

Resíduos de antibióticos em amostras de milho: um novo método válido, rápido e confiável, utilizando HPLC-FLD

DOI: 10.5281/zenodo.19918912

Pedro Henrique Carvalho Lima ^{a*}

Enrofloxacin is a fluoroquinolone drug widely used as an antibacterial agent in dogs, cats, chickens, and other animals for the treatment of various diseases. In these animals' bodies, this substance is metabolized into ciprofloxacin, another antibiotic belonging to the quinolone class. Despite being effective medications, these substances are excreted by these animals and end up contaminating the soil, affecting the development of certain plants, such as corn. This article addresses the creation and validation of a method for detecting these drugs in corn samples using High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (HPLC-FLD).

A enrofloxacin é um medicamento da família das fluoroquinolonas amplamente utilizado como antibactericida em cães, gatos, galinhas, e outros animais, para o tratamento de diversas doenças. No organismo desses animais, essa substância é metabolizada em ciprofloxacin, outro antibiótico pertencente à classe das quinolonas. Apesar de serem medicamentos eficazes, essas substâncias são excretadas por esses animais e acabam contaminando o solo, afetando o desenvolvimento de certas plantas, como o milho. O presente artigo aborda a criação e validação de um método de detecção desses medicamentos em amostras de milho, utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (HPLC-FLD).

^aUniversidade de Brasília (UnB). Campus Darcy Ribeiro. Instituto de Química (IQ/UnB).

*E-mail: phclima3101@gmail.com

Palavras-chave: Enrofloxacin; ciprofloxacin; milho; contaminação; HPLC-FLD.

Recebido em 11 de abril de 2026,

Aprovado em 26 de abril de 2026,

Publicado em 30 de abril de 2026

Introdução

A agricultura brasileira é uma das maiores e mais competitivas do mundo. Dados mostram que o Brasil foi o quarto maior produtor de grãos (como soja, milho, feijão, arroz etc.) entre 2021 e 2023, produzindo cerca de 311 milhões de toneladas só em 2023, correspondendo a cerca de 8,8% da produção global de grãos.^{1,2} A produção de milho, especificamente, foi de mais de 130 milhões de toneladas em 2023, posicionando o Brasil como o terceiro maior produtor do grão no mundo.^{2,3} A Figura 1 mostra um levantamento da quantidade de milho produzida no Brasil desde a década de 70. Nota-se que o plantio do grão cresceu exponencialmente, principalmente entre 2010 e 2023.³ Um grão versátil, de fácil plantio e colheita, é utilizado tanto para o consumo quanto para a produção de combustível, entre outras coisas.^{4,5,6}

A enrofloxacin é uma molécula pertencente à classe das fluoroquinolonas, uma família de antibactericidas que agem a partir da inibição da atividade de duas enzimas cruciais para a reprodução do DNA bacteriano, a DNA-girase e a topoisomerase.⁷ Ela é classificada como um zwitterion, ou seja, é uma molécula eletricamente neutra, mas que possui, em sua estrutura, números iguais de cargas positivas e negativas.⁸ Ela

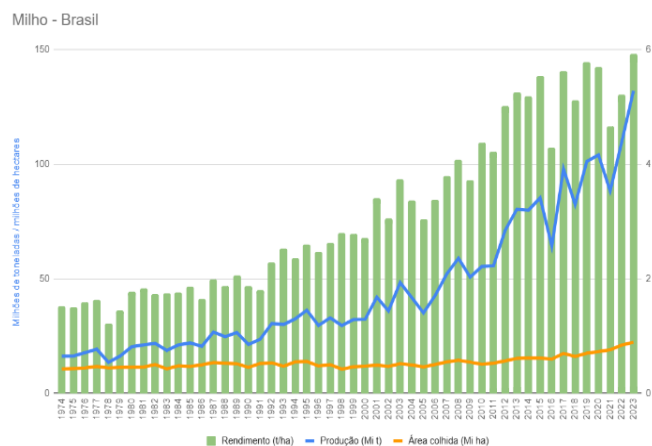
é utilizada principalmente no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas e gram-positivas, além de outros microrganismos sensíveis a esse medicamento, em cães, gatos, animais de grande porte, como bovinos, entre outros.^{9,10} O principal metabólito dessa substância é a ciprofloxacin, antibactericida da família das quinolonas.¹¹

