

**LEILA MOREIRA BITTENCOURT**

**DISSIPÇÃO E MONITORAMENTO DOS INSETICIDAS CLORPIRIFÓS E  
THIAMETHOXAM EM TUBÉRCULOS E SOLO CULTIVADO COM BATATA  
(*Solanum tuberosum* L.)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Agroquímica, para  
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2008

**LEILA MOREIRA BITTENCOURT**

**DISSIPACÃO E MONITORAMENTO DOS INSETICIDAS CLORPIRIFÓS E  
THIAMETHOXAM EM TUBÉRCULOS E SOLO CULTIVADO COM BATATA  
(*Solanum tuberosum L.*)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Agroquímica, para  
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 30 de abril de 2008

---

Prof. Carlos Roberto Bellato

---

Prof. César Reis

---

Prof. Antônio Augusto Neves  
(Conselheiro)

---

Prof. Laércio Zambolim  
(Conselheiro)

---

Profa. Maria Eliana L. R. de Queiroz  
(Orientadora)

“A sabedoria de um ser humano não está  
no quanto ele sabe, mas no quanto ele  
tem a consciência de que não sabe”

*(Augusto Cury)*

*À Deus,  
Aos meus pais Anacleto e Maria Auxiliadora,  
Ao meu querido irmão Lucas,  
A João Paulo,*

*Por estarem sempre ao meu lado, me incentivando e apoiando...*

*Com amor,  
Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me acompanhado em todo meu percurso, me ajudando, iluminando e atendendo todos os meus “difíceis” pedidos.

Agradeço de todo o coração, aos professores, Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Antônio Augusto Neves, pelos ensinamentos, incentivo, confiança. Vocês sempre serão lembrados como um exemplo de profissionais e principalmente de seres humanos.

Ao professor Laércio Zambolim pelo apoio incondicional, pelos ensinamentos e pela convivência mais que agradável.

Aos professores Carlos Roberto Bellato e César Reis pela participação na banca.

Ao meu pai, por todo amor, carinho, apoio e pela participação efetiva em meus experimentos.

A minha mãe, exemplo de dignidade e perseverança, pelo incentivo.

Ao meu namorado, João Paulo, por estar sempre ao meu lado, nos momentos de vitória e frustrações. Obrigada pelo seu amor, paciência e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente ao Departamento de Química, que contribuiu para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

As amigas Ilmara, Kamilla, Juliana Ferreira, Juliana Vanir, Sabrina, Kiki, Georgia, Paola, pela presença em minha vida.

A todos os amigos do laboratório de química analítica – LAQUA: Jussara, Deyse, Aline, Érica, Igor, Jaqueline, Luciana, Lucimara, Raquel, Simone, Gevany, Rodrigo, Ricardo e Elenice, pelo auxílio, aprendizado, amizade e pelos momentos de descontração.

Aos estudantes do Laboratório de Proteção de Plantas, pela colaboração nas realizações dos meus experimentos.

## **BIOGRAFIA**

LEILA MOREIRA BITTENCOURT, filha de Anacleto Saraiva Bittencourt e Maria Auxiliadora M. Bittencourt, nasceu em Piracicaba, São Paulo, em 11 de Julho de 1982.

Iniciou o curso de Graduação em Química em julho de 2001 na Universidade Federal de Juiz de Fora. Transferiu-se para a Universidade Federal de Viçosa onde completou o curso diplomando-se, em abril de 2006, em licenciatura e bacharelado em Química.

Em maio de 2006 iniciou o curso no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica da Universidade Federal de Viçosa, em nível de mestrado, submetendo-se à defesa da dissertação em abril de 2008.

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| RESUMO .....  | viii |
| ABSTRACT .....  | x    |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 1    |
| 1.1. Aspectos gerais no estudo de resíduos de agrotóxicos.....                                    | 2    |
| 1.2. Resíduos de agrotóxicos em alimentos.....  | 3    |
| 1.3. Limites máximos de resíduos e período de carência.....                                       | 5    |
| 1.4. Características da cultura da batata .....   | 7    |
| 1.5. Controle de pragas no cultivo da batata .....  | 9    |
| 1.6. Técnicas de extração de agrotóxicos .....  | 12   |
| 1.7. Técnicas de análise .....  | 15   |
| 1.8. Objetivos.....   | 18   |
| 2. MATERIAIS E MÉTODOS .....  | 19   |
| 2.1. Princípios Ativos .....  | 19   |
| 2.1.1. Preparo de soluções padrão .....   | 19   |
| 2.2. Amostras .....   | 20   |
| 2.2.1. Batatas.....   | 20   |
| 2.2.2. Solo.....  | 21   |
| 2.2.3. Cultivo da batata em vaso (TV).....  | 21   |
| 2.2.4. Cultivo de batata no campo .....   | 23   |
| 2.3. Análise Cromatográfica .....   | 25   |
| 2.4. Curva analítica pelo método da padronização externa.....                                     | 26   |
| 2.5. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura .....     | 27   |
| 2.5.1. Batata.....  | 27   |
| 2.5.1.1. Avaliação da mistura extratora .....   | 28   |
| 2.5.1.2. Planejamento Fatorial $2^3$ .....  | 29   |
| 2.5.1.3. Efeito do ultra-som na eficiência de extração do inseticida thiamethoxam em batata ..... | 31   |

|   |    |
|---|----|
| 2.5.1.4. Avaliação do tempo de congelamento na eficiência de extração do inseticida em batata.....        | 31 |
| 2.5.2. Solo.....  | 32 |
| 2.6. Validação do método analítico.....   | 32 |
| 2.6.1. Seletividade .....   | 32 |
| 2.6.2. Linearidade da resposta do detector.....   | 33 |
| 2.6.3. Limite de detecção e limite de quantificação.....  | 33 |
| 2.6.4. Precisão .....   | 34 |
| 2.6.4.1. Repetitividade.....  | 34 |
| 2.6.4.2. Precisão Intermediária.....  | 34 |
| 2.6.5. Exatidão .....   | 35 |
| 2.7. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de batata do comércio de Viçosa-MG.....                     | 35 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 37 |
| 3.1. Caracterização das amostras de batata e solo.....  | 37 |
| 3.2. Análise cromatográfica .....   | 38 |
| 3.3. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura .....             | 39 |
| 3.3.1. Avaliação da presença de metanol na mistura extratora .....  | 39 |
| 3.3.2. Planejamento Fatorial 2 <sup>3</sup> .....   | 41 |
| 3.3.3. Efeito do ultra-som na eficiência de extração dos inseticidas em batata e solo .....               | 44 |
| 3.3.4. Avaliação do tempo de congelamento na eficiência de extração dos inseticidas em batata e solo..... | 45 |
| 3.4. Metodologia otimizada para extração de thiamethoxam em batata.....                                   | 47 |
| 3.5. Metodologia otimizada para extração de clorpirifós e thiamethoxam em solo.....                       | 48 |
| 3.6. Validação do método analítico.....   | 48 |
| 3.6.1. Seletividade .....   | 49 |
| 3.6.2. Linearidade da resposta do detector.....   | 51 |
| 3.6.3. Limite de detecção e limite de quantificação.....  | 54 |

|   |    |
|---|----|
| 3.6.4. Precisão .....   | 54 |
| 3.6.4.1. Repetitividade .....   | 55 |
| 3.6.4.2. Precisão Intermediária .....   | 56 |
| 3.6.5. Exatidão .....   | 56 |
| 3.6.5.1. Ensaio de Recuperação .....  | 57 |
| 3.7. Avaliação da dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam durante o ciclo da batata .....   | 59 |
| 3.8. Determinação de resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em plantio de batata realizado no campo ..... | 65 |
| 3.9. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de batata do comércio de Viçosa-MG .....                    | 67 |
| 4. CONCLUSÕES .....   | 68 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....   | 70 |
| APÊNDICE .....  | 81 |

## RESUMO

BITTENCOURT, Leila Moreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2008. **Dissipação e monitoramento dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em tubérculos e solo cultivado com batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Co-orientadores: Antônio Augusto Neves. e Laércio Zambolim.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em plantas de batata, durante seu crescimento e monitorar os resíduos destes agrotóxicos em tubérculos cultivados no sul de Minas Gerais e em amostras do comércio de Viçosa-MG. Primeiramente foi otimizada e validada a técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT). Na etapa de otimização da técnica ESL-PBT, foi realizado um teste preliminar em amostras de batata e solo fortificadas com quantidades conhecidas dos agrotóxicos clorpirifós e thiamethoxam para verificar a eficiência da extração dos inseticidas empregando metanol e acetonitrila como mistura extratora. Posteriormente, foi realizado um experimento obedecendo a um planejamento fatorial  $2^3$  para avaliar quantitativamente os efeitos dos fatores: (1) Proporção de solvente extrator acetonitrila:acetato de etila (2) Força iônica e (3) Tempo de agitação da amostra, na eficiência de extração de clorpirifós em solo e thiamethoxam em amostras de batata e solo. O método otimizado consiste em acrescentar à uma certa quantidade de amostra (1,0000 g de solo e 3,0000 g de batata), pequeno volume de solução aquosa de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,2 mol  $\text{L}^{-1}$  ou água destilada e 8,0 mL de uma mistura extratora (6,5 mL de acetonitrila + 1,5 mL de acetato de etila). A mistura é agitada e levada ao freezer a  $-20^\circ \text{C}$  por 8 horas. O extrato orgânico na fase líquida é submetido à análise por cromatografia gasosa. O método otimizado foi validado determinando-se a seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. Os resultados obtidos mostraram que o método ESL-PBT otimizado é eficiente para análise de resíduos dos inseticidas

clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo, mostrando porcentagens de recuperação superiores a 80 % e limites de detecção abaixo dos limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos para estes agrotóxicos nestas matrizes. No intuito de avaliar a dissipação dos inseticidas em amostras de batata e solo colhidas nos plantios em vaso, o método otimizado e validado foi aplicado. Esse método também foi aplicado para monitorar resíduo destes agrotóxicos em amostras de um plantio em campo. No estudo da dissipação de clorpirifós, foram encontrados quantidades de resíduos maiores tanto no solo quanto nos tubérculos de batata para a dose 2 aplicada (duas vezes a dose recomendada pelo fabricante). Para o solo que recebeu a aplicação da dose 2, a concentração de clorpirifós em cada período analisado era aproximadamente 2 vezes maior do que a concentração obtida quando a dose 1 era aplicada. A concentração final (91º dia) de clorpirifós determinada no solo para a dose 1 aplicada foi aproximadamente 24 vezes maior que nas amostras dos tubérculos de batata. Na avaliação da dissipação de thiamethoxam, concluiu-se que, a quantidade de resíduo encontrada nos tubérculos de batata é menor do que a encontrada no solo, independente da dose aplicada, mostrando que a aplicação da dose 2 conduziu a uma maior quantidade de resíduo em tubérculo de batata. Observou-se também que no final do período (91º dia), a concentração de thiamethoxam em solo é praticamente a mesma independente da dose aplicada.

Não foram detectados resíduos de thiamethoxam em batata cultivadas no sul de Minas Gerais (plantio em campo), porém, foi detectada a presença de resíduos de clorpirifós. Foram também detectadas a presença de clorpirifós em amostras de batata do comércio de Viçosa – MG. Em todos os casos, os níveis encontrados estavam abaixo do limite máximo de resíduo estabelecido pela legislação.

## ABSTRACT

BITTENCOURT, Leila Moreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April 2008. **Dissipation and monitoring of chlorpyrifos and thiamethoxam in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers and soil.** Adviser: Maria Eliana Ribeiro Lopes de Queiroz. Co-advisers: Augusto Antonio Neves and Laércio Zambolim.

