Menor Retenção  - Resíduos mais suscetíveis à redistribuição e remoção por água;	- Média: Resíduos mais facilmente removidos por chuva ou enxágue
Hidrofóbico: Não Iônico	- Maior na Folha	- Manteve maior afinidade com a superfície	- Maior Retenção - Resíduos fortemente aderidos à superfície foliar	- Baixa: Resíduos mais persistentes e resistentes à remoção aquosa

**Fonte:** O próprio autor.

Assim, pode-se concluir que os surfactantes hidrofílicos presente nas formulações de estudo aumentaram a suscetibilidade do inseticida à lavagem por água, enquanto surfactantes de caráter hidrofóbico promoveram maior adesão e persistência superficial. Essa distinção reforça a importância da escolha da formulação na avaliação do risco de exposição indireta e no desenvolvimento de estratégias de mitigação de resíduos.

Em sistemas agrícolas onde há maior acúmulo de palhada, como ocorre com frequência em cultivos de milho, a utilização de agrotóxicos com maior lavabilidade pode representar uma vantagem operacional. Nesses contextos, a facilidade de transporte do ativo pela água favorece a redistribuição do produto,

permitindo que ele alcance regiões da planta que oferecem melhores condições para sua ação biológica. Assim, a mobilidade promovida pelo escoamento pode contribuir para uma cobertura mais uniforme do dossel vegetal, especialmente quando a arquitetura da cultura ou a presença de resíduos vegetais dificultam a penetração direta da pulverização.

Por outro lado, em culturas como a soja, cuja superfície foliar e arquitetura são mais expostas e menos dependentes da redistribuição hidrológica, a elevada lavabilidade pode resultar em perdas significativas do ingrediente ativo. Nessas situações, a remoção do produto pela chuva ou pela irrigação reduz o tempo de permanência do agrotóxico na superfície foliar, diminuindo sua eficácia e exigindo, muitas vezes, reaplicações para compensar a menor retenção. Desse modo, características como resistência à lavagem e aderência tornam-se determinantes para o desempenho agrônomo do produto, especialmente quando se busca maximizar a eficiência do tratamento e reduzir desperdícios.

## 6 CONCLUSÃO

A validação demonstrou que o método desenvolvido apresenta robustez e confiabilidade na faixa de 26,0 a 926,0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , cumprindo integralmente os critérios estabelecidos por normas internacionais (SANTE/Eurachem) e nacionais (ANVISA/INMETRO). O método evidenciou adequada seletividade, confirmada pelos testes de correspondência do tempo de retenção, avaliação das intensidades relativas dos íons e verificação do efeito matriz. Mostrou-se sensível, conforme observado pelos valores de inclinação (slope) determinados em três níveis distintos da curva analítica abrangendo de 98,87 à 139,96  $\text{área}/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , e apresentou boa precisão, com RSD dentro da margem esperada.

Os limites de detecção e quantificação, de 15,00 e 26,00  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente, foram adequados ao propósito analítico, e a exatidão permaneceu dentro da faixa aceitável de recuperação. Ademais, a faixa de trabalho abrangeu com segurança as concentrações de interesse e os cálculos de incerteza reforçaram a confiabilidade dos resultados obtidos. Além disso, a avaliação da robustez, a qual evidenciou que pequenas variações, como a dureza da água utilizada no preparo das amostras — situações comuns em condições de campo — não comprometeram significativamente o desempenho do método.

Nos testes práticos com as formulações, foi possível observar diferenças no comportamento frente à lavagem: a formulação WG apresentou a maior fração removida em água (~20,70%), seguida da SC (~13,81%) e da EC (~7,49%). Esses achados evidenciam que cada formulação apresenta um perfil distinto de permanência na superfície foliar. Essa informação é de grande interesse para os agricultores, pois auxilia na escolha da formulação mais adequada conforme a necessidade prática: enquanto algumas apresentam maior solubilidade e suscetibilidade à remoção pela água, outras garantem maior aderência e persistência no tecido vegetal, influenciando diretamente a eficiência do tratamento e a relação custo-benefício no campo.

Em resumo, trata-se de um método que alia rigor científico e aplicabilidade prática, fornecendo resultados consistentes, robustos e relevantes para o contexto de uso.