Ambos os medicamentos, apesar de eficazes no tratamento de vários tipos de infecções bacterianas, não são completamente absorvidos no organismo desses animais, e acabam sendo excretados por eles. As fezes, contendo traços desses antibióticos, contaminam o solo e a água de onde são depositadas, e podem infectar futuras plantações que forem feitas nessas áreas, ou irrigadas com a água que, sem o conhecimento do produtor, está contaminada, assim como o uso desses excrementos como adubo em plantações.¹²

Gomes e colaboradores mostram que, mesmo em baixas concentrações, essas substâncias afetam consideravelmente a fisiologia e o desenvolvimento de diversas plantas, como o milho.¹³ O desenvolvimento de técnicas para estimar a quantidade de resíduos de antibióticos é de suma importância para pesquisas sobre o crescimento do milho, e considerando a importância econômica do cultivo

desse grão, surge a necessidade de métodos cientificamente validados para identificar os resíduos desses medicamentos nas plantações.

Figura 1. Produção de milho no Brasil. Extraído da referência 3.



A validação de métodos é essencial, tanto para a criação de procedimentos que buscam ser utilizados como referência quanto para a avaliação da habilidade de um laboratório em produzir resultados analíticos estatisticamente confiáveis. Por isso, o processo para validar um método novo engloba uma variedade de aspectos, especialmente quando se considera seu papel na garantia e controle de qualidade (GQ/CQ) em métodos analíticos e práticas laboratoriais utilizadas em análises químicas.

Considerando a pouca quantidade de métodos validados para a determinação desses antibióticos em plantas, ainda mais aqueles que podem ser utilizados para a análise de partes do milho durante a germinação, Brito e colaboradores descrevem a criação e validação de um método inovador de detecção de enrofloxacin e ciprofloxacina em cultivos de milho utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (HPLC-FLD), e que pode ser aplicada a outros tipos de plantações.¹²

Metodologia

Os pesquisadores utilizaram os reagentes descritos na Tabela 1, com suas respectivas marcas. Todos eram classificados como *pro analysis* (p.a.), com exceção dos solventes utilizados durante a análise no HPLC-FLD, que eram de grau HPLC ou superior.

Tabela 1. Reagentes utilizados por Brito e colaboradores durante o experimento.

Reagente	Marca e origem
Padrão de ciprofloxacina	Sigma-Aldrich, MO, EUA
Padrão de enrofloxacin	Sigma-Aldrich, MO, EUA
Hidróxido de sódio	Neon, São Paulo, Brasil
Fosfato de sódio dibásico	Neon, São Paulo, Brasil
Fosfato de sódio monobásico	Cromoline-Química Fina, São Paulo, Brasil
Ácido fosfórico	Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA
Trietilamina	Merck, Darmstadt, Alemanha
Metanol	Merck, Darmstadt, Alemanha
Acetonitrila	Honeywell, EUA
Clorofórmio	Chemical CRQ, São Paulo, Brasil

Primeiramente, diluiu-se as soluções padrões de ciprofloxacina e enrofloxacin em uma mistura de água, metanol e uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 0.1 mol.L⁻¹, na proporção 20:40:40 (v/v/v). Posteriormente, as duas soluções resultantes foram então diluídas novamente, agora em uma mistura de trietilamina 0.4%, metanol e acetonitrila, na proporção 80:12:8 (v/v/v). Foram obtidas 6 soluções diferentes de cada um dos dois medicamentos, com concentrações iguais a 30, 40, 50, 60, 70 e 100 µg.kg⁻¹, sendo todas elas armazenadas em recipientes de vidro âmbar na temperatura de -20 °C após o término de sua preparação.¹²

