Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

ARTICLE ORIGINAL

MAZZEI, João Roberto Fortes ^[1], FREIRE, Estevão ^[2], SERRA, Eduardo Gonçalves ^[3], MACEDO, José Ronaldo de ^[4], OLIVEIRA, Angélica Castanheira de ^[5], BASTOS, Lucia Helena Pinto ^[6], CARDOSO, Maria Helena Wohlers Morelli ^[7]

MAZZEI, João Roberto Fortes. Et al. Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse. Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Année 06, éd.01, vol. 08, p. 34-67. Janvier 2021. ISSN: 2448-0959, Lien d'accès :

<https://www.nucleodoconhecimento.com.br/ingenierie-de-lenvironnement-fr/methode-multi-residus>

Contents

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

- ABSTRAIT
- INTRODUCTION
- CONTAMINATION DES SOLS PAR AGROTOXIQUE
- PESTICIDES ET CULTURE DE LA TOMATE
- DESTINATION DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT
- DÉVELOPPEMENT
- MÉTHODOLOGIE - LIEUX, HYPOTHÈSES ET ÉTAPES DE TRAVAIL
- LOCAUX
- HYPOTHÈSES
- ÉTAPES DE TRAVAIL
- PESTICIDES SÉLECTIONNÉS POUR L'ÉTUDE
- LA MÉTHODE D'EXTRACTION (QUECHERS)
- ENQUÊTE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MÉTHODE QUECHERS ALLIÉE À LA CHROMATOGRAPHIE POUR LA DÉTERMINATION DES PESTICIDES - ÉVOLUTION CHRONOLOGIQUE
- CHOIX DES ÉCHANTILLONS POUR L'ÉTAPE DE VALIDATION
- RÉACTIFS, SOLVANTS ET GAZ
- EQUIPEMENTS
- OPTIMISATION DE LA MÉTHODE - CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES ET SPECTROMÈTRES DE MASSE
- NORMES ANALYTIQUES
- VALIDATION DE LA MÉTHODE
- DÉTERMINATION DU SOL DE RÉFÉRENCE BLANC
- TRAITEMENT 01
- TRAITEMENT 02
- TESTS DE FORTIFICATION POUR ÉVALUER LA PRÉCISION DE LA MÉTHODE
- OPTIMISATION DE LA MÉTHODE
- PRÉCISION (TAUX DE RÉCUPÉRATION) ET PRÉCISION (RÉPÉTIBILITÉ)
- CONSIDÉRATIONS FINALES
- RÉFÉRENCES
- ANNEXE - RÉFÉRENCES DE BAS DE PAGE

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

ABSTRAIT

Dans ce travail, une méthode analytique pour la détermination des résidus pour le foyer pesticides a été optimisée: Azoxystrobin, Boscalide, Carbendazim, Chloranthranilprole, Clothianidin, Diafentiuron, Difenoconazole, Dimetomorfe, Espinectoram, Espinosade A, Espinosade D, Fenurox, Metalaxfen Meth, Thiamétoxane dans le sol issu de la plantation de tomates, afin de comparer les niveaux de contamination de ces composés dans les échantillons de sol. La méthode d'extraction QuEChERS modifiée et la Chromatographie Liquide Ultra Performance couplée à la Spectrométrie de Masse Séquentielle ont été utilisées, avec une source d'ionisation par Electronébulisation en mode ESI (+/-). La méthode consistait à extraire 15,0 g de sol avec 15 ml de solution saturée d'hydroxyde de calcium pH 12,3 et 15 ml d'acétonitrile, avec une partition conséquente dans l'effet de «relargage» à travers 6,0 g de sulfate de magnésium anhydre et 1,5 g de chlorure de sodium. Les phases ont été séparées par centrifugation à 3700 tr / min pendant 7 min. Les extraits ont été dilués avec du MeOH licrossolv® grade et injectés dans un chromatographe. La méthode a été validée sur la base des paramètres de linéarité, LOD, LOQ, précision et exactitude. Linéarité entre 0,2 et 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, coefficients de détermination supérieurs à 0,99. Les valeurs de LQ pour la méthode étaient de 13 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour le Spinosad et de 7,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ pour les autres pesticides. La méthode a montré une bonne précision, avec des valeurs RSD <20%, et une exactitude, avec des récupérations comprises entre 70 et 120% pour la grande majorité des composés analysés. Les courbes analytiques ont été préparées avec des extraits de sol blanc de référence, afin de minimiser l'effet de matrice. La méthode a été jugée appropriée pour l'analyse des résidus de pesticides dans le sol, car elle satisfait aux paramètres de validation des méthodes chromatographiques (Commission européenne, 2018). Après validation, la méthode a été utilisée pour analyser les résidus de ces pesticides dans des échantillons de sol provenant de plantations de tomates conventionnelles, biologiques et durables. Permettant de comparer les niveaux d'impacts environnementaux générés. En plus de valider la méthode analytique pour les pesticides de l'étude, il a également été possible de valider 240 autres composés, entre une utilisation autorisée et non autorisée dans la plantation de tomates.

Mots clés: Contaminants dans les sols, résidus de pesticides, QuEChERS, UPLC-MS / MS.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

INTRODUCTION

La culture de la tomate est sensible à l'apparition d'insectes ravageurs et de maladies. Les données de la recherche de Carvalho (2017) indiquent que la culture de la tomate est vulnérable à l'attaque de maladies causées par des insectes ravageurs, à savoir la mouche blanche (*Bemisia*), l'un des principaux ravageurs qui affectent les tomates. *Bemisia argentifolii* et *Bemisia tabaci*, sont les deux principales espèces d'aleurodes responsables de dommages à la culture du fruit. Dans le travail de l'auteur, les producteurs de tomates de la municipalité de Cambuci (Rio de Janeiro) ont été interrogés, dans lesquels il a été observé qu'environ 60% des planteurs effectuent jusqu'à deux applications de pesticides par semaine. Dans 2% des cas, les planteurs ont décrit que, selon la situation, par exemple: si des maladies surviennent ou si le temps est pluvieux, il faut un plus grand nombre d'applications, qui peuvent atteindre trois fois par semaine.

Morphologiquement, il n'y a pas de différence entre les deux espèces. Cependant, le premier est plus agressif, car en plus d'être plus résistant aux conditions environnementales défavorables et à certains pesticides conventionnels, il a un taux de reproduction plus élevé, affecte un plus grand nombre de plantes hôtes et parvient à compléter son cycle de vie complet dans la tomate. Pour cette raison, il est nécessaire d'utiliser divers pesticides pour lutter contre ces ravageurs et d'autres qui affectent les plantations de tomates (ESALQ, 2017).

Dans ce travail, il a été décidé d'utiliser la terminologie guidée par la législation brésilienne – les pesticides – considérant que ce terme, bien qu'il ne couvre pas en substance tous les produits utilisés, englobe le plus grand nombre d'attributs nécessaires pour décrire les substances qui composent cet univers et ajoute plus de transparence et d'éthique pour le lecteur, l'utilisateur et le consommateur des produits dans lesquels de tels composés sont utilisés (SOBER, 2018).

Selon la revue de la législation brésilienne sur les pesticides publiée le 28/06/2018 (MAPA, 2018):

Le terme pesticide n'est utilisé par aucun autre pays ou organisation internationale traitant du sujet. La Commission du Codex Alimentarius,

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

l'organisation internationale de référence pour l'alimentation dans le cadre de l'Accord de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires, utilise le terme anglais et français «agrotoxic» et l'espagnol «plaguicida». Ainsi, il est nécessaire de changer le terme pesticide en pesticide, afin d'aligner la législation brésilienne sur les pratiques internationales.

La tomate a été choisie comme objet de cette étude en raison de ses caractéristiques spécifiques, c'est-à-dire que les plantations telles que la tomate (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill), nécessitent une attention fréquente concernant l'infestation de ravageurs et de mauvaises herbes, ce qui implique la nécessité d'appliquer pesticides avec une grande fréquence.

Au contact du sol, les pesticides sont soumis à des processus physico-chimiques qui aggravent leur action dans l'environnement. En raison de la nécessité d'une utilisation rationnelle des intrants agricoles pour minimiser les impacts environnementaux de l'agriculture, de nombreuses études ont été menées dans le but de comprendre le comportement de ces produits dans le sol. Cependant, on sait peu de choses sur le comportement de ces pesticides dans les sols tropicaux.

CONTAMINATION DES SOLS PAR AGROTOXIQUE

Selon les études d'Azevedo (2018), même avec un meilleur contrôle de l'application des pesticides, le sol est la destination finale des produits chimiques utilisés en agriculture, qu'ils soient appliqués directement sur le sol, sur la partie aérienne des plantes ou même aux fruits mis en sac. Au contact du sol, les pesticides et herbicides sont soumis à des processus physico-chimiques qui augmentent leur action dans l'environnement. Selon l'auteur, en raison de la nécessité d'une utilisation rationnelle des intrants agricoles pour minimiser les impacts environnementaux de l'agriculture, de nombreuses études ont été menées dans le but de comprendre le comportement de ces produits dans le sol.