## REFERÊNCIAS

- ABIOVE – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. **Moratória da soja**. São Paulo, 2023. Disponível: <https://abiove.org.br/sustentabilidade/moratoria-da-soja/>. Acesso em: 25 mar. 2026.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO/IEC 17025:2017 — Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro: ABNT, 2017.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 14029:2016, Agrotóxicos e afins – Validação de métodos analíticos**. 3ªed. Versão corrigida 2017.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **Agilent 5977 Series MSD Quick Reference Guide: Operation and Maintenance**. Wilmington, DE: Agilent Technologies, 2016.
- AGILENT TECHNOLOGIES. **OpenLab CDS**. Versão 2.6. Santa Clara, CA: Agilent Technologies, 2020.
- AGROADVANCE. **Subprodutos da soja: conheça os destinos e usos da soja**. 2023. Disponível em: <https://agroadvance.com.br>. Acesso em: 25 mar. 2026.
- ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Oil, Natural Gas and Biofuels Statistical Yearbook 2024**. Brasília: ANP, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/oil-natural-gas-and-biofuels-statistical-yearbook-2024>.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: ANVISA, 2003.
- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos**. Brasília: ANVISA, 2017.
- AZIZ, H. A.; MONIER, M. R. **Bioaugmentation and biostimulation of soil remediation: recent advances**. *Environmental Technology & Innovation*, [s. l.], v. 13, p. 264–276, 2019.
- BLOOMQUIST, J. R. **Mode of action of pyrethroid insecticides**. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 39, p. 275–279, 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Garantia da Qualidade Analítica: Resíduos e Contaminantes em Alimentos**. Brasília: MAPA, 2011.
- BUCHWEITZ, J.; MADER, D.; LEHNER, A. F. **Bifenthrin fatality in a canine: a case report with postmortem concentrations**. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 43, n. 1, p. e1–e6, jul. 2018.
- CHRISTIAN, G. D.; BRUNO, J. E. **Química analítica**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2025/26 – 1º levantamento**. Brasília, DF: Conab, 2025. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 25 mar. 2026.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Safra 2023/24 – nono levantamento, junho 2024**. Brasília, DF: Conab, 2024. v. 11, n. 9. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 27 set. 2025.

CEPEA. **Brasil concentra 55,8% das exportações globais de soja em 2025**. Disponível em: <https://agro.estadao.com.br>. Acesso em: 25 mar. 2026.

CORCELLAS, C.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D. **Primeiro relato de bioacumulação de piretróides em peixes selvagens de rio: um estudo de caso em bacias hidrográficas ibéricas (Espanha)**. *Environment International*, [s. l.], v. 75, p. 110–116, 2015.

DALL'AGNOL, A. **A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições**. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

DARAMOLA, O. S. et al. **Spray water quality and herbicide performance: a review**. *Weed Technology*, 2022.

EFSA. **Review of the existing maximum residue levels for bifenthrin**. *EFSA Journal*, v. 20, n. 5, p. 1–82, 2022.

FAO. **FAOSTAT – dados de comércio internacional de soja**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat>. Acesso em: 25 mar. 2026.

FAO; WHO. **International Code of Conduct on Pesticide Management: Guidelines on Good Practice for Ground Application of Pesticides**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization, 2016.

FAO. **International Code of Conduct on Pesticide Management: Guidelines on Highly Hazardous Pesticides**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018.

FAO; WHO. **International Code of Conduct on Pesticide Management: Guidelines on Good Practice for Ground Application of Pesticides**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization, 2016.

EMBRAPA. **Agrotóxicos no Brasil**. Disponível em: <https://www.embrapa.br>. Acesso em: 25 mar. 2026.

EMBRAPA. **Soja em dados**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agropensa/agro-em-dados/agricultura/soja>. Acesso em: 25 mar. 2026.

EUROPEAN COMMISSION. **SANTE/11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. Brussels, 2021.

EUROPEAN COMMISSION. **SANTE/11813/2017: Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. Brussels: Directorate-General for Health and Food Safety, 2017.

EUROPEAN COMMISSION. **SANTE/12682/2019: Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed.** Brussels: Directorate-General for Health and Food Safety, 2019.

EURACHEM. **The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics.** 2. ed. Eurachem Guide, 2014.

GARCÍA, M. D. et al. **Método multiresíduo para análise de vestígios de pesticidas em favos de cera de abelha por GC-QqQ-MS.** Talanta, [s. l.], v. 163, p. 54–64, 2017.

GRUBBS, F. E. **Sample criteria for testing outlying observations.** Annals of Mathematical Statistics, v. 21, n. 1, p. 27–58, 1950.

HAGEDORN, O. et al. **Surfactant-induced enhancement of droplet adhesion in superhydrophobic soybean (*Glycine max* L.) leaves.** Beilstein Journal of Nanotechnology, v. 8, p. 2345–2356, 2017.

HANAFI, A. et al. **Determination of bifenthrin residues in pea pods and leaves using QuEChERS and GC- $\mu$ ECD.** Journal of Pesticide Science, 2016.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa.** 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2019.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa.** 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.

HEALTH CANADA. **Proposed Maximum Residue Limit PMRL2021-18: Bifenthrin.** Ottawa, 2021.