Para a validação do método, Brito e colaboradores utilizaram amostras de *Zea mays* (nome científico do milho) colhidas na Universidade Federal do Paraná (UFPR), que foram colhidas 30 dias após o plantio em um solo isento de quinolonas. As raízes das amostras foram removidas e a parte que nasceu para fora do solo foi triturada. Por fim, pesou-se 0.5 g dessas amostras em tubos de polipropileno de 15 mL, que posteriormente foram armazenados em um freezer a -20 °C, até o momento das análises.¹²

Os pesquisadores utilizaram um método de extração baseado na técnica proposta por Migliore e colaboradores, com algumas pequenas alterações.^{12,14} Cada amostra moída foi transferida para um tubo de centrífuga tampado e homogeneizada. Após isso, adicionou-se os padrões de ciprofloxacina e enrofloxacin. As amostras foram mantidas

em repouso a 25 °C por 10 minutos. Em seguida, a extração foi iniciada com 1.5 mL de uma solução de acetonitrila e ácido acético, na proporção 99:1 (v/v), sendo posta em um vórtex por 1 minuto e depois em um banho de ultrassom por 5 minutos. O extrato resultante foi então evaporado até ficar seco, sob vácuo.¹²

Posteriormente, adicionou-se 2 mL de uma solução tampão fosfato salino (PBS, do inglês *Phosphate-Buffered Saline*), de 0.2 a 0.5 mol.L⁻¹ e pH = 7 as amostras secas e então postas no vórtex por 30 segundos. Após isso, 5 mL de clorofórmio foram adicionados nas soluções resultantes, sendo então agitadas por 2.5 minutos, colocadas no banho de ultrassom por mais 5 min e, por fim, sendo centrifugadas a 4.000 rpm por 5 min. Depois, 3 mL da fase orgânica obtida foram coletadas e secas a vácuo.¹²

Então, resuspendeu-se o produto obtido em 1 mL de uma mistura de trietilamina 0.4%, metanol e acetonitrila, na proporção 80:12:8 (v/v/v), com pH = 3, passando novamente pelo vórtex por 30 s, então por 5 min no banho de ultrassom, e finalmente sendo filtrada em um filtro de membrana de nylon com diâmetro de 13mm e poros com tamanho de 0.22 µm.¹²

As análises cromatográficas foram realizadas em um HPLC da marca Waters Alliance, que consiste em um módulo de separação (Waters 2695) acoplado a um detector de fluorescência (Waters 2475). A separação do analito foi realizada em uma coluna C18 da marca Supelco Analytical Ascentis (250 × 4,6 mm, 5 µm), mantida a 35 °C, com uma vazão de 1 mL.min⁻¹ e volume de injeção da amostra de 20 µL. A detecção por fluorescência foi realizada utilizando comprimentos de onda de excitação e emissão ajustados para 278 nm e 453 nm, respectivamente. A fase móvel consistiu em uma solução de trietilamina 0.4% com pH = 3 (fase A), metanol (fase B) e acetonitrila (fase C). Por fim, a eluição foi realizada sob condições de gradiente, conforme detalhado na Tabela 2.¹²

Para a validação do método, Brito e colaboradores consideraram a linearidade dos resultados, a matriz de efeitos sobre eles, a precisão e exatidão, e os limites de quantificação e detecção.¹²

A linearidade do método foi avaliada por meio da análise, em triplicata, de amostras em branco enriquecidas com soluções padrão de ciprofloxacina e enrofloxacina em cinco níveis de concentração: 30, 40, 50, 70 e 100 µg.kg⁻¹. As áreas dos picos, extraídas dos cromatogramas resultantes, foram

utilizadas na construção das curvas de calibração. Baseando-se nesses resultados, os pesquisadores calcularam os coeficientes de determinação (R²) e de correlação (r) para amostras não fortificadas e fortificadas. Em seguida, as curvas de calibração com matriz correspondente para ciprofloxacina e enrofloxacina foram analisadas quanto à normalidade dos resíduos, empregando o teste de Ryan-Joiner. O teste de Durbin-Watson foi utilizado para investigar a autocorrelação, enquanto o teste de Brown-Forsythe foi empregado para avaliar a homogeneidade das variâncias. Por fim, a análise de variância (ANOVA) confirmou a linearidade do método.¹²

Tabela 2. Gradiente estabelecido para a fase móvel do HPLC. Extraído da referência 12.