Le sol agit comme un filtre, retenant de nombreuses impuretés qui y sont déversées. De cette manière, sa qualité peut être altérée par l'accumulation de polluants atmosphériques,

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

l'utilisation de pesticides / engrais, de déchets solides, de matières toxiques voire radioactives. Lorsque le polluant atteint la surface du sol, il peut être adsorbé; portées par le vent ou les eaux de ruissellement, voire lessivées par les eaux d'infiltration, atteignant les horizons inférieurs et atteignant la nappe phréatique. Une fois les eaux souterraines atteintes, ces contaminants peuvent être transportés vers d'autres régions (CETESB, 2020).

La disposition CONAMA (2009) informe que les propriétés chimiques du sol, telles que le pH, la teneur en éléments nutritifs, la capacité d'échange d'ions, la conductivité électrique et la matière organique, ainsi que les activités biologiques, sont responsables de l'adsorption, de la fixation chimique, de l'oxydation et de la neutralisation de ces substances. polluants.

PESTICIDES ET CULTURE DE LA TOMATE

La tomate est un fruit originaire d'Amérique du Sud Les données historiques indiquent que depuis plus de 100 ans, la tomate était déjà cultivée par les Incas et les Aztèques dans les hautes régions du Pérou et du Mexique. Les premiers pays à cultiver le produit ont été le Pérou, le Mexique, la Bolivie, l'Équateur et le Chili, selon (CURRENCE, 2013). Les plus grands producteurs mondiaux de tomates sont aujourd'hui: la Chine, le Brésil, les États-Unis, l'Inde, la Turquie, l'Égypte, l'Italie, l'Iran, l'Espagne et le Mexique, selon le rapport FAOSTAT (2018).

Les données de l'IBGE (EPAG, 2019) montrent que le Brésil a produit 4.084.910 tonnes en 2018 et qu'en janvier 2019, la production était de 4.333.609 tonnes de fruits. Les régions les plus productives en 2018 étaient: le sud-est avec 1689558 tonnes (São Paulo en a produit 811100 tonnes) et le centre-ouest avec 1369014 tonnes (Goiás en a produit 1334500 tonnes).

Pour Junior (2019), il n'y a pas de tomate résistante à la plupart des ravageurs et maladies. Pour cette raison, le moyen le plus courant de contrôler ces infestations reste l'application de fongicides et d'insecticides, ce qui entraîne un risque de contamination des travailleurs impliqués, des résidus de pesticides dans les fruits, des impacts sur l'environnement et des coûts plus élevés.

Au Brésil, les références ANVISA (2018) autorisent environ 500 principes actifs pour l'agriculture, le nettoyage domestique, les usages non agricoles, les milieux aquatiques et les

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

produits de préservation du bois. Sur cette quantité, 119 pesticides sont autorisés à être appliqués dans les plantations de tomates. Le même ingrédient actif peut être commercialisé sous l'étiquetage de nombreuses formulations et noms commerciaux, et un mélange contenant plus d'un ingrédient dans le même produit est courant.

Carvalho (2017), dans ses recherches, mentionne que les pesticides sont utilisés dans la plantation de tomates dans le but de lutter principalement contre la mouche blanche, les champignons du mildiou [8], la tige creuse, le flétrissement bactérien, la mineuse des feuilles, le gros foreur des fruits, la tache noire, tache bactérienne et petit foreur des fruits. Selon cette recherche, afin de lutter contre ces ravageurs et maladies, plusieurs applications de pesticides sont nécessaires. L'auteur mentionne que les producteurs ont fait référence à 53 marques commerciales différentes et à une moyenne de 12 types de pesticides par culture. Les insecticides et les fongicides sont les produits les plus utilisés par l'agriculteur pour planter des tomates, en raison d'une maladie appelée mildiou, selon cette recherche.

DESTINATION DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

L'utilisation de pesticides dans la culture conventionnelle de la tomate soulève des préoccupations constantes en raison des dommages causés à l'environnement, en particulier dans les environnements biotiques et abiotiques. De plus, un certain nombre d'effets sont observés chez les agents de terrain: faiblesse, nausées, étourdissements, cancers, lésions hépatiques, allergies, entre autres. Ainsi, il est très important d'analyser les fruits, le sol et l'eau à des fins de quantification pour vérifier s'ils sont dans les limites maximales de résidus (LMR^[9]) autorisées par Anvisa, selon (RIBAS et MATSUMURA, 2009).

DÉVELOPPEMENT

MÉTHODOLOGIE - LIEUX, HYPOTHÈSES ET ÉTAPES DE TRAVAIL

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

LOCAUX

Ce travail a commencé à partir des prémisses suivantes:

- Il n'y a pas de tomate résistante à la plupart des ravageurs et des maladies;
- Le sol est la destination finale d'une grande partie des résidus de l'application des pesticides dans les méthodes de plantation dans lesquelles ils sont appliqués;
- Il y a probablement une contamination du sol par l'application de pesticides dans les plantations agricoles qui peuvent générer des impacts environnementaux dans les environnements biotiques et abiotiques;

HYPOTHÈSES

- Les pesticides utilisés dans l'agriculture brésilienne ne sont pas respectueux de l'environnement en ce qui concerne la contamination des fruits et du sol;
- La plantation conventionnelle avec une utilisation intensive de pesticides peut ne pas être respectueuse de l'environnement;
- Il y a une lacune dans l'agriculture, qui est l'absence d'une méthode validée et fiable pour déterminer et quantifier les pesticides dans le sol, selon les limites maximales de résidus (LMR) spécifiées par Anvisa;
- Il est possible d'utiliser des pesticides pour la plantation et de conserver les fruits à des niveaux de concentration qui répondent aux exigences de la législation en vigueur dans le pays;

La connaissance des résidus et des contaminants dans le sol est importante pour le développement d'actions visant à améliorer la manipulation et le contrôle dans la production agricole afin de réduire ces contaminants.

ÉTAPES DE TRAVAIL

a) Mener des recherches: application d'un questionnaire composé de réponses ouvertes et de choix multiples. Cette recherche a été appliquée aux planteurs dans les zones où les échantillons seraient prélevés et a permis de recenser les principaux produits utilisés dans leurs plantations. Ces pesticides ont été identifiés comme «Pesticides-Focus» du travail.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

- b) Collecte d'échantillons de sol dans les zones de trois types de culture: conventionnelle; biologique et durable;
- c) Prélèvement d'échantillons de référence à blanc - Échantillons de sols n'ayant subi aucun traitement avec les pesticides d'intérêt dans ce travail;
- d) Caractérisation du sol en termes de texture, fertilité et composition chimique - Etape réalisée en partenariat dans les laboratoires EMBRAPA SOLOS-RJ;
- e) Préparation des échantillons pour l'extraction - les échantillons doivent avoir une granulométrie de 30 mailles (terre fine), adaptée à l'extraction chimique - étape réalisée dans les laboratoires EMBRAPA SOLOS-RJ;
- f) Analyse d'échantillons de sol réels collectés sur le terrain.

Cette étape était divisée en:

- Caractérisation des sols - Réalisée aux Laboratoires EMBRAPA SOLOS;
 - Dosage de la matière organique - Etape réalisée aux Laboratoires EMBRAPA SOLOS;
 - Analyse chimique pour déterminer les micronutriments du sol - Étape réalisée au laboratoire FERTIMOVEL (EMBRAPA SOLOS);
 - Extraction, nettoyage, adéquation et optimisation de la méthode QuEChERS pour la détermination des résidus de pesticides dans les échantillons de sol, par chromatographie liquide ultra-résolution couplée à la spectrométrie de masse séquentielle - Etape réalisée dans les laboratoires INCQS - FIOCRUZ.
- g) Calculs, évaluation statistique et représentation graphique des résultats obtenus.

PESTICIDES SÉLECTIONNÉS POUR L'ÉTUDE

Dans les recherches menées auprès des planteurs, il a été observé que les principaux produits utilisés dans leurs plantations étaient: l'abamectine, l'acibenzolar-S-méthyle, l'azoxystrobine, la ciromazine, le diafentiuron, le mandipropamida, la pimetrozina, le tiamétozan. Ainsi, il a été décidé d'adapter la méthode analytique, dans un premier temps, pour la détermination des résidus de ces «pesticides-focus» dans les sols issus de la culture

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

de la tomate. La recherche a été menée auprès de planteurs de la région fluminense du nord (Rio de Janeiro), un grand producteur de tomates réparti entre les trois systèmes de culture étudiés dans ce travail (conventionnel, biologique et durable).

LA MÉTHODE D'EXTRACTION (QUECHERS)

La méthode d'extraction QuEChERS (de l'anglais *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged et Safe*) étudiée et apportée à la communauté scientifique par ANASTASSIADES et al. (2003), vise à éliminer les limites pratiques des méthodes d'extraction multi-déchets qui existaient jusqu'alors. La méthode a pour principaux différentiels, le fait qu'il s'agit d'une méthode rapide, simple, économique, efficace, robuste et sûre, comme l'abréviation du nom QuEChERS. Diéz et al. (2006) soulignent que cette méthode a été développée pour des échantillons contenant plus de 75% d'eau.