The objectives of this study were to evaluate dissipation of insecticides chlorpyrifos and thiamethoxam in potato plants during development and monitor pesticide residues in tubers grown in southern Minas Gerais and in samples collected from retail markets in Viçosa-MG. First, the solid-liquid extraction at partition at low temperature (SLE-PLT) was optimized and validated. At this stage, a preliminary test was performed on soil and potato samples fortified with known amounts of chlorpyrifos and thiamethoxam to test pesticide extraction efficiency using the methanol and acetonitrile mixture. Afterward, a  $2^3$  factorial experiment was carried out to quantitatively assess the effects of the factors (1) proportion of extraction solvent acetonitrile:ethyl acetate, (2) ionic force and (3) time of sample shaking on the extraction efficiency of chlorpyrifos in the soil and thiamethoxam in potato and soil samples. The optimized method consists of adding a specific amount of sample (10000 g of soil and 30000 g of potato), small volume of  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  aqueous solution or distilled water and 8 mL of an extraction mixture (6.5 mL of acetonitrile + 1.5 mL of ethyl acetate). The mixture is agitated and kept in a freezer at  $-20^\circ\text{C}$  for 8 hours. The organic extract in the liquid phase is analyzed by gas chromatography. The optimized method was validated by determining selectivity, linearity limits of detection and quantification, precision and accuracy. The results showed that the SLE-PLT optimized method is efficient for testing chlorpyrifos and thiamethoxam residues in potato and soil, with recuperation percentages over 80% and detection limits below maximum residue limits (MRL) established for these pesticides in these

matrices. The optimized and validated method was applied to assess the dissipation of the insecticides in potato and soil samples collected from containers. This method was also used to monitor residues in field crop samples. The study of chlorpyrifos dissipation showed larger residue quantities in both soil and tubers with dose 2 (twice the dose recommended by the manufacturer). Soil receiving dose 2 had, during each analysis, chlorpyrifos concentration approximately 2 times larger than the concentration obtained with dose 1. The final concentration (91<sup>st</sup> day) of chlorpyrifos found in the soil for dose 1 was approximately 24 times larger than in tuber samples. The analysis of thiamethoxam dissipation found that the amount of residues in potato tubers was lower than in the soil, regardless the dose, showing that dose 2 led to a larger amount of residues in tubers. It was also found that, at the end of the period (on the 91<sup>st</sup> day), the thiamethoxam concentration in the soil was almost the same regardless the applied dose.

No thiamethoxam residues were detected in potatoes grown in southern Minas Gerais (field crops), however, presence of chlorpyrifos residues was confirmed. Chlorpyrifos was also detected in potato samples obtained at retail markets in Viçosa - MG. In all cases, the levels found were below the limit established by law.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Aspectos gerais no estudo de resíduos de agrotóxicos

Para ser registrado como agrotóxico, um composto deve passar por vários testes para determinar sua toxicidade potencial a uma grande variedade de organismos, seu efeito sobre o ambiente, seu comportamento (movimento) neste, sua eficiência agrônômica, etc (BARBOSA, 2004). Apesar de todos estes requisitos, é inevitável a ocorrência de resíduos nas superfícies que receberam aplicações desses produtos, mesmo que em pequenas quantidades (FREITAS JÚNIOR, 1992).

Os agrotóxicos comportam-se diferentemente nos diversos compartimentos naturais (solo, água, ar) de acordo com suas propriedades físicas, métodos de aplicação e condições ambientais (NAVARRO *et al.*, 2004). Muitos desses agrotóxicos podem sofrer alterações na estrutura química durante o período em que permanecem nos vegetais em que foram aplicados, ou mesmo na água para a qual foram carregados ou no solo em que foram adsorvidos. Estes metabólitos ou o próprio produto podem ser ingeridos juntos com os alimentos ou com a água, acarretando problemas de saúde em indivíduos que entrarem em contato com tais fontes de contaminação (LIMA *et al.*, 2001).

A formulação do agrotóxico utilizado no controle de pragas na agricultura é um fator relevante, uma vez que, pode afetar a taxa e o grau de penetração do produto no vegetal ou a tenacidade do depósito superficial. A penetração do produto pode aumentar a degradação (dissipação) se o composto atingir o tecido sub-cuticular com alta atividade metabólica. Porém, se o mesmo permanecer na cutícula mais ou menos inerte na folha ou fruto, pode persistir por um longo período protegido das influências externas (FRANCO, 2004).

Quanto à penetração dos produtos, FRANCO (2004) citam três categorias de resíduos: resíduos extracuticulares, resíduos cuticulares e

resíduos subcuticulares. Os resíduos extracuticulares podem ser facilmente removidos por lavagens. Já os resíduos cuticulares podem ser removidos por lavagem e raspagem. Resíduos subcuticulares não podem ser eliminados ou mesmo diminuídos por meios mecânicos, exceto em poucos casos como descascando o fruto, onde a maior parte da penetração é restrita à casca.

A quantidade do composto químico, inicialmente colocada na superfície da planta pelo tratamento, é chamada “depósito”. O depósito torna-se resíduo tão logo ele seja afetado por conversões metabólicas ou outros processos de alteração que causem atenuação e degradação (FRANCO, 2004). Segundo a portaria 3, de 16 de janeiro de 1992, do ministério da saúde, “resíduo de agrotóxico” é definido como sendo uma substância ou mistura de substâncias remanescentes ou existentes em alimentos ou no meio ambiente, decorrente do uso ou da presença de agrotóxicos e afins, inclusive quaisquer derivados específicos, tais como, produtos de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas consideradas toxicológica e ambientalmente importantes.

Os fatores envolvidos no desaparecimento dos resíduos podem ser divididos em dois grupos. No primeiro, encontram-se aqueles comuns a todos os produtos: a planta tratada, a formulação do agrotóxico e os fatores que causam o desaparecimento rápido dos depósitos superficiais como chuva, umidade, vento, temperatura e luminosidade. No segundo grupo estão os fatores que dependem da natureza do produto, incluindo produto e decomposição química, sendo que muitos agrotóxicos podem penetrar nos tecidos da planta e serem metabolizados ou quimicamente alterados, afetando a quantidade e persistência dos resíduos (PESSINI, 2003).

Dentre os fatores climáticos a chuva é o que apresenta os maiores efeitos sobre os resíduos de agrotóxicos. A ocorrência de chuva no intervalo de 24 horas após a aplicação do agrotóxico leva a uma maior remoção deste na superfície da planta (FRANCO, 2000).

Portanto, o estudo de resíduos de agrotóxicos em vegetais, água e solo deve ser feito de forma minuciosa, levando-se em consideração os diversos fatores, tais como, condições ambientes, formulação do produto, etc; os quais podem influenciar na quantidade de resíduo de agrotóxicos nestes compartimentos.

## 1.2. Resíduos de agrotóxicos em alimentos

Os fatores limitantes da produção de alimentos são, sem dúvida, as pragas, doenças e plantas invasoras. Isto é mais significativo em agroecossistemas que apresentam desequilíbrio ambiental (ARAÚJO *et al.*, 2001). No controle de pragas, doenças e plantas invasoras o manejo mais indicado são as práticas culturais e a resistência genética, entretanto, a utilização de agrotóxicos tem sido empregada sendo a primeira alternativa. Estes são utilizados com o objetivo de manter o potencial produtivo e a qualidade dos produtos alimentícios (SILVA *et al.*, 2005), seja de origem animal ou vegetal.

Os agrotóxicos possibilitam a manutenção do potencial produtivo das culturas e têm auxiliado no controle de vetores de diversas doenças; entretanto, seu uso desordenado e excessivo vem provocando impactos sobre o ambiente. Além do impacto ambiental causado, o uso indiscriminado dos agrotóxicos causa a contaminação dos alimentos, em níveis, às vezes, muito altos causando problemas de saúde ao consumidor. Com isso, a análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos tem sido uma prioridade nas pesquisas realizadas atualmente, a fim de começar uma avaliação extensiva da qualidade do alimento e evitar possíveis riscos à saúde humana (LAMBROPOULOU *et al.*, 2002).

Com esta finalidade, a ANVISA realiza um programa nacional de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos. A ANVISA elabora o desenho do Projeto e define a logística das ações em articulação com as Coordenações de Vigilância Sanitária de alguns Estados, como: Acre, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Tocantins, com o Departamento de Inspeção Municipal de Alimentos do município de São Paulo, com os laboratórios de resíduos de agrotóxicos do Instituto Adolfo Lutz – IAL/SP, Instituto Otávio Magalhães – IOM/FUNED/MG, Instituto Tecnológico de Pernambuco – ITEP/PE e ainda do Laboratório Central do Paraná – LACEN/PR e com o apoio da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/INCQS.

As análises das amostras de alface, banana, batata, cenoura, laranja, maçã, mamão, morango e tomate, num total de 4345, coletadas em pontos de venda das grandes redes de supermercados destes Estados no período de 2001 a 2004, mostraram irregularidades em 931 amostras, das quais 776 apresentam resíduos de agrotóxico não permitido para as culturas em estudo e 155 amostras apresentaram resíduos de agrotóxico acima do limite máximo permitido pela legislação em vigor (ANVISA, 2005).

Este programa possibilita avaliar a qualidade dos alimentos consumidos pela população. Tem também como finalidade caracterizar as fontes de contaminação, proporcionar uma avaliação quanto ao uso inadequado e não autorizado de agrotóxicos e estimular a adoção de Boas Práticas Agrícolas (BPA) para as diversas culturas desenvolvidas em nosso país (ANVISA, 2005).

Em geral, níveis de resíduos de agrotóxicos superiores aos permitidos pela legislação podem ser evitados com o uso das BPA, com o número correto de aplicações, dosagens, recomendações e intervalo de tempo adequado entre a última aplicação do agrotóxico e a colheita.

Estudos recentes realizados por CISCATO *et al.* (2004) em amostras de hortaliças comercializadas na CEAGESP, Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo, mostraram que 31,9% das amostras apresentaram resíduos de um ou mais agrotóxicos. Destes, 1,1% estavam acima do Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitido e 20,9% não eram registrados para a cultura de acordo com a legislação vigente na época. Estes autores argumentaram que o emprego das Boas Práticas Agrícolas poderia ter evitado a contaminação de duas amostras de tomates que apresentaram resíduos acima do LMR permitido.

Amostras de hortaliças comercializadas nas Centrais de Abastecimento de Campinas foram analisadas por OVIEDO *et al.* (2003). Estes evidenciaram o uso inadequado de piretróides, sendo detectados resíduos de permetrina acima do limite máximo permitido em alface e tomate. Além disso, também foi constatado em tomate a presença de cipermetrina, embora o seu uso não seja autorizado para este tipo de cultura.

Um estudo de mercado foi conduzido por BOLLES *et al.* (1999) para quantificar, durante 12 meses, resíduos de clorpirifós em amostras de maçã,

suco de laranja, leite, coletados em 200 lojas de mantimentos dos Estados Unidos. Aproximadamente 90% das amostras não continham resíduos do inseticida em nível detectável, e as demais amostras mostraram resíduos abaixo do LMR permitido pela legislação dos Estados Unidos.

MONTEMURRO *et al.* (2002) realizaram um estudo para avaliar o efeito da formulação comercial na persistência do inseticida clorpirifós em amostras de laranja. As formulações avaliadas foram; Clorpiran 40 CE (concentrado emulsionável), Dursban 75 WG (grânulos) e Pyninex ME (microcápsulas); revelando que os resíduos deste inseticida começaram a diminuir somente após 65 dias do tratamento com produto comercial na forma de microcápsulas. Já o clorpirifós presente nas formulações Clorpiran 40 CE e Dursban 75 WG, dissipou-se rapidamente em amostras de laranja, com tempo de meia-vida de 6,3 e 2,2 dias, respectivamente.