Tempo (min)	Fase móvel (%)		
	A	B	C
0	80	12	8
5	80	12	8
8	78	13	9
12	76	14	10
18	5	95	0
21	5	95	0
25	80	12	8

A seletividade do método foi avaliada por meio do estudo dos cromatogramas dos brancos produzidos, visando detectar a ocorrência de alterações que possam eluir simultaneamente a retenção dos analitos alvo.¹²

O efeito de matriz foi analisado pelos pesquisadores por meio da comparação de duas curvas de calibração: uma elaborada com extratos de matriz fortificados e outra confeccionada sem a presença de matriz, ou seja, as soluções padrão dos analitos, nos cinco níveis de concentração citados anteriormente. Depois de reconstituídos os extratos de matriz, adicionou-se a solução padrão com os analitos, e a mistura foi colocada no vórtex por 30 segundos. Após isso, as amostras foram injetadas e as curvas de calibração foram geradas em triplicata para cada concentração. Finalmente, com o objetivo de avaliar as disparidades na variância e nas inclinações das curvas de calibração, Brito e colaboradores empregaram o teste F e o teste t de Student, para comparar estatisticamente as curvas, com um nível de confiança de 95%.¹²

Os pesquisadores avaliaram a precisão do método de acordo com sua repetibilidade e reprodutibilidade intralaboral.

A repetibilidade foi analisada utilizando brancos nas concentrações de 30, 60 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, analisando-os em triplicata nas mesmas condições estabelecidas para o método criado. Além disso, a mesma instrumentação foi utilizada, assim como o mesmo pesquisador reproduziu as análises. As análises de reprodutibilidade intralaboral foram feitas sob o mesmo protocolo, porém, nesse cenário, as medidas foram realizadas em dias distintos, por dois analistas diferentes. O desvio padrão foi calculado de seguindo as regras estabelecidas no Manual de Garantia da Qualidade Analítica.^{12,15}

Testes de recuperação foram utilizados pelos pesquisadores para avaliar a exatidão do método. Utilizando brancos nas concentrações de 30, 60 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e rodando os testes em triplicata, a recuperação foi determinada utilizando a seguinte equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{\text{conteúdo medido}}{\text{nível de fortificação}} \right) * 100 \quad (1)$$

Os resultados foram avaliados de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos no Manual de Garantia da Qualidade Analítica.^{12,15}

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos a partir de um método que relaciona o desvio padrão dos resultados com a inclinação da curva analítica. Com isso, as Equações 2 e 3 foram utilizadas para calcular os dois parâmetros.

$$LOD = \frac{(3.3 * \sigma)}{s} \quad (2)$$

$$LOQ = \frac{(10 * \sigma)}{s} \quad (3)$$

Por fim, Brito e colaboradores, baseando-se na estatística de J Youden, com apenas algumas mínimas alterações pré-estabelecidas nas condições cromatográficas, estudaram a robustez do método elaborado. Foram realizados oito testes utilizando amostras em branco fortificadas a 60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, todos em duplicata, para determinar o quanto cada fator analisado (listados na Tabela 3) influência no resultado. Finalmente, foi feita uma comparação entre o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboral (S_{repr}) e o desvio padrão da

diferença do resultado entre os fatores analisados (S_{factor}), sendo a robustez rejeitada para todo $S_{factor} > S_{repr}$.¹²

Tabela 3. Gradiente estabelecido para a fase móvel do HPLC. Extraído da referência 12.