ENQUÊTE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MÉTHODE QUECHERS ALLIÉE À LA CHROMATOGRAPHIE POUR LA DÉTERMINATION DES PESTICIDES - ÉVOLUTION CHRONOLOGIQUE

Lesueur et al. (2008) ont étudié les modifications apportées à QuEChERS dans l'analyse de 105 pesticides par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse (CG-EM) et 46 pesticides par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse séquentielle (CLUE-EM / EM) après extraction par la méthode QuEChERS en quatre matrices (raisin, citron, oignon et tomate).

Drożdżyński et al. (2009) ont étudié 3 insecticides écologiques (azadiractine, spinosad et roténone) dans des échantillons de sol, de chou et de tomate en utilisant la méthode QuEChERS modifiée, avec une détermination ultérieure des niveaux par CLUE-EM / EM.

Chen et al. (2010) ont effectué une modification de la méthode QuEChERS pour déterminer la procymidone dans des échantillons de sol et de poireau, complétant le travail par quantification par GC-MS.

Rashid et al. (2010) ont analysé 19 pesticides du groupe des organochlorés dans les sols, en

Métode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

appliquant une méthode QuEChERS modifiée et assainissante consistant en un partage liquide-liquide avec du n-hexane. La procédure a été validée pour le dosage de 19 pesticides organochlorés, hexachlorobenzène (HCB), α -HCH, β -HCH, γ -HCH, heptachlore, heptachlor époxyde (trans), aldrine, dieldrine, chlordane (trans), chlordane (cis), oxychlordane, α -endosulfan, β -endosulfan, sulfate d'endosulfan, endrine, p, p'-DDT, o, p'-DDT, p, p'-DDD ep, p'-DDE.

Shi et al. (2010) ont proposé une méthode QuEChERS modifiée pour l'analyse des résidus d'oxadiargyl dans les échantillons de sol, d'eau, de riz et de paille de riz, avec quantification par GC-ECD.

Pinto et al., (2010) ont recherché une version encore plus simplifiée de la méthode QuEChERS afin d'analyser trois composés organochlorés (hexachlorobenzène; 1,2-dichlorobenzène et chloroforme) dans des échantillons de sol, puis quantifiés par GC- μ ECD. Dans le travail, les auteurs ont utilisé trois types de sols différents: la terre de jardin, avec un degré élevé de matière organique; un Vertisol, à forte teneur en argile; et un matériau sédimentaire de référence certifié (sol argileux).

Martins (2010) a utilisé la méthode QuEChERS – détermination des résidus de pesticides dans le sol de riz irrigué, en utilisant des quechers modifiés avec une solution saturée d'histodroxyde de calcium et LC-MS / MS pour la détermination des résidus de Clomazona, Fipronil, Imazapique, Imazetapyr, Propiconazole, Thiamétozam et trifloxystrobine.

Ramos et al. (2010) ont développé une méthode QuEChERS modifiée pour la détermination de 11 pesticides dans trois types de sols (forestiers, ornementaux et agricoles). Une version modifiée de la méthode QuEChERS a été développée pour le dosage des pesticides organophosphorés (étoprofos, dimétoate, diazinon, malaoxon, chlorpyrifos-méthyl, fénitron, malation, chlorpyrifos, fénamiphos et fosmet) et un pesticide de la classe des thiadiazines (buprofézine) les niveaux par GC-NPD.

Drożdżyński et al. (2011), ont déterminé 160 pesticides dans les vins par extraction en phase solide dispersée en mode mixte et CG-EM.

Costa (2012) realizou estudo do método QuEChERS para determinação multirresíduo de

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

agrotóxicos em pêssego em calda. Os LOQs dos agrotóxicos neste estudo variaram entre 1,0 e 10,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e baseou-se na curva para monitorar o desempenho do método e a linearidade. Segundo o autor, as curvas analíticas apresentaram valores de r maiores que 0,99; com valores de recuperação para o pêssego em calda drenado entre 83,4 a 120,4% com RSD inferiores a 14,9% para a maioria dos analitos, e de 68,6 a 124,6% com RSD inferiores a 19,8%.

Estudos de Tsipi et al., (2015) abordam a quantificação de resíduos dos metabólitos de 2,4-D, por cromatografias líquida e gasosa acopladas ao espectrômetro de massas.

Ramos et al. (2016) citam que o método QuEChERS foi utilizado apenas 8 vezes na extração de agrotóxicos em solos, e que na maioria dos casos, foi aplicada a cromatografia gasosa com detecção por Espectrometria de Massas (CG-EM), exceto em três casos, onde foram aplicados cromatografia gasosa com detectores por Captura de Elétrons (CG-DCE); Nitrogênio e Fósforo (CG-DNF) e Micro Detecção por Captura de Elétrons (CG-D μ CE).

Dong et al. (2017) determinaram resíduos de metaflumizona em amostras de solo e repolho, aplicando o método QuEChERS. Os autores relatam que foram obtidos valores de recuperação entre 77,6 e 87,9% para metaflumizona em solos e repolho, com desvio padrão relativo (RSD) de 3,5 e 7,9%. Os valores de LOD e LOQ do método para as mesmas amostras foram de 0,001 mg.kg^{-1} e 0,004 mg.kg^{-1} respectivamente.

Segundo Iglesias (2016), o processo de acoplamento da Cromatografia Líquida à Espectrometria de Massas ocorreu muito lentamente, em função da incompatibilidade entre as altas vazões utilizadas peça HPLC que tornava difícil o carregamento do eluente da coluna cromatográfica diretamente para o interior da fonte do espectrômetro, que funciona em alto vácuo. Resolvidas essas dificuldades, a Cromatografia Líquida com interface de acoplamento à Espectrometria de Massas (LC-MS) tem se difundido cada vez mais como uma excelente técnica para determinação de resíduos de analitos diversos.

Ogihara (2018), empregou o método QuEChERS e a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em solo. Em seu trabalho foram avaliadas as três versões do método QuEChERS, "Original", tampão "Acetato" e tampão "Citrato", na ausência e na presença da etapa clean

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

up na extração de agrotóxicos do solo e a UHPLC-MS/MS com adição de padrão interno de Trifenilfosfato na quantificação e confirmação dos mesmos. O método desenvolvido teve por objetivo correlacionar determinadas propriedades físico-químicas de 20 agrotóxicos selecionados pela autora com seus respectivos tempos de dissipação dos mesmos no ambiente em presença e ausência de luz.

Todas essas pesquisas acabaram por resultar na conclusão de que os métodos clássicos para a determinação de agrotóxicos em solos não apresentam boa relação custo-benefício, pois são procedimentos que exigem muitos passos, geralmente, baseados na extração exaustiva da matriz, com etapas posteriores de *clean-up* para a remoção dos materiais co-extraídos, antes da análise instrumental.

CHOIX DES ÉCHANTILLONS POUR L'ÉTAPE DE VALIDATION

Les échantillons utilisés pour l'étape de validation étaient ceux provenant de sols blancs n'ayant subi aucun traitement aux pesticides avant et pendant la plantation. Après la détermination chromatographique, ces échantillons étaient exempts de pesticides, ne montrant aucun signal chromatographique à des temps de rétention similaires à ceux des composés présentant un intérêt analytique.

Le sol utilisé dans les études a été classé comme Eutrophic Arenic Hydromorphic Planossolo, appartenant à l'unité de cartographie de la municipalité de Tanguá, dans la municipalité de Rio de Janeiro. La région présente un relief plat à légèrement ondulé avec un substrat de sédiments alluviaux récents.

Les propriétés physiques et chimiques de ce sol sont: pH eau (1: 1) = 4,8; P = 6,0 mg L⁻¹; K = 120 mg L⁻¹; argile = 26%; M.O. = 2,3%; Ca = 5,0 cmolc L⁻¹; Mg = 2,0 cmol de L⁻¹; Al = 1,7 cmolc L⁻¹ et indice SMP 5,1

RÉACTIFS, SOLVANTS ET GAZ

Acétone P.A.; Acétonitrile - UHPLC; Sulfate de magnésium anhydre; Chlorure de sodium P.A.; PSA - UHPLC; Eau distillée; Eau ultrapure, purifiée dans le système Milli-Q-Plus; Air

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

synthétique pur à 99,9%; C18 - Cartouches pour SPE; Chlorure de sodium; Dichlorométhane - Ultra Resi-analysé; Ethanol-UV-IR-HPLC; Extran neutre; ace argon, analytique, utilisé comme gaz de collision dans le système CLUE-MS / MS; Azote gazeux, utilisé comme gaz de désolvatation dans la source *electrospray*; Méthanol - UV-IR-HPLC; Sorbant Bondesil PSA, avec une granulométrie de 50 μm ;

EQUIPEMENTS

Marconi Shaker modèle M227; Serre Fanem modèle F 330; Agitateur Vortex IKA Modèle MS 3 Digital; Balance analytique de précision; Metler Toledo; Modèle XP205; numéro de série B018030980; Balance analytique de précision; SARTORIUS Modèle SARTORIUS - numéro de série 71205517; Centrifuger; Eppendorf, modèle 5810R; Micropipetiseurs automatiques Eppendorf à capacité variable; pH-mètre Metler Toledo S 220; Système de purification d'eau Milli-Q fabriqué par MilliPore; Chromatographe liquide Waters Acquity Ultraperformance LC; Spectromètre de masse séquentiel quatre Premier modèle XE.