PESSINI (2003) avaliou resíduos de acetamiprid e thiamethoxam em tomates estaqueado em diferentes modalidades de aplicação. Para o inseticida thiamethoxam o valor de resíduo permitido por legislação é de  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  para este binômio agrotóxico/cultura. Neste estudo, observaram-se resíduos de thiamethoxam em folhas acima deste limite; sendo de  $0,06$  e  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ , nos tratamentos onde o produto foi aplicado na forma de sachê e pulverização, respectivamente. Das análises realizadas, não se detectou resíduos nos frutos analisados.

### **1.3. Limites máximos de resíduos e período de carência**

Limite máximo de resíduos (LMR) é um conceito de caráter toxicológico estabelecido na legislação, definido como sendo a quantidade máxima de resíduos de agrotóxico legalmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até seu consumo, expressa em partes do agrotóxico por um milhão de partes de alimento (em peso) – ppm ou  $\text{mg kg}^{-1}$  (GORENSTEIN, 2004).

Por intervalo de segurança ou período de carência, entende-se o intervalo de tempo, expresso em dias, entre a última aplicação do agrotóxico e

a colheita ou comercialização do vegetal, abate ou ordenha do animal, conforme for o caso, a fim de que os resíduos estejam de acordo com os limites máximos permitidos” (FERST, 1991).

Embora a maioria das amostras naturais apresente concentrações de agrotóxicos abaixo do limite máximo do resíduo (LMR) permitido, o controle analítico de um grande número de amostras agrícolas deve ser realizado continuamente (SIMPLÍCIO *et al.*, 1999, BOLLES *et al.*, 1999 ; PESSINI, 2003; RANDHAWA *et al.*, 2007).

Para controlar o uso de agrotóxicos e os níveis de resíduos desses compostos nos alimentos, órgãos internacionais e nacionais estabelecem os LMR permitidos para cada binômio agrotóxico/cultura. No âmbito internacional, esses limites são estabelecidos pela Comissão do Codex, segundo recomendações do grupo de peritos em resíduos de agrotóxicos das Organizações das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), Organização Mundial de Saúde (OMS) e Joint Meeting on Pesticides Residues (JMPR).

No âmbito nacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão regulador responsável pela avaliação toxicológica dos agrotóxicos, seus componentes e afins, definindo normas relativas ao estabelecimento dos limites máximo de resíduos. O Programa de Análises de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), monitora resíduos de agrotóxicos em diversas amostras de alimentos, verificando se a concentração do agrotóxico está de acordo com o LMR estabelecido pela legislação vigente.

A presença de resíduos de agrotóxicos acima dos limites permitidos ou em culturas não autorizadas pode originar não somente problemas de saúde pública e de ordem ecológica, como também barreira comercial, tanto no mercado interno como no mercado externo (OVIEDO *et al.*, 2003), sendo assim, é de total importância verificar se as concentrações dos agrotóxicos usados excedem seu limite máximo de resíduo.

O intervalo entre a aplicação do produto e o consumo é de suma importância para garantir que os resíduos de agrotóxicos se encontram abaixo do LMR permitido. Variações neste intervalo de tempo ocorrem em função das

condições climáticas, da cultura, do tipo de solo, do produto usado etc. (FERST, 1991).

#### **1.4. Características da cultura da batata**

A batata, *Solanum tuberosum* L., é originária da região Andina, na América do Sul. Seu cultivo tem grande importância no cenário agrícola brasileiro apresentando em 2004 uma área cultivada de 138.364 ha e uma produtividade média de 20,84 t/ha. Nos últimos 30 anos, a produção brasileira de batata cresceu cerca de 70%, o que representa uma disponibilidade anual de aproximadamente 15 kg por habitante (SANTOS, 2004), destacando-se os estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná como os maiores produtores. Somente o Estado de Minas Gerais produziu de janeiro a julho de 2007; 1,3 milhão de toneladas de batata. Este volume é quase 14% superior ao do mesmo período de 2006, quando a produção foi de 994.131 toneladas. Estes números foram divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e consolidam a posição do Estado como maior produtor de batatas do país (ROCHA, 2007).

A batata é multiplicada plantando-se os tubérculos que são chamadas de batata-semente. É pelo plantio de batata-semente certificada que se evitam grandes perdas causadas por patógenos transmitidos pela própria “semente” (LOPES, 1989).

No intuito de oferecer uma alternativa de produção de batata de qualidade, socialmente correta e ecologicamente sustentável vêm-se apostando em um modelo de Produção Integrada da Batata (PIB) no Estado de Minas Gerais, que visa reduzir o uso de agrotóxicos e as agressões ao meio ambiente, bem como ofertar produtos agrícolas de maior qualidade (ZAMBOLIM *et al.*, 2007)

A Produção Integrada de Batata representa a opção técnica e ambientalmente vantajosa para o controle dos principais problemas que afetam esta cultura, como o ataque por um grande número de patógenos e artrópodos-praga, desde a germinação até a colheita (ZAMBOLIM *et al.*, 2007).

Um dos fatores limitantes da cultura da batata está intimamente ligado à sua suscetibilidade a pragas e doenças, o que faz com que altas quantidades de produtos fitossanitários sejam utilizadas ao longo do ciclo da cultura. Várias espécies de insetos com hábitos subterrâneos têm ocasionado severos danos em lavouras de batata, ao perfurarem, escarificarem e abrirem galerias nos tubérculos, depreciando-os comercialmente (MALVONI *et al.*, 2006).

Os insetos e ácaros constituem um dos maiores problemas da cultura da batata. O controle dessas pragas constitui um dos fatores que mais oneram o custo de produção devido ao preço dos inseticidas e aos custos de sua aplicação. Para as condições brasileiras, as pragas que exigem atenção nesse sentido são o pulgão-verde (*Myzus persicae*), o bicho-mineiro ou minador-das-folhas (*Liriomyza huidobrensis*) e a larva-alfinete (*Diabrotica* sp.) (MALVONI *et al.*, 2006).

O pulgão-verde prefere se alimentar das folhas mais velhas, podendo causar danos consideráveis por diminuir a área foliar. Esses danos são diretos, pela sucção contínua da seiva, e indiretos pela transmissão de doenças causadas por vírus. Os danos indiretos são muito mais sérios, principalmente quando a lavoura tem como objetivo a produção da batata-semente (BITTENCOURT *et al.*, 1985).

O bicho-mineiro ou minador-das-folhas colocam os ovos nas folhas e se alimentam do suco. As larvas que saem dos ovos cavam galerias ou minam as folhas, por isso a praga chama-se bicho minador. Em ataque mais severos, a folhagem das plantas pode ser totalmente destruída (BITTENCOURT *et al.*, 1985).

Quanto à larva-alfinete, os principais danos são causados pelas larvas, que se alimentam do tubérculo em formação, deixando-os completamente furados. Quando adulto, são besouros verdes, com manchas amarelas nos élitros. Eles se alimentam das folhas e as danificam, deixando-as perfuradas (BITTENCOURT *et al.*, 1985). De acordo com NAKANO *et al.* (2001), o desenvolvimento desta larva é favorecido por maior umidade e pela matéria orgânica do solo.

Outra doença de grande importância no Brasil é a sarna-comum, uma vez que a frequência em lavouras da região Sudeste e Nordeste vem causando

preocupação crescente (ZAMBOLIM *et al.*, 2007). A doença é causada pela bactéria *Streptomyces scabies*, causando a depreciação do tubérculo pela formação de lesões corticosas superficiais ou profundas.

## **1.5. Controle de pragas no cultivo da batata**

O Brasil é o terceiro maior mercado consumidor de agrotóxico no mundo, com aproximadamente 400 ingredientes ativos registrados no país (CALDAS *et al.*, 2004; ANVISA, 2007).

O controle de pragas pelo uso desses produtos é geralmente o método de controle mais usado em hortaliças, sendo muito difícil o cultivo na forma intensiva, sem o uso destas substâncias, ainda que tenham sido empregados grandes esforços na última década buscando-se métodos alternativos (FERST, 1991). O cultivo de batata utiliza uma grande quantidade de agrotóxicos, principalmente inseticidas (CAUX *et al.*, 1996), dentre eles, merecem destaque, os inseticidas clorpirifós, da classe dos organofosforados e thiamethoxam, pertencente ao grupo dos neonicotinóides (KUHAR & ALVAREZ, 2008).

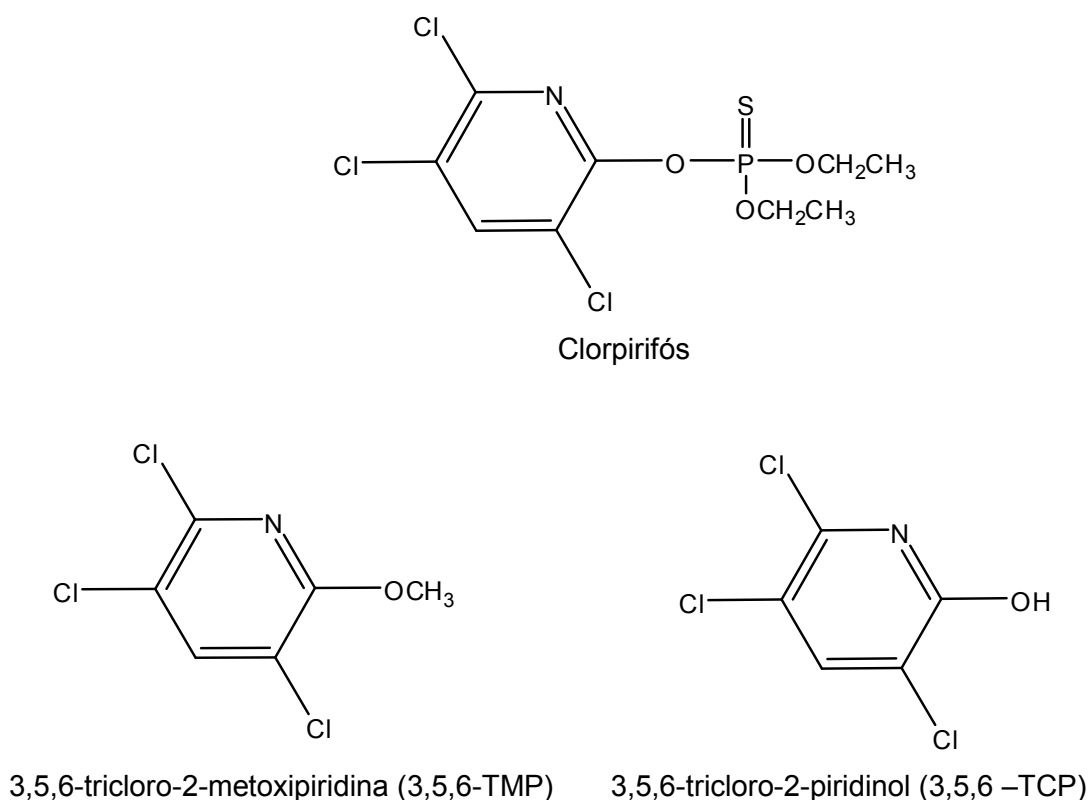
Os inseticidas organofosforados pertencem a uma classe de agrotóxico extensamente usada na agricultura para controlar um número elevado de pestes em uma grande variedade de culturas (LAMBROPOULOU *et al.*, 2002). São menos persistentes no ambiente que os organoclorados, contudo, possuem efeito tóxico mais agudo para seres humanos e outros mamíferos (GALLI *et al.*, 2006).