Fator	1	2	3	4	5	6	7	8
A ou a	A	A	A	A	a	a	a	a
B ou b	B	b	B	b	B	b	B	b
C ou c	C	C	c	c	C	C	c	c

Resultados e discussão

A análise de resíduos de antibióticos ou de qualquer outro tipo de contaminante em plantas apresenta elevada complexidade, e estudos como esse necessitam de um método que remova os analitos das células de maneira adequada, mas que também não traga junto outras coisas que atrapalhem a análise. Considerando isso, Brito e colaboradores decidiram estabilizar o pH = 7, pois eles observaram que, caso o pH ficasse abaixo de 6 ou passasse de 8, tanto a ciprofloxacina quanto a enrofloxacin demonstravam maior afinidade com solventes que se misturam com água, ou seja, solventes polares, o que fazia com que o clorofórmio não funcionasse tão bem para extrair os antibióticos.¹²

Considerando as análises feitas nas concentrações de 30, 40, 50, 70 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ para avaliar a linearidade do método, os pesquisadores obtiveram os resultados listados na Tabela 4, para ambos os analitos. Brito e colaboradores destacaram a diferença de valores entre os coeficientes angulares das equações das retas obtidas, sendo o valor da enrofloxacin sete vezes maior que o da ciprofloxacina, o que indica que a enrofloxacin emite um sinal mais significativo que seu metabólito na matriz estabelecida. Ambos os valores de R^2 e r encontrados estão dentro da faixa de aceitação estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que é de >0.99 .^{12,16}

Como descrito na seção “Metodologia” e ilustrado na Figura 2, a seletividade do método foi avaliada utilizando os cromatogramas da matriz em branco, dos solventes padrões e da matriz padrão. No branco (Figura 2a), observa-se que não há sinal dos analitos, e já na Figura 2b, podemos observar que as amostras fortificadas com 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ emitem o sinal de ambos os analitos, entre 10 e 15 min de retenção. Este resultado

confirma que o método de extração estabelecido pelos colaboradores foi eficiente e que a análise foi devidamente otimizada.¹²

Tabela 4. Dados da linearidade do método criado para determinar os antibióticos numa concentração entre 30 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Extraído da referência 12.

Dados	Analito	
	Ciprofloxacina	Enrofloxacina
Eq. da reta	$y = 0.0104x - 0.0264$	$y = 0.0755x - 0.4064$
R^2	0.9907	0.9962
r	0.9953	0.9980

Assim como nas equações da reta na avaliação da linearidade do método, foram observados, nos resultados da avaliação dos efeitos da matriz, diferenças relevantes entre as inclinações das curvas de calibração obtidas para os analitos, tanto para as amostras contendo a matriz estabelecida quanto para as soluções padrão, como mostra a Figura 3.¹²

Como ilustrado na Figura 3, em cada nível de concentração testado (30, 40, 50, 70 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), as curvas de calibração feitas na matriz se mostraram diferentes das curvas feitas utilizando os solventes padrão, tanto na intensidade da absorção quanto na sua inclinação, sendo ainda maior para a ciprofloxacina. Brito e colaboradores utilizaram o teste F e o teste t de Student para comparar a variação e a média das inclinações, e ambos comprovaram que existe, sim, um efeito de matriz importante, o que confirma os resultados visuais da Figura 3. Os pesquisadores frisaram a que, quando se analisam amostras complexas que têm pouca concentração de um ou mais analitos, é muito importante verificar se existe esse efeito de matriz, para termos certeza de que os resultados estão corretos e evitar erros na análise.¹²

Para verificar a exatidão do procedimento, Brito e colaboradores efetuaram várias análises da mesma porção de uma mesma amostra uniforme em condições reguladas anteriormente. Em seguida, foram calculados os desvios-padrão relativos, conforme apresentado na Tabela 4. Os resultados indicam que o método é estatisticamente exato, pois, como estabelecido no Manual de Garantia da Qualidade Analítica, métodos com desvios padrão relativos de até 20% cumprem o requisito de precisão ideal.^{12,15}

Figura 2. Cromatogramas das amostras em branco, ou seja, sem antibióticos (a) e das amostras fortificadas com o analito a 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (b). Extraído da referência 12.