OPTIMISATION DE LA MÉTHODE - CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES ET SPECTROMÈTRES DE MASSE

L'analyse a été réalisée en utilisant un système Acquity UPLC® couplé à Quattro Premier XE® (Waters Corp., Ma, USA).

Système Acquity UPLC® composé d'une pompe binaire, d'un échantillonneur automatique et d'un four à colonne.

Une séparation chromatographique a été réalisée sur la colonne Waters Acquity BEH UPLC® C18 (100 x 2,1 mm DI, 1,7 μm). Compositions de la phase mobile A (format ammonium 5 mM + acide formique 0,01%, pH 4,00) et de la phase mobile B (acétonitrile: phase mobile A, 95: 5), gradient: 0-1 min (10% B); 1 à 5,5 min (55% B); 5,5 à 10,5 min (100% B); 12 min (10% B). Le débit utilisé était de 0,3 mL min⁻¹, la température du four de la colonne était de 30 ° C, la température de l'échantillonneur automatique était de 25 ° C. L'injecteur a été ajusté pour une injection en boucle complète de 10 μL et le temps d'exécution total était de 12 min.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Le spectromètre de masse Quattro Premier XE® fonctionnait avec une source d'ionisation électrospray en mode positif (ESI +). Les paramètres opérationnels ont été ajustés pour les conditions suivantes: tension capillaire: 3,5 kV; température de la source d'ions: 120 ° C, température de désolvatation: 450 ° C; débit de gaz de cône (N₂): 20 L.h⁻¹; débit de gaz de désolvatation (N₂): 500 L.h⁻¹; débit de gaz de collision (Ar): 0,15 mL.min⁻¹. Les contraintes de cône, les énergies de collision et les transitions de quantification et de confirmation pour chaque analyte ont été établies à partir de l'infusion directe d'une solution de 1 µg.mL⁻¹. La perfusion d'analytes a été réalisée avec les phases mobiles A et B (1: 1), avec un débit de 0,1 mL.min⁻¹ en mode balayage complet. Après avoir ajusté ces paramètres, la méthode de surveillance des réactions multiples (MRM) a été utilisée, utilisée pour identifier et quantifier les analytes.

Le choix de la phase mobile, du mode d'ionisation (ESI positif), des transitions de quantification et de confirmation ont été faits selon la littérature (Aguilera-Luiz et al., 2011; Rubensam et al., 2011) et les caractéristiques chimiques des analytes. Certains des paramètres utilisés dans le système Quattro Premier XE®, tels que la tension capillaire; température de la source d'ions; La température de désolvatation, entre autres, a été établie lors de l'étalonnage de l'instrument par le fabricant. Les ions précurseurs de chaque analyte ont été observés par perfusion directe. Dans la plupart des cas, l'ion protoné [M⁺ H]⁺ a été observé.

NORMES ANALYTIQUES

Les normes analytiques des pesticides étudiés et la préparation des solutions de travail (solutions mères d'enrichissement)

Les normes analytiques pour les pesticides utilisés ont été acquises auprès de la société AccuStandart. Le tableau 1 montre le degré de pureté (%) et la classe d'étalons analytiques solides utilisés pour le développement de ce travail.

Tableau 1 - Normes analytiques solides utilisées au travail

AGROTOXIQUE	PURETÉ (%)
-------------	------------

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Azoxystrobine	99,4
Boscalida	95,5
Carbendazime	98,7
Chlorantraniliprole	98,4
Clothianidine	96,5
Diafenthiuron	99,9
Diphénoconazole	100
Dimetomorfe	98
Espinétorame	96,8
Spinosad	96,6
Fénuron	98
Imidaclopride	99,5
Indoxacarbe	97,3
Métalaxyl M	98
Méthoxyfénozide	99,5
Thiaméthoxame	100

Source: AccuStandart à New Haven, Connecticut, États-Unis - 2018

Avec ces normes, la solution stock d'enrichissement contenant les analytes a été préparée. Cette solution n'est valable qu'un mois et doit avoir été soigneusement conservée dans une fiole ambrée, avec un bouchon et un bouchon en Téflon à -18°C , à ultra-froid.

Toute la verrerie utilisée dans la préparation des solutions et des analyses, comme les pipettes, les fioles jaugées, les béchers, etc., a été dûment calibrée et identifiée pour éviter les erreurs volumétriques dans les déterminations.

Initialement, 10 ml de solution analytique stock 1000 mg.L^{-1} de chaque pesticide ont été préparés. Les standards ont été dissous dans 0,02% de méthanol dans de l'acide acétique glacial qui sont les mêmes composants de la phase mobile adoptée dans la chromatographie liquide qui analysera les composés et les solutions mères ont été stockées dans des flacons ambrés à une température de -18°C .

En utilisant la méthode des dilutions successives, des solutions analytiques individuelles ont été préparées pour chaque pesticide étudié, à une concentration de 100 mg.L^{-1} , avec les

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

mêmes solvants. A partir de ces solutions, un mélange a été préparé à une concentration de 10 mg.L^{-1} contenant tous les pesticides. Enfin, à partir de la solution standard 10 mg.L^{-1} , un mélange a été préparé à une concentration de $0,200 \text{ mg.L}^{-1}$ contenant tous les pesticides.

A partir du mélange intermédiaire de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, des solutions de travail analytiques ont été préparées à des concentrations de 0,4; 2,0; 4,0; 10,0; 20,0 et $40,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ contenant tous les pesticides dans chaque concentration pour la préparation de la courbe d'étalonnage du chromatographe liquide. Pour l'injection dans le système UHPLC-MS / MS, des dilutions ont été effectuées dans la proportion 1: 1 (v / v) de ces solutions dans la phase mobile Méthanol / eau, de sorte que les concentrations finales des solutions de travail évaluées étaient de 0,2; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 et $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ pour tous les pesticides qui composent la solution mère d'enrichissement. Les dilutions des solutions analytiques dans la phase mobile acidifiée visent à améliorer l'efficacité d'ionisation des analytes, en améliorant le signal chromatographique, la forme et la symétrie des pics. Ces solutions de travail ont été utilisées pour étudier la linéarité de la méthode. Toutes les solutions ont été stockées dans des bouteilles de couleur ambre et stockées à $-18 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

VALIDATION DE LA MÉTHODE

Le paramétrage adopté pour la validation de la méthode analytique a consisté en une vérification des performances. Ainsi, des paramètres tels que: courbe analytique et linéarité, limite de détection, limite de quantification, exactitude (récupération) et précision (répétabilité et précision intermédiaire) sont devenus une référence pour obtenir des résultats fiables.

DÉTERMINATION DU SOL DE RÉFÉRENCE BLANC

En raison de la complexité de la matrice et des faibles niveaux de concentration des pesticides dans le sol (de l'ordre de ppm à ppb), la préparation de l'échantillon était essentielle pour obtenir des résultats fiables.

L'étape la plus difficile a été d'obtenir un échantillon de sol blanc, exempt de pesticides et pouvant servir de référence zéro pour les études. Ce sol était destiné à faire des

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

contaminations aux pesticides pour suivre l'optimisation à travers la méthode *QuEChERS*.

Pour la vérification du sol blanc, l'échantillon de sol codé A1BR05 a été utilisé dans deux traitements:

TRAITEMENT 01

Dans 5 tubes de 50 mL de centrifugeuse Falcon, 15 g de sol ont été pesés et le traitement 01 a été effectué, basé sur la méthode *QuEChERS original*: 15 g de sol + 5 mL H₂O; vortex 30 s, substitut de 1 ml (Propoxur 1,0 µg / ml); vortex 30 sec; 15 minutes d'attente; 15 ml d'ACN de qualité UHPLC; Vortex 30 sec; 6 g de MgSO₄ + 1,5 g de NaCl; Centrifugation (7 min); extraction du surnageant et dilution avec du méthanol RP 1: 1 pour injection dans le chromatographe liquide.

La solution de Propoxur 1,0 µg.mL⁻¹ (substitut) a été utilisée comme marqueur. Si le chromatogramme blanc apparaissait sans pics, il était nécessaire de s'assurer que le système montrait une sensibilité aux composés, et le propoxur était le composé qui apportait cette certitude.