HOLLOWAY, P. J. **Surface factors affecting the wetting of leaves.** *Pesticide Science*, 1993.

HORWITZ, W. **Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs.** Analytical Chemistry, Washington, v. 54, n. 1, p. 67A-76A, 1982.

IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos: dados de 2024.** Brasília, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama>. Acesso em: 25 mar. 2026.

IBAMA. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos.** Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama>. Acesso em: 25 mar. 2026.

IBGE. **Produção agrícola municipal.** Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 25 mar. 2026.

ICH. **Validation of Analytical Procedures Q2(R2).** International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, 2023.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOQ-CGCRE-008: 2020 — Expressão da incerteza de medição.** Rio de Janeiro: INMETRO, 2020. 29 p.

INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **DOQ-CGCRE-008: 2020 — Orientações sobre validação de métodos analíticos.** Revisão 09. Duque de Caxias, 2020. 30p.

IOWA STATE UNIVERSITY. **Water quality and pesticide performance**. Ames: Iowa State University Extension and Outreach, 2023. Disponível em: <https://crops.extension.iastate.edu/post/water-quality-and-pesticide-performance>. Acesso em: 25 mar. 2026.

ISO 5725-2:1994 — **Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method**. Geneva: ISO, 1994.

JCGM – Joint Committee for Guides in Metrology. Evaluation of measurement data — **Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM 1995 with minor corrections)**. JCGM 100:2008. First edition, September 2008. Sèvres: BIPM, 2008.

KAMIKOGA, A. T. M. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

KIRKWOOD, R. C. **Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides**. Pesticide Science, 1999.

KUMAR, A.; SHARMA, S. **Plant–microbe interaction strategies in pesticide remediation**. Environmental Sustainability, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 91–100, 2022.

KUMAR, V. et al. **Biodegradation of synthetic pyrethroids in the environment: a review**. Environmental Research, [s. l.], v. 165, p. 215–229, 2018.

LI, H. et al. **Biostimulation for pyrethroid-contaminated soil using organic amendments**. Chemosphere, [s. l.], v. 230, p. 389–396, 2019.

LIU, Y. et al. **Dissipation and residue behavior of bifenthrin in soybean leaves**. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020.

MICROSOFT CORPORATION. **Microsoft Excel**. Versão 365. Redmond: Microsoft Corporation, 2023.

MUELLER, J. F. et al. **Pyrethroid insecticides: analytical methods and environmental behavior**. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2008.

MULROONEY, J. E.; ELMORE, C. D. **Rainfastening of Bifenthrin to Cotton Leaves with Selected Adjuvants**. Journal of Environmental Quality, v. 29, n. 6, p. 1863–1866, nov./dez. 2000.

MUKHERJEE, I.; SINGH, R.; GOVIL, J. N. **Risk assessment of a synthetic pyrethroid, bifenthrin on pulses**. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, New York, v. 84, p. 294-300, 2010.

NIST. **NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library**. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, 2020.

NPIC. **Bifenthrin General Fact Sheet**. National Pesticide Information Center, 2010. Disponível em: <http://npic.orst.edu>. Acesso em: 25 mar. 2026.

OECD. **Innovation, Agricultural Productivity and Sustainability in Brazil**. Paris: OECD Publishing, 2020.

- POOLE, C. F. **Chromatography today**. Amsterdam: Elsevier, 2004.
- REIS, E. M.; KIMATI, H. **Cultivo de folhas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) destacadas, para testes fitopatológicos**. In: REUNIÃO CONJUNTA DE PESQUISA, 1974, Porto Alegre. Anais [...]. Porto Alegre: [s. n.], 1974. p. 140.
- SINGH, N. et al. **Phytoextraction of pesticide residues from soil using high biomass producing plants**. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, [s. l.], v. 189, p. 178–185, 2020.
- SODERLUND, D. M.; BLOOMQUIST, J. R. **Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides**. *Annual Review of Entomology*, v. 34, p. 77–96, 1989.
- SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de química analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.
- RAMOS, L. A. S. et al. **Papel das certificações ambientais na agricultura brasileira**. *Research, Society and Development*, 2022. Disponível em: <https://journalppc.com/RPPC/article/view/675>. Acesso em: 25 mar. 2026.
- TEIXEIRA, L. S. et al. **Determination of pesticide residues in green tea leaves by GC-MS**. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2025.
- TOLOI, M. N. V.; BONILLA, S. H.; TOLOI, R. C.; NÄÄS, I. de A. **Potential for carbon sequestration in different biomes and CO<sub>2</sub> emissions in soybean crop**. *Environment, Development and Sustainability*, Dordrecht, v. 26, p. 3331-3347, 2024.
- VIEIRA FILHO, J. E. R. **A produção de soja e sua importância na economia brasileira**. 2024.
- WANG, C. J.; LIU, Z. Q. Foliar uptake of pesticides—present status and future challenge. ***Pesticide Biochemistry and Physiology***, 2007.
- WARE, G. W.; WHITACRE, D. M. **The Pesticide Book**. 6. ed. Willoughby: Meister Media Worldwide, 2004.
- YANG, J. et al. **Characterization of a pyrethroid-degrading *Pseudomonas fulva* strain P31 and biochemical degradation pathway of D-phenothrin**. *Frontiers in Microbiology*, [s. l.], v. 9, p. 1003, 2018.
- YARWOOD, C. E. **Detached leaf culture**. *The Botanical Review*, Lancaster, v. 12, n. 1, p. 1-56, 1946.
- ZHANG, X. et al. **Field dissipation and residue behavior of bifenthrin in soybean crops**. *Chemosphere*, 2019.
- ZHANG, Y. et al. **Biodegradation pathways and mechanisms of bifenthrin by newly isolated *Pseudomonas* sp.** *Journal of Hazardous Materials*, [s. l.], v. 403, p. 542–550, 2021.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – TUNE AUTOMÁTICO