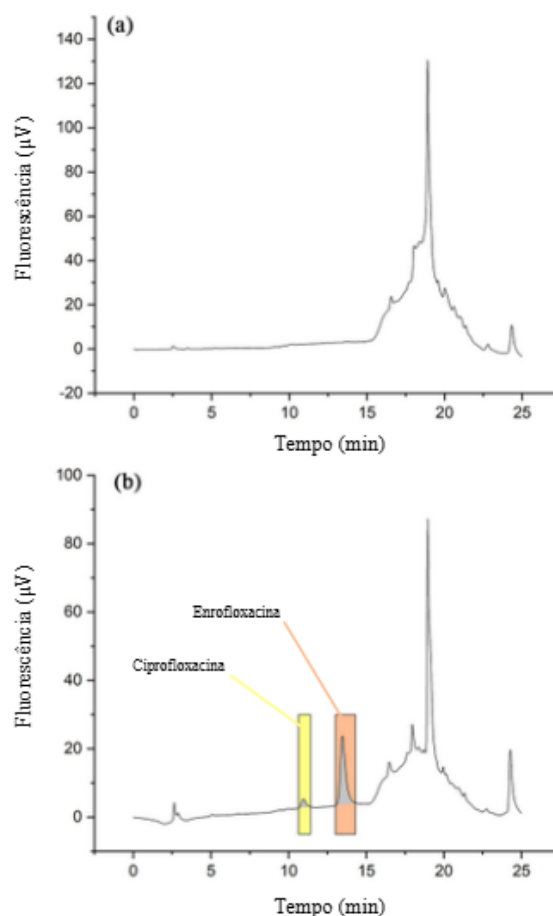


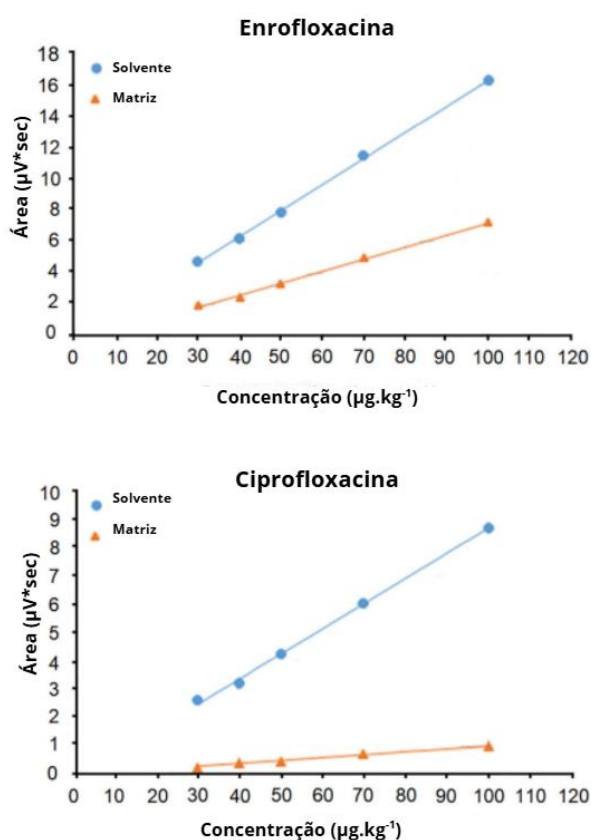
Tabela 5. Dados estatísticos obtidos durante a validação do método nas concentrações de 30, 60 e 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Extraído da referência 12.