Estes inseticidas ligam-se à enzima acetilcolinesterase, inibindo a sua atividade normal que é a de degradar as moléculas do neurotransmissor excitatório, acetilcolina, após a transmissão de um impulso nervoso. A enzima acetilcolinesterase, quando ligada à molécula do inseticida, é dita fosforilada (organofosforados) ou carmabilada (carbamatos) e, no caso de organofosforados, esta ligação é bem mais forte e praticamente irreversível. A inibição da acetilcolinesterase resulta em acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso central devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos. Os sintomas de

intoxicação por organofosforados e carbamatos incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do sistema nervoso central e morte (MARÇON, 2008).

O clorpirifós [0,0-dietil-0-(3,5,6-tricloro-piridil)-fósforo-tionato] (Figura 1) é um dos inseticidas mais utilizados nos Estados Unidos (SHACKELFORD *et al.*, 1999) e também no Brasil para o controle de pragas em diversas culturas. Apresenta baixa solubilidade em água ( $1,39 \text{ mg L}^{-1}$ ) e alto coeficiente de sorção no solo ( $K_{oc} = 849 \text{ mL g}^{-1}$ ). É altamente tóxico (Classe II), sendo que o limite máximo permitido para resíduos de Clorpirifós varia de 0,01 a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  de acordo com a cultura (PENA *et al.*, 2003; MONTEMURRO *et al.*, 2002, ANVISA, 2005). Devido à elevada lipossolubilidade que apresenta, clorpirifós é absorvido pelo organismo humano, especialmente pela pele, além de membranas mucosas e pela via respiratória (PENA *et al.*, 2003).

Alguns fatores como, temperatura e teor de umidade podem facilitar a degradação do clorpirifós e levar à formação de seus metabólitos organoclorados, 3, 5, 6 tricloro-2-piridinol (TCP) e 3,5,6 tricloro-2-metoxipiridina (TMP), mostrados na Figura 1.

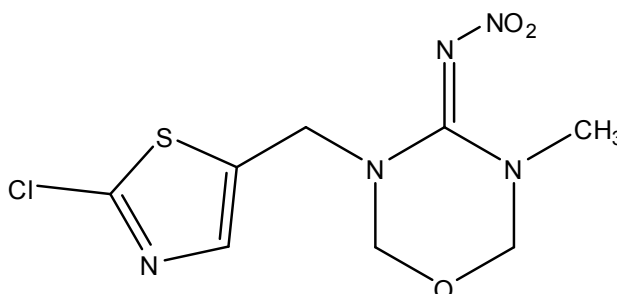


**Figura 1.** Fórmula estrutural do inseticida clorpirifós e de seus metabólitos 3,5,6-TCP e 3,5,6-TMP

O thiamethoxam, um neonicotinóide usado no controle de pragas de batata é potencialmente carcinogênico. Os inseticidas neonicotinóides normalmente são muito pouco tóxicos devido à sua grande seletividade para os receptores nicotínicos dos insetos, mas mesmo assim apresentam alguns problemas para outros seres vivos.

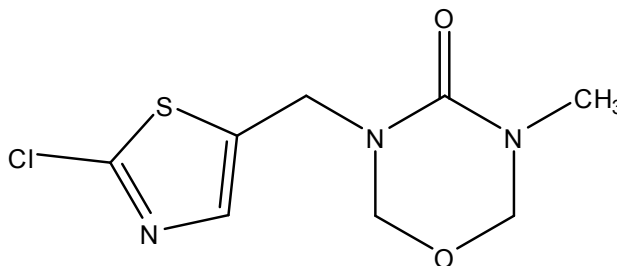
Os neonicotinóides imitam o neurotransmissor excitatório (acetilcolina) e competem com ele pelos seus receptores. Ao contrário da ligação natural da acetilcolina com o seu receptor esta ligação é persistente, uma vez que os neonicotinóides são insensíveis à ação da enzima acetilcolinesterase. Ou seja, a acetilcolinesterase degrada moléculas de acetilcolina, mas não consegue degradar as moléculas de neonicotinóides. A ativação dos receptores de acetilcolina é prolongada de modo anormal, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso central devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos. Embora os neonicotinóides atuem de modo totalmente distinto dos organofosforados e carbamatos, os sintomas resultantes da intoxicação são semelhantes e incluem tremores, convulsões e, eventualmente, colapso do sistema nervoso central e morte.

O thiamethoxam (3-(2-cloro-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-[1,3,5]oxadiazinan-4-ilideno-N-nitroamina) é um inseticida sistêmico (SCHWARTZ *et al.*, 2000), de massa molar igual a  $291,7 \text{ g mol}^{-1}$  e ponto de fusão de  $139,1^\circ\text{C}$ . A fórmula estrutural deste composto encontra-se representada na Figura 2.



**Figura. 2.** Fórmula estrutural do inseticida thiamethoxam.

Segundo SCHWARTZ *et al.* (2000), o thiamethoxam sofre degradação sob condições fotolíticas, podendo haver desta maneira, a formação do seu metabólito 3-(2-chloro-thiazolyl-5-ylmethyl)-5-methyl-4-oxo-oxodiazine, cuja estrutura encontra-se na Figura 3.



**Figura. 3.** Fórmula estrutural do 3-(2-chloro-thiazolyl-5-ylmethyl)-5-methyl-4-oxo-oxadiazine.

A ANVISA (2005, 2007), estabelece o valor de limite máximo de resíduos (LMRs), para o clorpirifós e thiamethoxam em batatas, sendo de 1,0 e 0,02 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. O LMR estabelecido para o inseticida clorpirifós foi alterado devido a permissão da aplicação do produto comercial no sulco do plantio de batata, passando de 0,1 para 1,0 mg kg<sup>-1</sup>. O LMR leva em consideração a ingestão diária aceitável (IDA), que vem a ser a quantidade máxima que, ingerida diariamente durante toda a vida, parece não oferecer risco apreciável à saúde (GORENSTEIN, 2004).

## 1.6. Técnicas de extração de agrotóxicos

Os resíduos de agrotóxicos são encontrados extensivamente em nosso ambiente, incluindo água, solo e alimentos (LIU *et al.*, 2005). A necessidade de se analisar esses resíduos em alimentos para efeito de regulamentação e controle depara-se continuamente com problemas analíticos complexos, porque uma grande variedade de substâncias estruturalmente diferentes deve ser determinada em alimentos de forma geral (NUNES *et al.*, 2002).

Recentemente, as técnicas para análise de resíduos de agrotóxicos em frutas e vegetais evoluíram significativamente em termos de simplificação,

minimização e melhoria de extração e purificação das amostras. Os métodos analíticos consistem geralmente na extração do analito da matriz, purificação para remoção de impurezas, pré-concentração dos analitos, e finalmente a análise instrumental (KAIPPER *et al.*, 2001). As etapas de pré-tratamento, incluindo-se o isolamento e pré-concentração do analito de interesse ocupam, geralmente, a metade do tempo total da análise (SILVA *et al.*, 2005). A seleção dos procedimentos a serem efetuados depende das características da amostra, e da concentração do analito (PACÁKOVÁ *et al.*, 1996).

A etapa de preparação da amostra torna-se um desafio para obtenção de métodos mais rápidos e que utilizem menores quantidades de solventes orgânicos (DÓREA *et al.*, 2004). Sendo assim, para conseguir um método prático e de confiança para a determinação de resíduos de agrotóxicos em matrizes complexas, diversas técnicas vem sendo estudadas.

Os métodos mais freqüentemente usados para determinar agrotóxicos, em geral empregam a extração líquido-líquido (ESCUDELOS-MORENAS *et al.*, 2003), entretanto, é uma técnica de difícil automação, demorada, pode formar emulsões estáveis e que consome grande quantidade de solventes orgânicos (SANTOS NETO *et al.*, 2005).

A extração em fase sólida (ŠTAJNBAHER *et al.*, 2003; SANTOS NETO *et al.*, 2005; OBANA *et al.*, 2003) é uma alternativa de extração de agrotóxicos, em que observa-se uma diminuição do tempo de análise, consumo de solvente, não forma emulsões e apresenta alto potencial para automatização. A Dispersão da Matriz em Fase Sólida (DMFS) foi desenvolvida para amostras sólidas e semi-sólidas e tem como principais características o uso de pequenas quantidades de amostras, pouco consumo de solvente orgânico, realização da extração numa única etapa com o clean-up, baixo custo e rapidez na extração. Essa técnica foi aplicada para analisar agrotóxicos em frutas e outros trabalhos têm sido desenvolvidos para análise de agrotóxicos em grãos, peixe, leite, vegetais e em plantas medicinais (LOPES *et al.*, 2003).

Outra técnica bastante divulgada é a extração por fluido supercrítico (NUNES *et al.*, 2002) uma vez que o fluido supercrítico tem propriedades tanto de um gás quanto de um líquido, oferecendo a vantagem de participar como

ambas as fases nas técnicas de extração, além de exibir elevado coeficiente de difusão, que favorece o processo de extração, sobretudo em matrizes sólidas.

A técnica de microextração em fase sólida (ZAMBONIN *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 1999) apresenta uma série de vantagens com relação a simplicidade da amostragem, baixo custo, a não utilização de solventes, maior precisão e fácil automação, porém, diversas desvantagens relacionadas a estabilidade e a sensibilidade da fibra foram relatadas por LAMBROPOULOU *et al.* (2002). A extração assistida por microonda (SINGH *et al.*, 2004) tem sido utilizada como uma técnica refinada para facilitar a extração de resíduos de agrotóxicos em vários alimentos. Tem como vantagens, baixo custo do equipamento, tempo curto de extração e baixo consumo de solventes.

Em 2004, GOULART desenvolveu uma metodologia simples e de baixo custo, para análise de deltametrina e cipermetrina em leite, utilizando a extração líquido-líquido e purificação por precipitação a baixa temperatura. Segundo GOULART (2004), a taxa de recuperação do método foi de 93 % para cipermetrina e 84 % para deltametrina, comprovando que essa técnica é eficiente.

O método foi aperfeiçoado por VIEIRA (2005) para extração simultânea de cipermetrina, deltametrina,  $\lambda$ -cialotrina e permetrina em amostras de água e solo. A técnica passou a ser denominada extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT).

A extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura e a extração líquido-líquido com purificação em baixa temperatura tem revelado bons resultados na extração de agrotóxicos em matrizes sólidas e líquidas, respectivamente, devido à possibilidade de se realizar em um único passo a extração de agrotóxicos e o clean-up dos extratos (PINHO, 2007).

O método consiste em colocar a amostra líquida ou sólida em contato com um solvente extrator, miscível em água, menos denso que a água e que se mantenha líquido a  $-20$  °C. Posteriormente, a amostra é agitada e levada ao freezer por um período mínimo de seis horas. Nesta etapa, a fase aquosa, junto com a amostra (no caso de amostras de solo) congela ficando na parte inferior do recipiente utilizado, e a fase superior contendo o solvente e os

agrotóxicos extraídos é filtrada utilizando sulfato de sódio anidro com o intuito de eliminar possível presença de água. Finalmente, a amostra é analisada por cromatografia gasosa.

DARDENGO (2007) adaptou a técnica de ESL-PBT para análise simultânea dos inseticidas clorpirifós,  $\lambda$ -cialotrina, cipermetrina e deltametrina em batatas. As amostras de batatas foram picadas em pedaços pequenos e triturados em um multiprocessador doméstico até a total homogeneização, isto é, até que uma polpa fosse obtida. Em seguida, uma pequena quantidade de amostra (3,0000 g) ficou em repouso por aproximadamente 3 horas para que houvesse maior interação dos agrotóxicos com a amostra. Posteriormente, estas amostras foram submetidas aos procedimentos de extração e os extratos analisados por cromatografia gasosa.