O relatório de avaliação do Auto Tune do espectrômetro de massas modelo 5977 demonstrou que os íons de referência m/z 69, 219 e 502 apresentaram posições de 69,00; 219,00; e 502,00, respectivamente, confirmando o adequado alinhamento do eixo de massas (Tabela A1).

**Tabela A1** – Avaliação do Tune: posição dos íons de referência

Parâmetro	Valor	Status
Posição da massa 69 (68,80 - 69,20)	69	OK
Posição da massa 219 (218,80 - 219,20)	219	OK
Posição da massa 502 (501,80 - 502,20)	502	OK

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

As razões isotópicas permaneceram dentro dos limites de aceitação, com 70/69 em 1,12% (faixa de 0,5–1,6%), 220/219 em 4,39% (faixa de 2,3–5,4%) e 503/502 em 10,00% (faixa de 7,9–12,3%), evidenciando a estabilidade do sistema (Tabela A2).

**Tabela A2** – Avaliação do Tune – Razões Isotópicas

Parâmetro	Valor	Status
Razão da massa 70 para a massa 69 (0,5 - 1,6%)	1,12	OK
Razão da massa 220 para a massa 219 (3,2 - 5,4%)	4,39	OK
Razão da massa 503 para a massa 502 (7,9 - 12,3%)	10	OK

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

Os critérios de intensidade relativa (Tabela A3) também foram atendidos, com a razão 219/69 em 79,44% (mínimo exigido  $\geq 40\%$ ) e a razão 502/69 em 5,61% (máximo aceitável  $\leq 12\%$ ).

**Tabela A3** – Avaliação do Tune – Intensidade Relativa

Parâmetro	Valor	Status
A razão entre 219 e 69 deve ser $\geq 40\%$	79,44	OK
Taxa de 502 a 69 deve ser $\geq 2,4\%$	5,61	OK

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

A variação relativa de precursores foi mínima, com 69 em 0,09%, 219 em 0,07% e 502 em 0,06%, valores muito abaixo dos limites críticos (Tabela A4).

**Tabela A4** – Avaliação do Tune – Precursores

Parâmetro	Valor	Status
Massa 69 Percursor ( $\leq 3\%$ )	0,09	OK
Massa 219 Percursor ( $\leq 6\%$ )	0,07	OK
Massa 502 Percursor ( $\leq 12\%$ )	0,06	OK

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

A verificação de vazamento do sistema demonstrou conformidade, com razão de H<sub>2</sub>O em 0,7% ( $\leq 20\%$ ), razão de N<sub>2</sub> em 0,5% ( $\leq 10\%$ ) e tensão do multiplicador de elétrons em 1081 V, bem abaixo do limite de 2900 V (Tabela A5).

**Tabela A5** – Avaliação do Tune – Vazamentos e Tensão

Parâmetro	Valor	Status
Razão do H <sub>2</sub> O ( $\leq 20\%$ )	0,7	OK
Razão do N <sub>2</sub> ( $\leq 10\%$ )	0,5	OK
Tensão da Eletro multiplicadora ( $\leq 2900$ )	1081	OK

**Fonte:** Software Agilent OpenLab CDS.

O nível de vácuo registrado foi de  $1,58 \times 10^{-5}$  torr, compatível com operação estável e segura.

De forma geral, os resultados confirmam que o equipamento esteve devidamente calibrado, sem desvios significativos nos parâmetros de massa, intensidade relativa ou razão isotópica. A estabilidade observada assegura que o espectrômetro de massas operava em condições ideais para análises quantitativas e qualitativas, garantindo a confiabilidade das determinações subsequentes.