TRAITEMENT 02

Il a également été testé un traitement avec la méthode modifiée avec une solution d'hydroxyde de calcium à pH = 12,6, afin d'obtenir un meilleur fond des échantillons par rapport à la matrice du sol comme suit:

Dans 5 tubes de 50 ml de centrifugeuse Falcon, 15 g de sol ont été pesés et le traitement a été effectué 02-15 g de sol + 5 ml H₂O; vortex 30 sec; Substitut de 1 ml; vortex 30 sec; 5 ml de solution de Ca(OH)₂ pH 12,6; 5 minutes d'attente; 15 ml d'ACN de qualité UHPLC; vortex 30 sec; 6 g de MgSO₄ + 1,5 g de NaCl; centrifugation (7 min); extraction du surnageant et dilution avec du méthanol RP 1; 1 pour injection dans le chromatographe liquide.

Les échantillons de sol A1BR05 se sont révélés exempts de pesticides dans les deux traitements. A partir de ce stade, l'échantillon A1BR05 est devenu le sol blanc de référence

Métode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

de ce travail.

Les deux traitements précédents ont été utilisés pour des échantillons de sol nommés avec la solution d'enrichissement contenant les analytes d'intérêt.

La méthode a été initialement optimisée pour l'extraction des pesticides-focus: Azoxystrobin, Boscalide, Carbendazim, Chloranthranilprole, Clothianidin, Diafenthiuron, Diphenconazole, Dimetomorphe, Espinotoram, Espinosade A, Espinosade D, Fenuron, Imidacloprido suivi des échantillons de culture de tomates par détermination par UHPLC-MS / MS (Ultra Performance Liquid Chromatography), qui nécessite que la matrice soit propre, minimisant les interférences de fond (effet de matrice - *background*). Ainsi, les traitements 1 et 2 ont été les points de départ pour l'extraction de ces pesticides de la matrice du sol.

Dans les deux traitements, les extraits étaient très clairs. Même ainsi, les fractions de chacun des tests susmentionnés ont été testées dans une étape de nettoyage dispersif. Dans cette étape, une extraction dispersive dans la phase solide du nettoyage du PSA a été testée, générant 4 traitements supplémentaires, totalisant 8 tests différents.

L'extrait a été filtré à travers une membrane en PTFE puis 1 ml d'extrait a été transféré dans une fiole jaugée, dissous avec 1 ml de méthanol et cette solution finale a été transférée dans un ballon chromatographique. A partir de ce moment, 5 microlitres de chaque échantillon ont été injectés en double dans le chromatographe liquide ultra performant couplé au spectromètre de masse. Les tests ont été réalisés en double et les résultats sont reportés dans le tableau 2

Tableau 2 - Résultats des traitements 1 et 2 de l'analyse des pesticides-focus par chromatographie liquide ultra-performante

Princípio Ativo	Fator de Recuperação sem clean-up (%)		Fator de Recuperação Pós Clean-up (%)	
	Tratamento 01	Tratamento 02	Tratamento 01	Tratamento 02
Abamectina	88/115	65/70	97,5	115
Diafenthiuron	43/37	67/72	53	81,2
Azoxistrobina	101/100	93/94	162,5	160
Pimetrozina	30/28	81/75	30	120

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Acibenzolar-S-Metílico	138/131	36/38	162	47,5
Mandipropamida	108/109	110/102	180	162
Ciromazina	60/61	81/80	95	125
Metomil	108/116	107/105	177	225
Pimetrozina	30/28	81/75	45	120
Acetamiprido	103/104	99/103	167	155
Buprofezina	98/97	96/96	167	166
Lucifenuron	68/67	64/63	-	-
Tiametoxan	104/98	70/69	165	112

Source: élaboration des auteurs

Le traitement avec une solution d'hydroxyde de calcium (pH = 12,3) a montré de meilleurs facteurs de récupération pour la plupart des analytes, à l'exception de l'acibenzolar-S-méthyle, qui n'a pas bien récupéré dans aucun des traitements. Ceci est peut-être dû à la méthylation de la structure du composé soufré, qui rend difficile son extraction dans l'acétonitrile. Ainsi, la validation s'est poursuivie sur la base du traitement 02.

TESTS DE FORTIFICATION POUR ÉVALUER LA PRÉCISION DE LA MÉTHODE

Pour l'étude de la précision de cette méthode analytique, des tests d'enrichissement ont été réalisés dans le but de vérifier le facteur de récupération des composés étudiés. Ainsi, cinq fortifications des échantillons «blanc de référence» ont été réalisées à deux niveaux de concentration différents, totalisant 10 tests.

Chaque niveau d'enrichissement a été injecté deux fois, totalisant un n = 10 (5 extractions x 2 injections).

Pour la procédure d'extraction de la méthode QuEChERS modifiée, 15,00 g de sol homogène ont été pesés dans des tubes en polypropylène (type Falcon), avec un bouchon à vis (capacité 50 mL). Ensuite, chaque échantillon a été humidifié avec 5 ml d'eau Milli-Q et agité vigoureusement pendant 30 secondes dans Vortex. L'enrichissement a été ajouté aux deux niveaux, en utilisant des pipettes calibrées de 0,5 mL et 1,0 mL, à des concentrations: 0,200 µg.mL⁻¹ pour tous les pesticides contenus dans la solution d'enrichissement.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Après fortification, les échantillons ont été homogénéisés par vortex pendant 30 secondes et conservés à 20 ° C pendant 15 minutes. La recherche de PINTO et al. (2010), indiquent qu'il est essentiel qu'il y ait suffisamment de temps pour que l'échantillon contenant les analytes s'évapore et que, par conséquent, il y ait une plus grande interaction entre les composés et la matrice. Selon l'auteur, cette étape rapproche le test de la réalité de l'interaction qui se produit avec des échantillons sur le terrain.

Puis, à l'aide d'une pipette volumétrique, 5 mL d'une solution saturée d'hydroxyde de calcium pH 12,3, dans chaque tube, et après les avoir fermés, un vortex a été réalisé pendant 30 secondes. Laisser réagir pendant 10 minutes, au repos. Ensuite, 15 ml d'acétonitrile de qualité Lichrosolv (pour l'analyse des résidus) ont été ajoutés à chaque tube et agités à nouveau pendant 30 secondes.

1,5 chlorure de sodium (NaCl) et 6,0 g de $MgSO_4$ (sulfate de magnésium anhydre) ont été ajoutés à chaque tube et vortexés pendant 30 secondes supplémentaires, afin d'obtenir la plus grande interaction possible entre le liquide d'extrait et les réactifs solides. Enfin, les tubes ont été soumis à une centrifugation pendant 7 minutes à 3000 tr / min.

Dans un flacon d'une capacité de 2 mL, une dilution 1: 1 (v / v) a été réalisée, dans laquelle 1,0 mL de l'extrait obtenu après extraction et 1,0 mL de la phase mobile ont été ajoutés, suivi d'une analyse par LC-MS / MME.

Enfin, des dilutions des extraits finaux ont été effectuées dans la proportion 1: 1 (v / v) en phase mobile (eau ultrapure). La récupération du composé a été évaluée à des concentrations de 1 et 2 $\mu g.kg^{-1}$ de sol pour tous les pesticides dans la solution d'enrichissement.

Les résultats de récupération étaient intéressants dans les deux traitements. Cependant, le traitement 02 s'est avéré plus efficace pour extraire un plus grand nombre de pesticides, avec des récupérations comprises entre 64 et 110%, à l'exception de l'acibenzolar-S-méthyle, dont les récupérations étaient plus expressives dans le traitement 1.

Les résultats des expériences pour évaluer la meilleure méthode d'extraction et de nettoyage sont présentés dans le tableau 1 – Tests réalisés pour optimiser l'étape d'extraction.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

L'étape de nettoyage n'a montré aucune amélioration significative des résultats. Ainsi, il a été décidé de passer à l'étape de validation en utilisant le traitement 02 sans l'étape de clean-up.

OPTIMISATION DE LA MÉTHODE

La méthode d'extraction a été optimisée selon le Guide d'Assurance Qualité Analytique. Les valeurs établies dans ce manuel satisfont aux exigences de la décision 2018/657 (*European Commission/SANTE*, 2018).

Les paramètres suivants ont été évalués: sélectivité; effet de matrice; linéarité; récupération; limite de détection (LOD); limite de quantification (LOQ) et répétabilité. Les calculs ont été effectués à l'aide des logiciels MassLynx® et Microsoft Excel®. Dans la méthode proposée, la sélectivité a été évaluée par l'analyse de cinq répétitions des extraits d'échantillonnage de sols de tomates. L'évaluation de la linéarité impliquait de tracer une courbe de solvant analytique à partir de la solution de travail MIX 1 contenant les 295 analytes, avec cinq points correspondant à 0, 0,5, 1,0, 1,5 et 2,0 fois la LMR établie pour chaque analyte. Le test de Cochran a permis d'évaluer l'homogénéité des variations obtenues pour chaque niveau de concentration. Les données d'étalonnage ont été évaluées par régression linéaire commune en cas d'homoscédasticité ou régression linéaire pondérée en cas d'hétéroscédasticité.