Alguns solventes que podem ser empregados nesta técnica são acetonitrila, acetato de etila, metanol e acetona. Esta técnica simples, envolvendo a partição em baixa temperatura apresenta como vantagens: baixo consumo de solvente e ausência de etapas de clean-up, muitas vezes requeridas em várias outras técnicas de extração.

## 1.7. Técnicas de análise

Métodos analíticos têm sido propostos, estudados e empregados para extração, análise e quantificação de agrotóxicos de forma geral. Os métodos mais utilizados são baseados em técnicas de cromatografia em fase gasosa (CG) ou líquida (CL) (LIMA *et al.*, 2001). Estas técnicas são muito importantes na análise química em função de sua facilidade em efetuar as separações, identificar e quantificar as espécies presentes na amostra (GALLI *et al.*, 2006).

As aplicações das técnicas cromatográficas cresceram intensamente nos últimos 50 anos; isto se deve não somente ao desenvolvimento de novos tipos de técnicas de preparação, separação e detecção, mas também pela necessidade crescente de técnicas mais precisas e sensíveis para caracterização e quantificação dos analitos de interesse em matrizes complexas (GALLI *et al.*, 2006).

Na cromatografia gasosa, pequena quantidade de solvente contendo os componentes dissolvidos é introduzida no injetor com auxílio de microseringas. A temperatura do bloco injetor deve ser suficientemente elevada para garantir a completa vaporização dos componentes. Sendo assim, eles podem ser carreados pelo gás de arraste ( $N_2$  ou  $H_2$ ) para a coluna, a qual também é mantida em temperatura controlada (ARAÚJO, 2004; COLLINS *et al.*, 2006).

As fases estacionárias das colunas são sólidos ou líquidos, os quais recobrem sólidos inertes com diferentes filmes orgânicos não-voláteis (fase estacionária). A eluição é feita por fluxo de um gás inerte que atua como fase móvel (SKOOG *et al.*, 2002). Os componentes volatilizados se dividem entre a fase estacionária e a fase móvel quando passam pela coluna, de acordo com o grau de afinidade destes compostos com as fases. Ao serem eluídos, os componentes passam pelo detector, sendo detectados e registrados em gráficos denominados cromatogramas (ARAÚJO, 2004).

Os componentes das amostras após separação em coluna são detectados por dispositivos cromatográficos denominados detectores. Os principais detectores empregados em cromatografia gasosa são, detector por captura de elétrons (OVIEDO *et al.*, 2003), fotométrico de chama (CISCATO *et al.*, 2004) e ionização de chama (ENGELMANN *et al.*, 2003).

Os sistemas de cromatografia gasosa e cromatografia líquida podem ser acopladas a um espectrômetro de massa (MS), oferecendo a vantagem da confirmação e da quantificação simultânea de um grande número de agrotóxicos.

Estas técnicas apresentam-se como uma excelente ferramenta de separação, com informações quantitativas úteis sobre as espécies separadas. A quantificação de compostos orgânicos utilizando técnicas cromatográficas fornece excelentes resultados com limites de detecção na faixa de nanogramas a microgramas/L ( $ng\ L^{-1}$  a  $\mu g\ L^{-1}$ ), dependendo do detector utilizado e da técnica de extração.

A grande limitação da cromatografia a gás é a necessidade de que a amostra seja volátil ou termicamente estável (DEGANI *et al.*, 1998; COLLINS *et al.*, 2006). Sendo assim, dependendo das características físico-químicas do

analito em estudo, preferencialmente deve-se trabalhar com a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) por ser muito útil na quantificação de agrotóxicos não volatilizáveis.

Diversas pesquisas têm sido realizadas utilizando a cromatografia gasosa como ferramenta de separação, identificação e quantificação de agrotóxico em diferentes matrizes.

Em 2004, CISCATO e colaboradores analisaram resíduos de agrotóxicos em hortaliças. A identificação e quantificação dos resíduos foram feitas por cromatografia gasosa, utilizando-se detector por captura de elétrons. Os pesticidas mais freqüentes encontrados foram: clorotalonil (12,1%), metamidofós (6,0%), captana (4,9%) e clorpirifós (4,4%). Das hortaliças analisadas, alface (82,6%), repolho (56,2%) e tomate (46,1%) foram as que apresentaram maior incidência de amostras com resíduos. A identificação do metabólito 3,5,6-trichloro-2-pyridinol em amostras de urina humana foi realizada por SHACKELFORD (1999) utilizando um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa. As amostras de urina foram colhidas de pessoas que tiveram um contato direto com o inseticida clorpirifós, identificando nível de resíduo do metabólito entre 2,6 a 85,5 ng mL<sup>-1</sup>.

OBANA *et al.* (2003) determinou resíduos de thiamethoxam em vegetais/frutas, incluindo batata. As análises foram realizadas por LC-MS, obtendo-se porcentagem de recuperação entre 79 a 82%, dependendo do nível de fortificação.

Resíduos de thiamethoxam foram determinados por DIEZ-RODRÍGUEZ *et al.* (2006) em folhas de cafeeiro. Os resultados obtidos utilizando CG-MS indicaram translocação uniforme do inseticida nos três terços das plantas do café, quando aplicado no solo. Foi constatada também a persistência do thiamethoxam, cujos resíduos foram encontrados até oito meses após a aplicação.

URZEDO *et al.* (2006) fizeram um estudo da dissipação do inseticida thiamethoxam em solos da região de Lavras-MG. A determinação do thiamethoxam nas amostras foi realizada adaptando-se a metodologia desenvolvida pela Novartis Crop Protection AG, utilizando como técnica de análise a cromatografia líquida. Neste estudo, o thiamethoxam mostrou-se

bastante estável nos solos avaliados, com valores de meia-vida entre 117 e 301 dias.

## **1.9. Objetivos**

### **Objetivo Geral:**

- ✓ Avaliar a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em tubérculos de batata, durante seu ciclo evolutivo.
- ✓ Monitorar a presença de resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em tubérculos de batatas coletadas em culturas que receberam aplicações desses produtos.

### **Objetivos Específicos:**

- ✓ Otimizar e validar a técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) para extração e análise dos inseticidas clorpirifós em solo e thiamethoxam em batata e solo.
- ✓ Avaliar, ao longo do ciclo evolutivo da batata, a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam no tubérculo e no solo.
- ✓ Monitorar os resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em batatas que foram cultivadas no sul de Minas Gerais (plantio em campo) e em amostras do comércio de Viçosa-MG.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Princípios Ativos

Neste trabalho foram utilizados padrões de clorpirifós (99,0 % (m/m) - Chem Service) e thiamethoxam (97,0 % (m/m) – Syngenta) e os produtos comerciais Sabre (450 g L<sup>-1</sup> - Dow Agrosiences Industrial LTDA) e Actara (10 g kg<sup>-1</sup> - Syngenta), contendo os princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam, respectivamente.

Os produtos comerciais foram aplicados em duas modalidades de plantio de batata (vaso e campo) de acordo com a dose recomendada, sendo de 4 L ha<sup>-1</sup> para o produto comercial Sabre e 15 kg ha<sup>-1</sup> para o Actara.

#### 2.1.1. Preparo de soluções padrão

Soluções estoque de 1.000,0 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas pela solubilização de quantidades adequadas dos princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam em acetonitrila (Mallinckrodt/ HPLC). A partir de diluições das soluções estoque, foram preparadas, em acetonitrila, soluções padrão para cada princípio ativo na concentração de 100,0 mg L<sup>-1</sup>. As demais soluções foram obtidas a partir de diluições destas soluções.

Os princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam foram extraídos dos produtos comerciais Sabre (clorpirifós) e Actara (thiamethoxam) empregando a técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), respectivamente. Para isto, 1,0 mL do produto comercial Sabre foi diluído com água em um balão volumétrico de 10,0 mL. À uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi misturado 8,0 mL do solvente extrator acetonitrila. Essa mistura foi agitada por 30 minutos em um agitador mecânico a 180 rpm. Após agitação, a mistura foi mantida em freezer por aproximadamente 12 horas e a fase orgânica contendo o analito de interesse foi recuperada, por filtração simples,

em um balão volumétrico de 10,0 mL, sendo o princípio ativo clorpirifós quantificado por cromatografia gasosa. Para a extração do princípio ativo thiamethoxam, 1,00 g do produto comercial Actara foi dissolvido em 4,0 mL de água. A esta solução foi adicionado 8,0 mL de acetonitrila. Posteriormente, a mistura foi agitada por aproximadamente 45 minutos e levada ao freezer por 12 horas. O extrato orgânico foi recuperado em balão volumétrico de 10,0 mL e o princípio ativo thiamethoxam também quantificado por cromatografia gasosa.

Para o processo de otimização e validação da técnica ESL-PBT as amostras de batata e solo foram fortificadas com soluções dos princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam em concentrações conhecidas preparadas a partir destes princípios ativos extraídos dos produtos comerciais.

## **2.2. Amostras**

### **2.2.1. Batatas**

Para o processo de otimização e validação da técnica ESL-PBT para análise de clorpirifós e thiamethoxam, foram utilizadas amostras comerciais de batatas, isentas de inseticidas. As amostras foram trituradas e fortificadas com soluções dos princípios ativos extraídos dos produtos comerciais em concentrações conhecidas. A mistura foi deixada em repouso por 3 horas para evaporação do solvente.

A técnica ESL-PBT depois de otimizada e validada, foi aplicada para avaliar, ao longo do ciclo evolutivo da batata, a dissipação dos princípios ativos em amostras de batata cultivadas em vaso (TV) e para monitorar resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em um plantio de batata em campo (TC). Nesses cultivos foram aplicados os produtos comerciais, Sabre e Actara. A técnica validada foi também aplicada em amostras de batatas adquiridas no comércio de Viçosa.

### **2.2.2. Solo**

Um solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo, coletado no campus da Universidade Federal de Viçosa (Tiro de Guerra, TG) em um único ponto na profundidade de 0 a 20 cm, depois da retirada da cobertura vegetal, foi utilizado nas etapas de otimização e validação da técnica ESL-PBT. Este local foi escolhido por se tratar de uma área isenta da aplicação de agrotóxicos.

As amostras de solo utilizadas nos processos de otimização, validação e dissipação, foram secas ao ar e à sombra e peneiradas em malha de 2 mm.

Na otimização e validação do método, amostras de solo foram fortificadas com quantidades conhecidas dos agrotóxicos, homogeneizada e a mistura deixada em repouso por 2 horas para evaporar o solvente. Após esse período as amostras foram submetidas ao processo de extração (ESL-PBT) e os extratos analisados por cromatografia gasosa.

O método otimizado e validado foi aplicado também em amostras de solo (aproximadamente 3,0 kg por vaso) obtidas no experimento em vaso, para avaliar a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam durante o ciclo da batata. Estes foram coletados nos mesmos períodos de coleta das amostras de batata. As amostras foram homogeneizadas, e submetidas ao processo de quarteamento para se obter uma amostra representativa para análise.

### **2.2.3. Cultivo da batata em vaso (TV)**

Um experimento foi realizado no período de 09 de agosto a 08 de novembro de 2007 para estudar a dissipação do clorpirifós e thiamethoxam. Neste estudo, batatas-sementes certificadas pela EMBRAPA, foram plantadas em vasos (diâmetro: 19 cm; altura: 16 cm), como mostra a Figura 4. Em doze vasos foram aplicados no sulco de plantio 0,1 mL da suspensão do produto comercial Sabre, contendo o princípio ativo clorpirifós. Esta dose está de acordo com a dose recomendada de 4 L ha<sup>-1</sup> (cf. cálculos APÊNDICE). Em outros doze vasos foram aplicadas no sulco de plantio duas vezes a dose recomendada pelo fabricante, isto é, 0,2 mL da suspensão do produto comercial Sabre. Para o thiamethoxam foram aplicados no sulco de plantio 0,4

g e 0,8 g do produto comercial Actara 10WG, correspondendo a  $15 \text{ kg ha}^{-1}$ , dose recomendada pelo fabricante e ao dobro dessa dose ( $30 \text{ kg ha}^{-1}$ ), sendo empregados doze vasos para cada dose (cf. cálculos APÊNDICE). Doze vasos foram mantidos como testemunha (branco), isto é, nenhum produto foi aplicado. Os vasos foram mantidos em local aberto, no Laboratório de Química Analítica – LAQUA/UFV, sendo irrigado a cada três dias, com o auxílio de uma mangueira.