Analito	Recuperação (%)		
	30 $\mu\text{g kg}^{-1}$	60 $\mu\text{g kg}^{-1}$	100 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Enrofloxacina	123.1	110.24	108.28
Ciprofloxacina	90.78	105.05	86.49
	Desvio padrão relativo da repetibilidade (%)		
Enrofloxacina	3.75	3.73	4.64
Ciprofloxacina	5.24	11.83	6.46
	Desvio padrão relativo da reprodutibilidade (%)		
Enrofloxacina	9.35	8.06	3.82
Ciprofloxacina	11.73	9.04	4.32

A exatidão de um método expressa o grau de proximidade entre o resultado obtido no ensaio e o valor real da concentração do analito presente na amostra. Brito e colaboradores determinaram que a exatidão do método estabelecido por eles variou entre 86% e 123%, aproximadamente, como mostra a Tabela 5. Segundo a RDC nº 166, que controla os limites aceitáveis de precisão para amostras homogêneas, a recuperação deve ficar entre 70% e 130%. Assim, o método mostrou uma precisão dentro do esperado, seguindo os critérios para concentrações de 30, 60 e 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$.^{12,16}

O limite de detecção (LD) indica a menor quantidade da substância que conseguimos identificar, mesmo que não possamos medi-la com exatidão, durante uma análise. Por sua vez, o limite de quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e confiabilidade. Os dados da Tabela 6 mostram os resultados obtidos por Brito e colaboradores. Curiosamente, os valores de LD e LQ para a ciprofloxacina foram quase três vezes maiores que os encontrados para a enrofloxacina.

Figura 3. Efeito de matriz na análise do milho contaminado. Extraído da referência 12.



Por último, a determinação da robustez do método de análise dos antibióticos revelou que ele não se mostrou imune a mudanças na força do tampão fosfato salino, na temperatura da coluna ou no tempo de homogeneização no vórtex, considerando que o desvio padrão da diferença dos fatores (S_{factor}) excedeu o desvio padrão da consistência dentro do laboratório (S_{repro}). Logo, é crucial que esses elementos sejam mantidos sob atenção constante durante a execução da análise.

Tabela 6. Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método. Extraído da referência 12.

Analito	LD ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
Ciprofloxacina	16.65	50.44
Enrofloxacina	6.57	19.92

Conclusões

Apesar da existência de diferentes métodos destinados à detecção de antibióticos em plantas (ou em água contaminada), muitos desses não passam pelo processo de validação necessário para serem adotados como medidas de análise padrão na determinação desses medicamentos. O trabalho de Brito e colaboradores surge com a intenção de criar um método inovador para a análise de ciprofloxacina e enrofloxacina em amostras de milho, com a intenção de ser um método rápido e acessível, mas acima de tudo, um método devidamente validado de acordo com as regras da ANVISA.¹⁶

Os resultados obtidos pelos pesquisadores são muito satisfatórios e passaram por diversas análises estatísticas que comprovaram sua eficácia na determinação dos antibióticos, mesmo que este analito esteja em concentrações baixíssimas. No geral, o método foi validado com sucesso e se mostra reprodutível e repetível, além de eficaz, rápido e prático, sem um gasto exorbitante de reagentes e nem de perdas desnecessárias. Apesar disso, o método é suscetível a resultados ambíguos caso haja alguma mudança na força do tampão utilizado, na temperatura da coluna, ou até mesmo no tempo de homogeneização, diminuindo a confiança no teste, principalmente se as condições descritas não forem seguidas. Por fim, o método criado por Brito e colaboradores se mostra promissor, podendo ser utilizado em outras análises de diferentes tipos de medicamentos e outros tipos de plantas, não se limitando aos antibióticos analisados e nem a planta aqui utilizada, o milho.

Contribuições por Autor

O artigo e a inclusão de algumas observações são de Pedro Henrique Carvalho Lima.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesses.

Agradecimentos

Ao grupo PET-Química/IQ/UnB/MEC, à Secretaria de Educação Superior do Ministério da Educação (SeSU/MEC) e ao Decanato de Ensino de Graduação (DEG/UnB) pelo apoio ao Programa de Educação Tutorial pela bolsa concedida. Ao Instituto de Química (IQ/UnB) e à Universidade de Brasília pelo suporte e espaço fornecidos.