Pour l'extraction des échantillons, le même sol de référence des tests initiaux a été utilisé. Dans la méthode proposée, la sélectivité a été évaluée en analysant cinq répétitions des extraits d'échantillonnage du sol de plantation de tomates. Dans 10 tubes à centrifuger, de type Falcon, 15 g ont été pesés et 1 ml de la solution de travail a été ajouté. Dans les tubes numérotés 1 et 5, 1 ml de solution d'enrichissement a été ajouté avec des solutions de travail de niveau 1 dans chaque tube, et dans les tubes numérotés de 6 à 10, 1 ml de solution d'enrichissement a été ajouté avec des solutions de travail de niveau 2. dans chaque tube, en plus dans un tube à essai vierge, sans fortification, avec contrôle de qualité du propoxur. Les 11 tubes ont reçu toutes les étapes qui ont été utilisées dans le traitement 2, et ensuite, 1 ml de l'extrait a été transféré dans un ballon et 1 ml de MeOH (composant de la phase mobile) a été appliqué. Ensuite, 5 µL ont été injectés dans le chromatographe liquide Ultra Performance couplé au spectromètre de masse séquentiel, dans les mêmes conditions

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

adoptées pour les tests 3 et 4 du traitement 2. Chaque échantillon a été injecté en quintuplicata, comme recommandé dans Guia Sante (2018) pour la validation de méthodes chromatographiques.

L'effet matrice a été évalué en comparant la pente de la courbe analytique dans l'extrait matriciel à la pente de la courbe analytique dans le solvant, en utilisant le test F (Fisher Snedecor). Ensuite, le test t de Student a été appliqué pour déterminer l'équivalence statistique entre les pentes des courbes analytiques dans le solvant et dans la matrice.

La LOD et la LOQ ont été calculées en utilisant le rapport signal / bruit de l'équipement. LOD était la concentration équivalente à trois fois le bruit et la LOQ était la concentration équivalente à six fois le bruit. La récupération et la répétabilité de la méthode ont été effectuées avec des échantillons de sol avec des pics de deux niveaux: 0,5 à 1,0 équivalent à 5 fois la LMR de chaque analyte, avec cinq répétitions pour chaque niveau. La récupération moyenne et l'écart type relatif (RSD) ont été calculés pour chaque niveau. Analyse d'échantillon. Les échantillons de terrain ont été aimablement fournis par les producteurs de l'État de Rio de Janeiro, au Brésil, et ont été analysés à l'aide de la méthode validée.

La méthode QuEChERS modifiée avec de l'hydroxyde de calcium a montré de meilleurs résultats de récupération que la méthode QuEChERS originale pour la plupart des analytes, principalement pour l'abamectine, l'acétamipride, l'azoxystrobine, la buprofézine, le diafentiuron, le mandipropamide, la pymétrozine, la cyromazine, le métomil, la pimétrozine, le luciaménuron et. Avec la méthode modifiée (méthode QuEChERS avec $\text{Ca}(\text{OH})_2$), les valeurs de récupération obtenues se situaient dans la plage acceptable de 70 à 120% (ANVISA, 2018). Le traitement 2 n'a eu qu'un seul résultat de récupération en dehors de la plage acceptable de 80 à 110%, Acibenzolar-S-méthyle (37%). L'étape de nettoyage avec SPE dispersive n'a pas favorisé des améliorations significatives des récupérations. L'étape de nettoyage SPE s'est avérée inutile car le premier extrait obtenu était limpide et présentait des récupérations acceptables pour les composés d'intérêt, comme le montre le tableau 2.

Par conséquent, la méthode d'extraction choisie pour suivre le processus de validation était la méthode basée sur le traitement 2 (QuEChERS avec hydroxyde de calcium) sans l'étape de nettoyage SPE, utilisant MgSO_4 , PSA et C18.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

La précision a été calculée à l'aide de l'équation suivante et a été exprimée en pourcentage de récupération (INMETRO, 2007):

$$R (\%) = \frac{C_1 \cdot C_2}{C_3} \times 100$$

Où:

C_1 = concentration déterminée dans l'échantillon enrichi;

C_2 = Concentration déterminée dans l'échantillon non enrichi;

C_3 = Concentration utilisée pour l'enrichissement.

Il n'y avait aucune interférence dans le même m / z et le même temps de rétention des analytes dans les cinq répétitions effectuées avec l'extrait de matrice. Ainsi, il a été possible d'obtenir la sélectivité de la méthode. La feuille de travail pour l'évaluation de la courbe analytique - Validation de la méthode multi-déchets par CLUE-EM / EM est présentée à la figure 1.

Figure 3 - Données sur l'évaluation de la courbe analytique - Validation de la méthode multi-résidus par CLUE-EM / EM

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Fonte: CARDOSO et al (2010) – MassLynx® Software

Les caractéristiques de performance de la méthode optimisée, la plage de travail, les valeurs des coefficients de corrélation (r) et de détermination (R²) pour les courbes analytiques obtenues pour chaque analyte sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 – Résumé des résultats de l'évaluation – Coefficients de corrélation (r) et de détermination (R²)

Substance	VALIDATION DE LA COURBE ANALYTIQUE	
	r	R ²
Azoxystrobine	0,9995	0,9989
Boscalida	0,9982	0,9964
Carbendazime	0,9996	0,9993
Chlorantraniliprole	0,9996	0,9991
Clothianidine	0,9963	0,9925

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Diafentiuron	0,9993	0,9986
Diphénoconazole	0,9988	0,9975
Dimetomorfe	0,9991	0,9982
Espinétorame	0,9973	0,9947
Spinosad	0,9987	0,9974
Fénuron	0,9986	0,9973
Imidaclopride	0,9995	0,9990
Indoxacarbe	0,9981	0,9961
Métalaxyl M	0,9998	0,9997
Méthoxyfénozide	0,9969	0,9939

Source: élaboration des auteurs

L'effet de matrice n'a pas été évalué pour la validation du sol, étant considéré comme significatif pour tous les pesticides étudiés.

Toutes les substances analysées ont présenté un comportement homoscedastique dans la plage de travail de 0,0032 à 0,0500 µg / mL.

On observe que pour la plupart des analytes, les coefficients de détermination (r^2) étaient proches de un, montrant une bonne linéarité, indiquant un profil de dispersion homoscedastique (variation constante des erreurs expérimentales pour différentes observations) pour la plupart des analytes, permettant que les courbes standard aient été évaluées par régression linéaire utilisant la méthode des moindres carrés ordinaires. Les ajustements linéaires pondérés ($1/x$) ont été réalisés à l'aide du logiciel MassLynx®. Les valeurs Student-t calculées pour l'effet de matrice se situaient dans les valeurs requises par le guide SANTE pour la plupart des analytes. Ainsi, la courbe de l'extrait de matrice a été utilisée pour quantifier les échantillons, y compris les analytes dans lesquels l'effet de matrice n'a pas été observé. Les valeurs obtenues pour LOD et LOQ, ainsi que le rapport signal / bruit (tableau 4), répondaient aux critères établis par l'Agence nationale de surveillance sanitaire (ANVISA, 2018) pour ces analytes, confirmant que la méthode optimisée est adéquate pour se conformer à la législation en vigueur au Brésil. Cependant, afin de se conformer à la législation européenne, la LOD et la LOQ obtenues doivent être révisées, car elles sont très proches du niveau maximal établi (EUROPEAN COMMISSION, 2018).

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Tableau 4 – Substances validées dans la matrice du sol, avec les limites de quantification respectives et le rapport signal / bruit correspondant

Substance	VALIDATION DE LA COURBE ANALYTIQUE	
	LOQ (mg/kg)	Rapport de signal/Bruit
Azoxystrobine	0,0066	538,39
Boscalida	0,0076	30,11
Carbendazime	0,0055	166,53
Chlorantraniliprole	0,0075	276,84
Clothianidine	0,0064	496,4
Diafenthiuron	0,0038	72,37
Diphénoconazole	0,0077	38,83
Dimetomorfe	0,0072	27,62
Espinétorame	0,0074	10729,08
Spinosad	0,0078	1757,72
Fénuron	0,0080	1630,64
Imidaclopride	0,0132	207,19
Indoxacarbe	0,0062	171,61
Métalaxyl M	0,0072	1104,23
Méthoxyfénozide	0,0074	327,56

Source: élaboration des auteurs

Il a été possible d'établir la LOQ pour les substances au niveau d'enrichissement validé, car elles avaient un rapport signal / bruit supérieur à 10.