**Figura 4.** Plantio de batata em vasos, tratadas com os produtos comerciais Sabre e Actara para estudo da dissipação de clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo.

Em resumo, os tratamentos realizados em vasos (TV) foram os seguintes:

**TV1** - Aplicação de clorpirifós na dose recomendada (dose 1).

**TV2** - Aplicação de clorpirifós duas vezes a dose recomendada (dose 2).

**TV3** - Aplicação de thiamethoxam na dose recomendada (dose 1).

**TV4** - Aplicação de thiamethoxam duas vezes a dose recomendada (dose 2).

**TV5** – Testemunha

As coletas das amostras de batata e solo para análise foram realizadas em quatro períodos distintos em diferentes épocas do plantio, para cada tratamento:

**CV1** - 7ª semana após o plantio (49º dia).

**CV2** - 9ª semana após o plantio(63º dia).

**CV3** - 11ª semana após o plantio(77º dia).

**CV4** - 13ª semana após o plantio(91º dia).

Dos doze vasos utilizados em cada tratamento, foram analisados três vasos no final de cada período. Para cada vaso foram colhidas todas as amostras de batata e solo. Todas as análises foram feitas em triplicata sendo as mesmas submetidas à etapa de extração e analisadas por cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (CG/DCE).

#### **2.2.4. Cultivo de batata no campo**

Outro experimento foi realizado em campo, no município de Senador Amaral, Estado de Minas Gerais no período de 5 de setembro de 2007 a 25 de fevereiro de 2008 (Figura 5). Este experimento teve como objetivo monitorar a presença de resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em culturas de batata que receberam diferentes tratamentos.

Os tratamentos aplicados a estas culturas foram os seguintes:

**TC1** - Testemunha

**TC2** - Aplicação de clorpirifós no sulco de plantio na dose recomendada.

**TC3** - Aplicação de thiamethoxam no sulco de plantio na dose recomendada.

**TC4** - Aplicação de clorpirifós no sulco de plantio na dose recomendada + duas pulverizações.

**TC5** - Aplicação de clorpirifós no sulco de plantio na dose recomendada + duas pulverizações + uma pulverização na seca das ramas de batata.

**TC6** – Aplicação de clorpirifós em duas pulverizações.

**TC7** - Aplicação de clorpirifós em uma pulverização na seca das ramas da batata.

**TC8** - Aplicação de clorpirifós em duas pulverizações + uma pulverização na seca das ramas da batata.



**Figura 5.** Plantio de batata em campo para monitorar resíduos de clorpirifós e thiamethoxam.

O experimento foi montado em blocos casualizados com 8 tratamentos e três repetições. O espaçamento da cultura foi de 0,85 m entre fileiras (três fileiras correspondentes às repetições) por 0,2 m entre plantas. Cada fileira correspondeu a um bloco de 1,0 m de comprimento. Os blocos foram separados entre si por uma linha de plantas sem tratamento, considerada como bordadura.

A pulverização foi realizada com um pulverizador costal manual marca Jacto com bico tipo leque, gastando-se 500 L ha<sup>-1</sup> da calda inseticida. O inseticida empregado foi o clorpirifós na dose de 4 L ha<sup>-1</sup> diluídos em 500 L de água.

A aplicação do produto comercial Sabre (clorpirifós) no sulco de plantio foi de 0,1 mL/cova e do Actara (thiamethoxam) 0,4 g/cova (cf. APÊNDICE).

As duas pulverizações com o produto comercial clorpirifós foram realizadas durante o ciclo da batata (antes e depois do período de floração) de acordo com a dose recomendada pelo fabricante.

A pulverização no período da seca das ramas da batata foi feita no final do ciclo da batata.

Após o final do ciclo da batata, foram colhidas cinco amostras de tubérculos de batata para cada tratamento com três repetições. As amostras, em triplicata, foram trituradas e submetidas às etapas de extração pela técnica ESL-PBT e analisadas por CG/DCE.

Todas as amostras de tubérculos de batata foram acondicionadas em sacos plásticos, vedadas, identificadas e armazenadas em freezer. No momento das análises, foram deixadas à temperatura ambiente até descongelarem.

### **2.3. Análise Cromatográfica**

As análises dos extratos orgânicos foram feitas em um cromatógrafo a gás Shimadzu CG-17 A, equipado com os detectores de ionização em chama (DIC) e por captura de elétrons (DCE).

No processo de otimização da técnica extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura as análises foram realizadas com o detector por ionização em chama. Já nas etapas de validação da técnica e quantificação dos inseticidas nas diferentes modalidades de plantio de batata, as análises foram realizadas por CG com detecção por captura de elétrons. Por questões técnicas foi necessária a utilização de dois detectores diferentes durante o desenvolvimento da parte experimental.

A identificação dos compostos nos cromatogramas foi feita pela comparação dos tempos de retenção dos analitos nos extratos das amostras com os tempos de retenção dos padrões clorpirifós e thiamethoxam.

A coluna utilizada e as condições analíticas otimizadas para as análises estão descritas a seguir:

- Coluna capilar Agilent Technologies HP-5 com fase estacionária composta de 5 % de fenil e 95 % de dimetilpolisiloxano, 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.
- Programação da coluna: 200 °C  $\xrightarrow{10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$  260 °C
- Tempo total de análise: 6 minutos
- Temperatura do injetor: 280 °C
- Temperatura do detector (DCE ou DIC): 300 °C
- Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$
- Gás de arraste: Nitrogênio
- Vazão do gás de arraste: 1,2  $\text{mL min}^{-1}$
- Divisão de fluxo: 1:5

## 2.4. Curva analítica pelo método da padronização externa

As quantificações dos princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam nos extratos das amostras de batata e solo foram feitas pela comparação das áreas atribuídas aos mesmos com as áreas de uma curva analítica.

Soluções padrão de concentrações crescentes do agrotóxico clorpirifós (5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 50,0; 100,0; 150,0 e 300,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e thiamethoxam (10,0; 20,0; 50,0; 100,0; 200,0; 500,0 e 1000,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) foram analisadas no cromatógrafo a gás com detector por captura de elétrons nas condições analíticas pré-estabelecidas. Após análise dessas soluções, construíram-se curvas analíticas, para cada princípio ativo, relacionando as áreas do pico atribuído à substância de interesse com a concentração (variável) do agrotóxico. Por regressão linear foram obtidas as equações das retas, as quais foram utilizadas no cálculo das concentrações dos agrotóxicos nos extratos das amostras. Nas análises realizadas com o detector por ionização em chama foram injetadas soluções padrão de clorpirifós nas concentrações de 50,0 à 140,0  $\text{mg L}^{-1}$  e thiamethoxam de 50,0 à 150,0  $\text{mg L}^{-1}$ , em acetonitrila.

## **2.5. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura**

No processo de otimização da técnica ESL-PBT para análise dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo, por CG/DIC, alguns parâmetros importantes (solvente extrator, tempo de agitação, força iônica, tempo de congelamento) foram avaliados a fim de se obter os melhores rendimentos. Esses parâmetros que influenciam os resultados do método foram avaliados usando amostras de batata e solo fortificadas.

### **2.5.1. Batata**

A otimização da extração de clorpirifós em batata foi realizada por DARDENGO (2007). Nesta metodologia, 3,0000 g de polpa de batata, previamente fortificada, foram colocadas em contato com 1,0 mL de água, 6,5 mL de acetonitrila e 2,5 mL de acetato de etila, seguida de sonicação por 10 minutos. Posteriormente, a mistura foi deixada em freezer a aproximadamente

-20 °C por 12 horas. Decorrido o tempo estabelecido, o extrato foi passado por um papel de filtro, previamente lavado com 5,0 mL de acetonitrila, contendo 1,5 g de sulfato de sódio anidro. O extrato foi recuperado e aferido em balão volumétrico de 10,0 mL com acetonitrila e armazenado em frasco de vidro no freezer até o momento da análise cromatográfica.

As condições ótimas para análise do agrotóxico clorpirifós em tubérculos empregando a técnica ESL-PBT e identificação por cromatografia gasosa foram determinadas, obtendo-se porcentagens de recuperação média de 93% para este inseticida. A técnica otimizada foi empregada nas demais análises de amostras de batata.

Para otimização do método de extração do thiamethoxam em batata, amostras de batata congeladas, após atingirem a temperatura do ambiente, foram picadas em pedaços pequenos e trituradas em um liquidificador até a total homogeneização. Em seguida, 3,0000 g de amostra, foram fortificadas com 0,5 mL da solução contendo o inseticida thiamethoxam, a fim de se obter no extrato final, uma concentração igual a 50,0 mg L<sup>-1</sup>.

Após este processo, as amostras foram levadas ao ultra-som por 2 minutos e deixadas em repouso por aproximadamente 3 horas para que houvesse maior interação dos agrotóxicos com a amostra. Posteriormente, estas amostras foram submetidas aos procedimentos de extração, para determinação das condições ótimas para análise do inseticida thiamethoxam.

Em seguida são descritos os parâmetros avaliados para otimização da extração do thiamethoxam em batata.

#### **2.5.1.1. Avaliação da mistura extratora**

Em um teste preliminar a eficiência da extração do inseticida thiamethoxam em batata foi avaliada empregando metanol e acetonitrila como mistura extratora.

Às amostras de batata (3,0000 g) fortificadas com thiamethoxam, foram acrescentados 1,0 mL de água, e 8,0 mL de uma mistura contendo acetonitrila e metanol (Mallinckrodt – grau agrotóxico) em diferentes proporções, como representado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Volumes adicionados de acetonitrila e metanol para a extração de thiamethoxam em batata.

| Metanol (mL) | Acetonitrila (mL) |
|--------------|-------------------|
| 0,00         | 8,00              |
| 0,20         | 7,80              |
| 0,50         | 7,50              |
| 1,00         | 7,00              |

Após a adição da mistura extratora, as amostras foram mantidas sob agitação mecânica por 30 minutos. Posteriormente, foram levadas ao freezer a -20 °C por aproximadamente 12 horas. O extrato obtido após filtração simples com sulfato de sódio anidro (10,0 mL) foi armazenado em frascos de vidro no freezer até o momento da análise cromatográfica.

#### **2.5.1.2. Planejamento Fatorial 2<sup>3</sup>**

Após o teste preliminar da adição de metanol na mistura extratora, foi realizado um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> para estudar o comportamento simultâneo de três fatores: (1) Proporção de solvente extrator acetonitrila:acetato de etila (2) Força iônica e (3) Tempo de agitação da amostra. Cada uma destas variáveis foi avaliada em dois níveis (-1, e +1), conforme representado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Planejamento fatorial  $2^3$  para as amostras de batata fortificadas com thiamethoxam.

| Ensaio  | Fatores codificados |      |      | Fatores originais          |  |                    |
|---------|---------------------|------|------|----------------------------|--|--------------------|
|         | F(1)                | F(2) | F(3) | (1) Proporção<br>ACT:ACET* | (2) Força iônica<br>(mol L <sup>-1</sup> ) | (3) Tempo<br>(min) |
| 1 e 2   | -                   | -    | -    | 7,8:0,2                    | 0,0  | 30                 |
| 3 e 4   | +                   | -    | -    | 6,5:1,5                    | 0,0  | 30                 |
| 5 e 6   | -                   | +    | -    | 7,8:0,2                    | 0,200                                      | 30                 |
| 7 e 8   | +                   | +    | -    | 6,5:1,5                    | 0,200                                      | 30                 |
| 9 e 10  | -                   | -    | +    | 7,8:0,2                    | 0,0  | 45                 |
| 11 e 12 | +                   | -    | +    | 6,5:1,5                    | 0,0  | 45                 |
| 13 e 14 | -                   | +    | +    | 7,8:0,2                    | 0,200                                      | 45                 |
| 15 e 16 | +                   | +    | +    | 6,5:1,5                    | 0,200                                      | 45                 |

\*ACT = acetonitrila e ACET = acetato de etila

Como se trata de um experimento  $2^3$  foram realizados 8 experimentos com uma repetição totalizando 16 ensaios.