Notas e referências

- 1 A agricultura brasileira, <https://www.embrapa.br/vii-plano-diretor/a-agricultura-brasileira>, (accessed April 11, 2026).
- 2 Agropensa - Agricultura, <https://www.embrapa.br/agropensa/agro-em-dados/agricultura>, (accessed April 11, 2026).
- 3 Agropensa - Milho, <https://www.embrapa.br/agropensa/agro-em-dados/agricultura/milho>, (accessed April 11, 2026).
- 4 AGEITEC - Plantio, <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/plantio>, (accessed April 11, 2026).
- 5 O novo (e pujante) cliente dos agricultores brasileiros, <https://www.theagribiz.com/dentro-da-porteira/o-novo-e-pujante-cliente-dos-agricultores-brasileiros-o-proprio-brasil-milho/>, (accessed April 11, 2026).
- 6 M. Chaiben Neto, A. D. Robaina, M. X. Peiter, S. A. Rodrigues, Y. R. Flores, J. Bruning, J. G. D. Silva and L. D. Ferreira, Economic indicators for ethanol production from starch crops under different irrigation managements, *Rev. bras. eng. agríc. ambient.*, 2022, **26**, 640–648.
- 7 L. R. Alberton, C. F. Orlandini, T. M. Zampieri, A. Y. Nakamura, D. D. Gonçalves, R. Piau Júnior, M. M. Zaniolo, S. T. Cardim, O. Vidotto and J. L. Garcia, Eficácia do dipropionato de imidocarb, da enrofloxacin e do cloridrato de oxitetraciclina no tratamento de bovinos naturalmente infectados por *Anaplasma marginale*, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 2015, **67**, 1056–1062.
- 8 Fluoroquinolonas - Doenças infecciosas, <https://www.msmanuals.com/pt/profissional/doencas-s-infecciosas/bacterias-e-medicamentos-antibacterianos/fluoroquinolonas>, (accessed April 11, 2026).
- 9 C. Kambalapally, P. K. Suthar, P. Patale, S. Dhiman, V. Gupta, V. Thongire, D. Sarmah, A. Datta, K. Kalia and P. Bhattacharya, in *Treatments, Nutraceuticals, Supplements, and Herbal Medicine in Neurological Disorders*, Elsevier, 2023, pp. 979–992.
- 10 Enrofloxacin, <https://consultaremedios.com.br/enrofloxacin/bula>, (accessed April 11, 2026).
- 11 Ciprofloxacina, <https://www.einstein.br/n/vida-saudavel/ciprofloxacina-saiba-as-indicacoes-e-os-efeitos-colaterais-do-antibiotico>, (accessed April 12, 2026).
- 12 J. Brito, V. Bernardoni, T. Da Silva, L. Ramos, M. Gomes and D. De Assis, Development and Validation of a Rapid and Reliable HPLC-FLD Method for the Quantification of Ciprofloxacin and Enrofloxacin Residues in Zea mays, *J. Braz. Chem. Soc.*, DOI:10.21577/0103-5053.20210129.
- 13 M. P. Gomes, V. S. Richardi, E. M. Bicalho, D. C. Da Rocha, M. A. Navarro-Silva, P. Soffiatti, Q. S. Garcia and B. F. Sant’Anna-Santos, Effects of Ciprofloxacin and Roundup on seed germination and root development of maize, *Science of The Total Environment*, 2019, **651**, 2671–2678.
- 14 L. Migliore, S. Cozzolino and M. Fiori, Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants, *Chemosphere*, 2003, **52**, 1233–1244.
- 15 Manual de Garantia da Qualidade Analítica, <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-programas-nacionais-e-seguranca-dos-alimentos->

1/legislacao/legislacao-vinhos-e-bebidas, (accessed April 12, 2026).

- 16 NORMAS REGULATÓRIAS DA ANVISA, https://anvisa.gov.br/legis/datalegis.net/action/ActionDatalegis.php?acao=categorias&cod_modulo=310&menuOpen=true, (accessed April 12, 2026).