PRÉCISION (TAUX DE RÉCUPÉRATION) ET PRÉCISION (RÉPÉTIBILITÉ)

Pour l'étude du taux de récupération et de répétabilité, l'échantillon de sol A1BR05 a été enrichi avec différents volumes de la solution mère de fortification, composant un mélange des pesticides d'intérêt, en cinq répétitions, après l'extraction le volume de 1 mL a été retiré et dilué 1: 1 avec du méthanol (MeOH) pour une analyse chromatographique supplémentaire par UHPLC-MS / MS. Cette concentration d'enrichissement correspond à la concentration théorique de LQ. Chaque réplicat a été injecté deux fois.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Concentrations d'injection:

- Niveau 1: 0,00323 µg / mL, ce qui correspond à 0,0067 mg / kg,
- Niveau 2: 0,00625 µg / mL, ce qui correspond à 0,0133 mg / kg,

Les résultats obtenus à partir de la précision - récupération sont décrits dans le tableau 5.

Tableau 5 - Résultats obtenus à partir de l'exactitude - Récupération

Substance	VALIDATION DE LA COURBE ANALYTIQUE			
	Nível 1		Nível 2	
	Conc. (mg kg ⁻¹)	Rec. (%)	Conc. mg kg ⁻¹)	Rec. (%)
Azoxystrobine	0,0066	95,4	0,0142	106,3
Boscalida	0,0076	111,5	0,0149	110,5
Carbendazime	0,0055	80,4	0,0125	94,2
Chlorantraniliprole	0,0075	109	0,0153	114
Clothianidine	0,0062	92,1	0,0146	109,9
Diafenthiuron	0,0038	53,7	0,0042	32,5
Diphénoconazole	0,0077	112,2	0,0148	111
Dimetomorfe	0,0072	105,4	0,015	111,5
Espinétorame	0,0074	103,5	0,0149	111,5
Spinosad	0,0078	114,4	0,0159	118,9
Fénuron	0,008	115,9	0,016	119,4
Imidaclopride	0,0063	92,1	0,0143	106,4
Indoxacarbe	0,0062	90,3	0,0135	101
Métalaxyl M	0,0072	105,1	0,0155	116,6
Méthoxyfénozide	0,006	88,1	0,0146	109,6

Source: élaboration des auteurs

Les résultats de récupération sont dans la plage acceptable (70-120%). La méthode a montré une bonne répétabilité pour la plupart des composés étudiés, avec des valeurs RSD inférieures à 20%.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Tous les composés étudiés répondaient aux critères recommandés par la *European Comission* (2018), à l'exception du pesticide Diafentiuron, car il ne permettait pas de récupérer dans la plage acceptable (70% à 120%) à l'un ou l'autre niveau, rendant sa validation impossible.

Après validation, la méthode a été utilisée pour la détermination quantitative de la teneur en pesticides dans des échantillons de sol prélevés dans les régions où les tomates sont plantées. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 6 ci-dessous:

Tableau 6 – Résumé des résultats des échantillons de sol réels prélevés dans les zones de plantation de tomates (mg / kg de sol)

Pesticide	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
1. Azoxystrobine	0,003			0,0025		0,009	0,06
3. Boscalida						Traces	
4. Carbendazime						0,0065	0,0085
5. Clomazone*							
6. Chlorantraniliprole				0,036	X	0,071	0,223
7. Clothianidine				0,027		X	0,0185
8. Diafentiuron				0,0255		X	
9. Diphénoconazole	0,003			0,038			0,0285
10. Dimetomorfe		0,0105		0,48		0,096	0,0275
11. Espinétorame						X	X
12. Spinosad A						0,002	
13. Spinosad D						X	X
14. Fénuuron	X		Traces	X	Traces	X	X
15. Imidaclopride	X	Traces				0,008	0,006
16. Indoxacarbe				0,0235		0,0015	
17. Métalaxyl M	Traces	Traces		0,0085		0,024	0,001
18. Méthoxyfénozide				0,1415		0,0105	
19. Thiaméthoxame				0,0315		0,0225	0,0255

Nota: P1 a P6 (Áreas de Plantio do Tomate) Fonte: Elaborada pelos autores.

Foram encontrados resíduos dos agrotóxicos apresentados na Tabela 6. O agrotóxico fenuron

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

foi encontrado em todas as amostras de solo, exceto nas das áreas P1 e P2. Este agrotóxico é um dos excluído ou não registrados no Brasil, como mostrado na tabela 7. Entretanto, as concentrações desse composto encontradas nas amostras foram classificadas como traços, isto é, abaixo de limite de detecção do pelo método analítico.

Com relação aos agrotóxicos azoxitrobina e carbendazim, a situação das áreas 6 e 7 é preocupante, sobretudo porque esses agrotóxicos não são autorizados pela ANVISA para aplicação no plantio do tomate, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentrações dos agrotóxicos NÃO AUTORIZADOS para aplicação no tomate encontrados no solos analisados

Pesticide	P6			P7		
	5-10	10-20	10-20	0-5	5-10	10-20
1. Azoxystrobin	0,0090	0,0035	0,006	0,060	0,012	0,003
2. Carbendazim	0,0065	0,0065	0,0045	0,0085	0,003	0,002

Source: élaboration des auteurs

La méthode multirésidue optimisée s'est avérée sélective et précise dans la gamme étudiée, permettant l'analyse simultanée des substances: Azoxystrobin, Boscalide, Carbendazim, Chlorantraniliprole, Clothianidine, Diphénoconazole, Dimetomorfe, Espineteram, Espinosade A, Espinosade D, Fénuuron, Imidalexopride, Indalaclaxopride, Indalaxide M, méthoxyfénozide, tiamétoxon, avec leurs limites de quantification (LOQ) respectives, inclus dans le programme officiel brésilien de surveillance des tomates, comme indiqué dans le tableau 8

Tableau 8 – LOQS pour la concentration sur les pesticides: $\mu\text{g kg}^{-1}$

Agotoxique	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Azoxystrobin	7,0
Boscalida	7,0
Carbendazime	5,0
Chlorantraniliprole	7,0
Clothianidine	7,0

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

Diafentiuron	7,0
Diphénoconazole	7,0
Dimetomorfe	7,0
Espinétorame	7,0
Spinosad	7,0
Fénuron	7,0
Imidaclopride	13,0
Indoxacarbe	7,0
Métalaxyl M	7,0
Méthoxyfénozide	7,0

Source: élaboration des auteurs

CONSIDÉRATIONS FINALES

La méthode QuEChERS, avec des modifications mineures, convenait à l'extraction multirésidue des analytes dans les sols de la plantation, avec des extraits clairs et sans interférence. La chromatographie liquide à ultra-résolution couplée à la spectrométrie de masse séquentielle (UPLC-MS / MS) était adéquate pour la détection et la quantification de ces analytes dans la matrice, avec des valeurs de récupération comprises entre 70 et 120% écart-type inférieur à 20%, limites de quantification entre 7 et 13 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et limites de quantification entre 2 et 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, appropriées pour se conformer à la législation en vigueur. Les résultats de l'essai sur le terrain ont montré que la méthode convient pour l'analyse quantitative des pesticides évalués dans les sols dérivés de la plantation de tomates dans la plage de travail.

La méthode validée est conforme aux valeurs suggérées dans la littérature pour l'analyse des résidus de pesticides par des méthodes chromatographiques (*EUROPEAN COMMISSION*, 2018). La détermination des pesticides à l'étude par UHPLC-MS / MS a été satisfaisante, permettant la réalisation d'une analyse qualitative, obtenue à partir de fragments de masse caractéristique de chaque analyte, et quantitative, via le mode d'acquisition MRM. Les conditions chromatographiques optimisées pour la détermination par UHPLC-MS / MS ont permis l'identification et la quantification des composés à l'étude, dans un temps d'analyse de moins de 15 min, ce qui contribue avec un grand gain en tant qu'outil d'analyse et pour la

Métode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

société dans son ensemble.

En général, tous les échantillons ont montré des concentrations de pesticides autorisées par les monographies de l'ANVISA. Cependant, les résultats obtenus pour la plantation conventionnelle, bien qu'ils soient dans les conformités requises, sont supérieurs aux valeurs obtenues pour les plantations du système durable et biologique. Cependant, il sert d'alerte à la présence de pesticides sur la table de la société.

L'utilisation de pesticides azoxystrobine et carbendazime (pesticides non autorisés) pour l'application dans les tomates soulève des préoccupations concrètes avec quelque chose qui était normalement prévu, l'utilisation délibérée de pesticides pour augmenter la production, indépendamment de ce que les lois recommandent.

Si, d'une part, il est inquiétant de trouver des pesticides non autorisés dans les échantillons, d'autre part, cela démontre que la méthode validée par ce travail est très efficace, du fait de sa capacité à quantifier même les pesticides non autorisés à l'emploi.

Outre l'obtention de résultats assez satisfaisants pour le focus pesticides, ces travaux se sont avérés capables de déterminer les résidus pour 240 pesticides, entre autorisés et non autorisés par l'ANVISA au Brésil, avec des valeurs de coefficient de détermination supérieures à 0,99; Valeurs LOQ de $13 \mu\text{g kg}^{-1}$ pour le Spinosad et de $7,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ pour les autres pesticides. La méthode a montré une bonne précision, avec des valeurs RSD $<20\%$, et une exactitude, avec des récupérations comprises entre 70 et 120% pour la grande majorité des composés analysés.