Em frasco de vidro transparente com tampa, de 30,0 mL de capacidade foram medidos 3,0000 g de batata fortificada com quantidade conhecida do thiamethoxam (166,67  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Em seguida, foram adicionados 1,0 mL de água ou de solução de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  à 0,2 mol L<sup>-1</sup>, correspondente aos níveis (-) e (+), respectivamente. Foram adicionados 8,0 mL da mistura extratora indicada no planejamento fatorial (Tabela 2). Essa solução foi mantida sob agitação mecânica, em mesa agitadora (Tecnal TE – 420), por 30 ou 45 minutos correspondentes aos níveis (-) e (+), respectivamente, a 25 °C e a 180 oscilações por minuto (opm).

As amostras foram mantidas em freezer a -20 °C por aproximadamente 12 horas. Após esse período, a fase orgânica líquida foi recuperada por filtração simples contendo 1,5 g de sulfato de sódio anidro (Nuclear – P.A.). O papel de filtro foi previamente lavado com aproximadamente 5,0 mL de acetonitrila. Os volumes dos extratos foram ajustados para 10,0 mL em balão volumétrico, transferidos e armazenados em frascos de vidro no freezer até o momento da análise cromatográfica.

As porcentagens de recuperação obtidas em cada ensaio foram utilizadas para avaliar os efeitos de cada fator e de suas interações.

#### **2.5.1.3. Efeito do ultra-som na eficiência de extração do inseticida thiamethoxam em batata**

Após efetuar o planejamento fatorial  $2^3$  usando as condições de melhor rendimento de extração, avaliou-se o efeito das ondas ultra-sônicas na extração do inseticida thiamethoxam.

Às amostras de batata (3,0000 g) previamente fortificadas (item 2.5.1), adicionou-se a mistura de solvente extrator ideal (6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila), estabelecida no planejamento. Posteriormente, as amostras foram levadas ao ultra-som por 5 e 10 minutos. As etapas posteriores, congelamento e passagem por papel de filtro com sulfato de sódio anidro, foram idênticas às descritas no item 2.5.1.2).

#### **2.5.1.4. Avaliação do tempo de congelamento na eficiência de extração do inseticida em batata**

Usando as condições de extração com melhores resultados (mistura extratora: 6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila, tempo de agitação de 45 minutos e força iônica no meio) foi também avaliado o tempo de congelamento na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos. Para avaliar o tempo de congelamento, as amostras foram mantidas em gavetas do freezer ou diretamente no congelador na região sem gelo ou em contato com uma superfície coberta por gelo, para simular tempos de congelamentos diferentes. Após o tempo de congelamento; lento (12h), médio (8h) e rápido (4h), as amostras foram filtradas, recuperadas e analisadas por cromatografia gasosa.

### **2.5.2. Solo**

Para otimização da extração de clorpirifós e thiamethoxam em solo; amostras de solo (1,0000 g) coletadas no campus da UFV foram fortificadas com 500 µL da solução contendo os dois inseticidas, obtendo-se uma concentração final de 500,0 mg kg<sup>-1</sup>. A mistura foi seca ao ar por 2 horas e posteriormente submetida aos mesmos procedimentos de extração realizados na determinação das condições ótimas para análise de thiamethoxam em batata (itens 2.5.1.1 à 2.5.1.4).

## **2.6. Validação do método analítico**

A validação do método é feita para garantir que a metodologia analítica é exata, reprodutível e flexível sobre uma faixa específica que uma substância será analisada (FILHO, 2003).

Neste trabalho foram validados o método para determinação de clorpirifós e thiamethoxam em amostras de batata e solo. Os parâmetros de desempenho analítico normalmente encontrado para validação de métodos de separação são: seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão (RIBANI *et al*, 2004).

As amostras preparadas para o processo de validação foram analisadas por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons (CG-DCE).

### **2.6.1. Seletividade**

A seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método instrumental de separação. A seletividade foi avaliada comparando-se os cromatogramas dos extratos obtidos após extração das matrizes de batata e solo isentas dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam com os cromatogramas dos extratos de matrizes de batata e solo fortificadas e analisadas conforme o procedimento otimizado.

### **2.6.2. Linearidade da resposta do detector**

É a habilidade em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito nas amostras, em uma dada faixa de concentração dos padrões, denominada faixa de trabalho (IMOTO, 2004).

A linearidade de resposta do detector foi verificada pela curva analítica preparada, conforme descrito no item 2.4, em que padrões de agrotóxicos em acetonitrila foram preparados nas concentrações: clorpirifós (5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 50,0; 100,0, 150,0 e 300,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e thiamethoxam (10,0; 20,0; 50,0; 100,0; 200,0; 500,0 e 1000,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) para análise por CG/DCE e clorpirifós (30,0; 50,0; 80,0; 120,0; 150,0 e 180,0  $\text{mg L}^{-1}$ ) e thiamethoxam (50,0; 70,0; 80,0; 90,0 e 150,0  $\text{mg L}^{-1}$ ) para análise por CG/DIC.

Após a análise cromatográfica, foram construídas curvas analíticas, relacionando as áreas com as concentrações dos analitos. A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação determinado pela regressão linear.

### **2.6.3. Limite de detecção e limite de quantificação**

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. Já o limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental (RIBANI *et al*, 2004).

Os limites de detecção e quantificação foram determinados pelo método da relação sinal-ruído. Foram realizadas várias injeções dos extratos, de matrizes fortificadas, em concentrações decrescentes, sendo de 20,0; 10,0; 5,0; 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o inseticida clorpirifós e 50,0; 20,0; 10,0 e 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o thiamethoxam. A concentração que proporcionou um sinal três vezes maior que o ruído foi estabelecido como sendo o limite de detecção e um sinal dez vezes maior que o ruído, o limite de quantificação (COLLINS *et al*, 1990).

#### **2.6.4. Precisão**

Representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (RIBANI *et al*, 2004).

A precisão dos métodos ESL-PBT foi avaliada sob condições de repetitividade e precisão intermediária.

##### **2.6.4.1. Repetitividade**

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas por um mesmo método sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições e em um curto intervalo de tempo (RIBANI, 2004).

A repetitividade do método ESL-PBT foi determinada pela extração dos agrotóxicos em amostras de batata e solo fortificadas com os inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em concentrações iguais a 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 5,0 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, seguindo o procedimento otimizado, em sete repetições, para o cálculo da estimativa do desvio padrão relativo, conforme recomendações do INMETRO (2003).

##### **2.6.4.2. Precisão Intermediária**

A precisão intermediária indica o efeito de variações dentro do mesmo laboratório, devido a diferentes eventos como diferentes dias, equipamentos ou analistas. O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar se no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados (RIBANI *et al.*, 2004).

Para a avaliação da precisão intermediária do método de ESL-PBT foram analisados três extratos de batata e solo das matrizes fortificadas nas mesmas concentrações do item 2.6.4.1, seguindo o procedimento otimizado. Esses extratos foram obtidos pelo mesmo analista, que empregou o método

otimizado em diferentes dias, 1°, 7° e 30°. Essas análises foram realizadas no mesmo laboratório, empregando o mesmo instrumento de análise. O efeito deste parâmetro foi avaliado através da porcentagem de recuperação e do coeficiente de variação.

#### **2.6.5. Exatidão**

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (RIBANI, 2004). O processo utilizado para avaliar a exatidão do método ESL-PBT foi o ensaio de recuperação.

#### **Ensaio de Recuperação**

A recuperação é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI *et al.*, 2004).

Nos ensaios de recuperação as substâncias de interesse foram adicionadas a amostras de batata e solo em concentrações próximas a 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação (LQ) do CG-DCE.

Os valores das recuperações obtidas nos ensaios foram utilizados para avaliar este parâmetro.

### **2.7. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de batata do comércio de Viçosa-MG**

A técnica ESL-PBT desenvolvida para determinação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em batata foi aplicada em amostra de batata adquirida no comércio local da cidade de Viçosa-MG.

A amostra foi acondicionada em sacos plásticos, identificadas e conservadas em freezer. No momento da extração a amostra foi deixada à

temperatura do ambiente até descongelarem. Em seguida, a batata foi triturada sem lavar (casca + polpa), até que uma massa homogênea fosse obtida e 3,0000 g de amostra foi submetida ao processo de extração e os extratos obtidos foram analisados no CG-DCE. As análises foram realizadas em duplicata.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Caracterização das amostras de batata e solo

No processo de otimização e validação da técnica ESL-PBT, foram empregadas batatas monalisa obtidas no comércio de Viçosa, após confirmar, por análise cromatográfica do extrato, a ausência de qualquer espécie que pudesse interferir na análise cromatográfica.

O solo utilizado no procedimento de otimização e validação da técnica apresentou as características químicas e texturais (Latosolo Vermelho-Amarelo) descritas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Algumas características físicas, químicas e texturais do solo.

| Características                            | Valores |
|--|---------|
| pH em H <sub>2</sub> O                     | 4,73    |
| Matéria orgânica (%)                       | 5,90    |
| CTC* (cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) | 6,42    |
| Silte (%)                                  | 7,00    |
| Areia fina (%)                             | 15,00   |
| Areia grossa (%)                           | 18,00   |
| Argila (%)                                 | 60,00   |

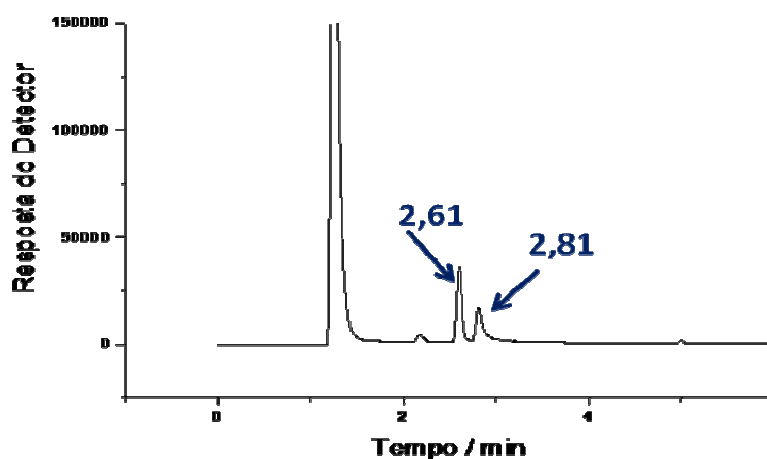
\*CTC = Capacidade de troca catiônica

O solo em estudo foi caracterizado como de textura argilosa. Solos com texturas argilosas apresentam alto potencial para adsorver os agrotóxicos, uma vez que possuem grande área superficial (TAVAREZ, 2007).