RÉFÉRENCES

AZEVEDO, E. de - Alimentos Orgânicos: ampliando conceitos de saúde humana, ambiental e social, Livros G.Play, 2018.

ANASTASSIADES M, Lehothay S.J, Stajnbaher D, Schenck F.J. *Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residue in produce*. J. AOAC Int. 86: 412-431, 2003.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>> 2014. Acesso em: 11 de outubro de 2018.

ANVISA - NOTA TÉCNICA 02/2017 - Posicionamento da Anvisa referente à Recomendação 028/2016 aprovada em Reunião Plenária do Conselho, 2017

CARDOSO, Maria Helena Wohlers Morelli; GOUVÊA, Adherlene Vieira; NÓBREGA, Armi Wanderley da; ABRANTES, Shirley de Mello Pereira - Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos em tomate: uma experiência laboratorial - Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 30 (Supl.1): 63-72, maio 2010.

CARVALHO, C.R.F., PONCIANO N.J.; SOUZA P.M. de. - Viabilidade econômica e de risco da produção de tomate no município de Cambuci/RJ, - Ciência Rural, Brasil, 2014.

CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) - Qualidade do solo, 2020. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/solo/poluicao/> - Acessado em 09/2020.

COMMISSION DECISION No. 657/2002. *Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.* Off. J. Eur. Commun. L 221: 8-36.

COMMISSION REGULATION (E.C). N°. 1881/2006. *Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.* Off. J. Eur. Commun. L364: 5-24.

CONAMA - Resolução nº 420/2009 - Disposição sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e suas providências. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>> Acesso em: 02 jan. 2019.

CURRENCE, T.M. Tomato breeding. I. Species, *origin and botanical characters*. Handbuch der Pflanzenzuchtung, p. 351-369, 2013.

DIEZ, C.; TRAAG, W. A.; ZOMMER, P.; MARINERO, P.; ATIENZA, J.; J. - Extraction and chromatographic analysis of the cadusafós nematicide, chromatography, 1131, 1135 - 2006.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

DONG, H.; XIAO, K. - *Modified QuEChERS combined with ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry to determine seven biogenic amines in Chinese traditional condiment soy sauce* - *Food Chemistry*, Volume 229, Pages 502-508 - Elsevier, 2017.

DROŹDŹYŃSKI, D.; KOWALSKA, J. - *Rapid analysis of organic farming insecticides in soil and produce using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry*, Springer, Talanta, 2009.

DROŹDŹYŃSKI, D.; WALORCZYK, S.; GNUSOWSKI, B - *Multiresidue determination of 160 pesticides in wines employing mixed-mode dispersive-solid phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry*, Volume 85, Issue 4, Talanta - Elsevier, Pages 1856-1870, 2011.

ESALQ - Simpósio de defensivos agrícolas: tópicos relevantes e principais desafios, ESALQ / 2017

EUROPEAN COMMISSION - Directorate General for Health and Food Safety, 2017.

EUROPEAN COMMISSION - Directorate General for Health and Food Safety, 2018.

EMBRAPA - Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos, 2016.

EPA (Environmental Protection Agency) - *Pesticide safety for farmworkers*, 2017.

FAOSTAT - *Food and Agriculture Organization of the United Nations* - Produtividade Mundial, 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/340/default.aspx>>. Acesso em. 28 de novembro de 2019.

FERNANDES V.C, LEHOTAY S.J, GEIS-ASTEGGIANTE L, KWON H, Mol H.G.J, van der Kamp H, MATEUS N, DOMINGUES V.F, DELERUE-Matos, C. *Analysis of pesticides residues in strawberries and soils by GC-MS/MS, LC-MS/MS and two dimensional GC-time-of-flight MS comparing organic and integrated pest management farming. Food Addit Contam.* 31: 262-270, 2014.

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols
de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra
Performance couplée à la spectrométrie de masse

IARC. *INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. WHO. World Health Organization. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 82: 183-193, 2002.*

IBAMA-Ministério do Meio Ambiente: Avaliação do Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) de Agrotóxicos e Afins. Disponível em: Acesso em: abr. 2020.

IBGE – Indicadores / Estatística da Produção Agrícola Levantamento Sistemático da Produção Agrícola 2017-2018, 2019.

IGLESIAS, Hoshi A. – Introdução ao Acoplamento Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas Waters Technologies do Brasil, Barueri, SP, 2016.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos – DOQ-CGCRE-008. Rev. 07, 28 f, jul 2018.

JUNIOR, J.C.L, – Manejo integrado de pragas na cultura do tomate: uma estratégia para a redução do uso de agrotóxicos – Extensão em Foco (ISSN: 2317-9791), 2019.

LESUEUR, A. B; KNITTL P. A ; GARTNER, M. A; MENTLER A. C, FUERHACKER M.B.- *Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method – Science Direct, 2008.*

MALDANER L, JARDIM ICSF. O estado da arte da cromatografia líquida de ultraeficiência [*The art state of ultra performance liquid chromatography*]. Quim Nova. 32: 214-222. Portuguese, 2009.

OGIHARA, Camila Honda – Desenvolvimento e validação de método para a determinação de multirresíduos de agrotóxicos em solo empregando o método quechers e a cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial – UNICAMP, 2018.

ORTELLI, D; COGNARD, E; JAN, P; EDDER, P. *Comprehensive fast multiresidue screening of 150 veterinary drugs in milk by ultra-performance liquid chromatography coupled to time of flight mass spectrometry and Chromatography. 877: 2363-2374, 2009.*

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols
de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra
Performance couplée à la spectrométrie de masse

PINTO, C.G., Martín, S.H., PAVÓN, J.L.P., CORDERO, B.M., *A simplified Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe approach for the determination of trihalomethanes and benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soil matrices by fast gas chromatography with mass spectrometry detection*. Anal. Chim. Acta, 689, 129-136, 2011.

PRESTES, O.D. ; Friggi, C.A.; ADAIME M.B, ZANELLA, R. QuEChERS – QuEChERS-a modern method of sample preparation for multiresidue determination of pesticides in food by chromatographic methods coupled to mass spectrometry]. Quim Nova. 32: 1620-1634. Portuguese, 2009.

RAMOS, A. M. et al. *Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, v. 396, p. 2307-2319, 2016.

RASHID A., NAWAZ S., BARKER H., AHMAD I., AND ASHRAF M., *Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry*. J. Chromatogr. A, 2010, 1217, 2933-2939

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. Revista Liberato, 2009, 10, 14, 149-158.

RUBENSAM G, Barreto F, HOFF RB, KIST TL, PIZZOLATTO, TM. *A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection*. Anal Chim Acta. 705:24-29, 2011.

SOBER – Revista de Economia e Sociologia Rural (RESR) – Relatório – 1º Trimestre 2019, MAPA, Brasil, 2019

TSIPI, D.; BOTITSI, H.; ECONOMOU, A. *Mass Spectrometry for the Analysis of Pesticide Residues and their Metabolites*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2015.

VEIGA, Denise Piccirillo – O impacto do uso do solo na contaminação por agrotóxicos das águas superficiais de abastecimento público – USP, São Paulo, 2017

Méthode multi-résidus pour l'analyse de 240 pesticides dans les sols de plantation de tomates par chromatographie liquide Ultra Performance couplée à la spectrométrie de masse

ANNEXE – RÉFÉRENCES DE BAS DE PAGE

8. Le mildiou, causé par *Phytophthora infestans*, est une maladie très agressive dans la culture de la tomate, capable de décimer des cultures entières en peu de temps.

9. Paramètre agronomique établi par l'ANVISA concernant la recommandation 028/2016 approuvée par le Conseil national de la sécurité alimentaire et nutritionnelle (CONSEA) – constitue l'une des composantes du calcul de l'exposition et de l'évaluation du risque, qui est une condition préalable à l'homologation ou à l'autorisation d'un pesticide en nouvelles cultures.

^[1] Doctorat en cours en génie de l'environnement. Master en Master professionnel en génie de l'environnement. Spécialisation en méthodologie d'enseignement de la chimie. Diplôme en chimie.

^[2] Conseiller. Doctorat en génie du programme de génie minier, métallurgique et des matériaux de l'Université fédérale de Rio Grande do Sul.

^[3] Conseiller. Doctorat en génie océanique de Coppe / UFRJ; Professeur associé à l'École polytechnique de l'Université fédérale de Rio de Janeiro, et pro-recteur des études de premier cycle à l'UFRJ.

^[4] Conseiller. Doctorat en sciences par le Centre pour l'énergie nucléaire dans l'agriculture / CENA – de l'Université de São Paulo.

^[5] Mestre em vigilância sanitária em saúde (FIOCRUZ/INCQS).

^[6] Doctorat en surveillance de la santé en santé (FIOCRUZ / INCQS).

^[7] Doctorat en surveillance de la santé en santé (FIOCRUZ / INCQS).

Soumis: Décembre 2020.

Approuvé: Janvier 2021.