### 3.2. Análise cromatográfica

As condições cromatográficas estabelecidas permitiram separar adequadamente os inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em um tempo relativamente curto. A identificação dos compostos de interesse foi realizada comparando o tempo de retenção do composto da amostra com o de um padrão (COLLINS *et al.*, 2006).

Na Figura 6 está representado um cromatograma de uma solução padrão contendo os inseticidas clorpirifós e thiamethoxam na concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . A análise dos padrões foi realizada utilizando-se as condições analíticas descritas no item 2.3. Os picos com tempo de retenção ( $t_R$ ) iguais a: 2,61 e 2,81 minutos correspondem ao clorpirifós e thiamethoxam, respectivamente.



**Figura 6.** (a) - Cromatograma de uma solução padrão contendo os inseticidas clorpirifós e thiamethoxam na concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em que:  $t_R = 2,61$  min: clorpirifós e  $t_R = 2,81$  min: thiamethoxam.

Observa-se pela Figura 6 que o tempo total de análise foi de 6 minutos. Apesar do  $T_R$  dos agrotóxicos serem próximos, a resolução foi adequada, não havendo sobreposição dos picos, permitindo a identificação e quantificação dos analitos

### **3.3. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura**

A determinação de agrotóxicos em baixas concentrações envolve uma ou mais etapas de preparação da amostra utilizando diferentes técnicas de extração e concentração, que visam isolar e concentrar os analitos de interesse (MORAIS *et al.*, 2007).

Na extração de resíduos de agrotóxicos em amostras complexas, a extração em fase única com a partição induzida pelo abaixamento de temperatura tem se destacado (GOULART, 2004; VIEIRA, 2005; DARDENGO, 2007; PINHO, 2007).

DARDENGO (2007) observou que alguns parâmetros, tais como, proporção de solvente extrator, tempo de agitação e velocidade de congelamento das amostras influenciava na porcentagem de recuperação dos analitos. Desta maneira, alguns fatores foram avaliados na otimização da técnica ESL-PBT para análise de clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo.

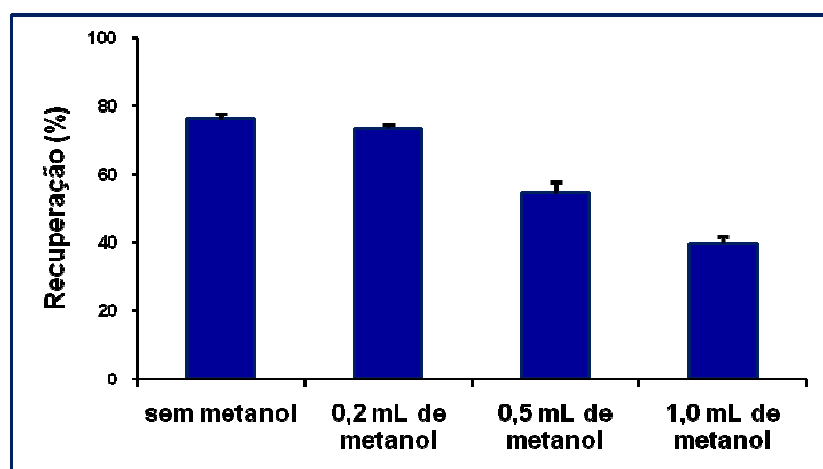
#### **3.3.1. Avaliação da presença de metanol na mistura extratora**

A acetonitrila tem sido empregada na extração de diversos agrotóxicos, obtendo-se excelentes resultados (GOULART, 2004; VIEIRA, 2005; DARDENGO, 2007; PINHO, 2007). Para que a eficiência desse solvente seja aumentada pode-se alterar a sua polaridade adicionando outros solventes à acetonitrila. Essas alterações não podem modificar as características da mistura extratora com relação à formação da fase única e das características de congelamento.

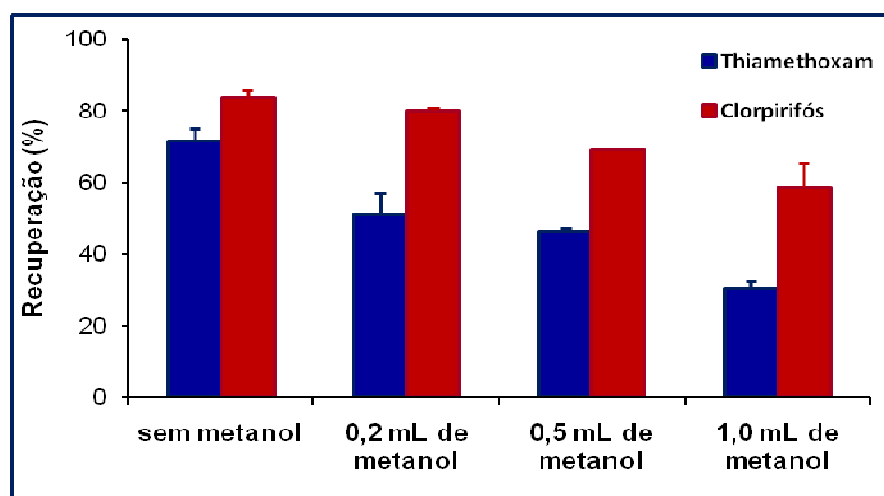
Neste trabalho, a eficiência da técnica de extração para clorpirifós e thiamethoxam em solo e thiamethoxam em batata foi avaliada pela adição de metanol na mistura extratora (item 2.5.1.1), tornando-a mais polar.

Nas Figuras 7 e 8 estão representadas as porcentagens de recuperação do agrotóxico estudado em batata e solo, usando como solvente extrator 8,0

mL de uma mistura acetonitrila:metanol nas proporções: 8,0:0,0; 7,80:0,20; 7,50:0,50 e 7,0:1,0 mL.



**Figura 7.** Porcentagens de recuperação de thiamethoxam em batata, utilizando como solvente extrator acetonitrila e diferentes proporções de metanol.



**Figura 8.** Porcentagens de recuperação de clorpirifós e thiamethoxam em solo, utilizando como solvente extrator acetonitrila e diferentes proporções de metanol.

Observa-se nas Figuras 7 e 8, uma queda acentuada na porcentagem de recuperação (%R) dos inseticidas em amostras de batata e solo quando volumes crescentes de metanol são adicionados à mistura extratora. Observa-

se ainda que, a diminuição na porcentagem de recuperação do thiamethoxam é mais acentuada com este aumento da quantidade de metanol. Isto porque, a solubilidade em água (a 25 °C) dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam é de 0,00139 g L<sup>-1</sup> e 4,10 g L<sup>-1</sup>, respectivamente, portanto, o thiamethoxam que possui maior solubilidade em água tenderá a ficar mais retido na fase aquosa, tendo a sua extração prejudicada.

Observou-se também que com o aumento da quantidade de metanol o congelamento da fase aquosa, no intervalo de 12 h em freezer, não foi satisfatório, dificultando a filtração das amostras.

Devido à baixa eficiência da técnica de extração ao utilizar metanol na mistura extratora, o metanol não foi utilizado em estudos posteriores. O comportamento simultâneo dos três fatores; proporção do solvente extrator acetonitrila:acetato de etila, força iônica e tempo de agitação foram estudados por um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>.

### **3.3.2. Planejamento Fatorial 2<sup>3</sup>**

O planejamento fatorial é uma importante ferramenta estatística e, devido a sua simplicidade, vem sendo cada vez mais utilizada pelos químicos analíticos para diferentes amostras e propósitos, pois possibilita a interpretação dos resultados considerando todos os parâmetros experimentais envolvidos, além de fornecer o efeito das possíveis interações entre as variáveis selecionadas (COSTA *et al.*, 2006).

Após o teste preliminar com adição de pequenos volumes de metanol à mistura extratora, realizou-se um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, como descrito no item 2.5.1.2. Foram avaliados os efeitos simultâneo de três fatores: (1) Proporção de solvente extrator acetonitrila:acetato de etila (2) Força Iônica e (3) Tempo de agitação da amostra, tendo como resposta as porcentagens de recuperação (%R) de cada princípio ativo em batata e solo.

Os ensaios, realizados em duplicata, geraram 16 respostas que permitiram calcular as porcentagens de recuperação média, os efeitos de cada fator e as interações entre os fatores na extração dos inseticidas, utilizando o programa estatístico Statistica 6.0<sup>®</sup> (StatSoft) (Tabela 4 e 5).

**Tabela 4.** Porcentagens de recuperação média, efeitos de cada fator e interações entre os fatores ( $\pm$  estimativa do erro experimental) para o inseticida thiamethoxam em batata.

|                                    | <b>Thiamethoxam</b> |
|------------------------------------|---------------------|
| Recuperação Média                  | 73,47 $\pm$ 2,10    |
| (1) Proporção de Solvente Extrator | 2,32 $\pm$ 4,19     |
| (2) Força Iônica                   | 1,48 $\pm$ 4,19     |
| (3) Tempo de Agitação              | 2,74 $\pm$ 4,19     |
| (1) e (2)                          | 0,11 $\pm$ 4,19     |
| (2) e (3)                          | 4,12 $\pm$ 4,19     |
| (1) e (3)                          | 5,80 $\pm$ 4,19     |

**Tabela 5.** Porcentagens de recuperação média, efeitos de cada fator e interações entre os fatores ( $\pm$  estimativa do erro experimental) para clorpirifós e thiamethoxam em solo.

|                                    | <b>Clorpirifós</b> | <b>Thiamethoxam</b> |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|
| Recuperação Média                  | 89,33 $\pm$ 1,03   | 74,65 $\pm$ 2,10    |
| (1) Proporção de Solvente Extrator | 4,37 $\pm$ 2,06    | 9,29 $\pm$ 4,21     |
| (2) Força Iônica                   | -3,49 $\pm$ 2,06   | -0,08 $\pm$ 4,21    |
| (3) Tempo de Agitação              | -0,88 $\pm$ 2,06   | 5,81 $\pm$ 4,21     |
| (1) e (2)                          | 0,73 $\pm$ 2,06    | 0,21 $\pm$ 4,21     |
| (2) e (3)                          | -0,73 $\pm$ 2,06   | 8,50 $\pm$ 4,21     |
| (1) e (3)                          | 0,73 $\pm$ 2,06    | 0,46 $\pm$ 4,21     |

A análise estatística dos resultados contidos nas Tabelas 4 e 5 mostram que nenhum dos fatores tem efeito significativo, ao nível de 95% de probabilidade, na porcentagem de recuperação dos agrotóxicos nas matrizes.

Embora os fatores, nos níveis avaliados, não tenham causado efeito significativo nas porcentagens de recuperação dos princípios ativos, observa-se uma tendência dos fatores avaliados. Na Tabela 4, observa-se que a importância das variáveis 1 e 3 estão no seu efeito de interação (5,80  $\pm$  4,19). Isto significa que a resposta média do fator 1 dentro do nível (+) do fator 3 é

maior do que no nível (-) do fator 3. Portanto, os fatores 1 e 3 devem ser utilizados no nível (+). A força iônica não tem significância, podendo ser usada em qualquer nível, dentro do limite estudado. Desta forma, os níveis dos fatores que permitiram uma maior porcentagem de recuperação do thiamethoxam em batata foram: proporção de solvente acetonitrila:acetato de etila 6,5:1,5 (mL), força iônica no meio e tempo de agitação de 45 minutos.

Na Tabela 5 estão representadas as porcentagens de recuperação média, os efeitos de cada fator e as interações entre estes fatores para a extração do clorpirifós e thiamethoxam no solo. Observou-se, como tendência, a influência dos níveis dos fatores na porcentagem de extração dos agrotóxicos em solo.

Para a extração de clorpirifós em solo, não houve interações relevantes entre os fatores. Porém, os fatores 1 e 2, avaliados separadamente, mostraram uma tendência importante. Já o fator 3, tempo de agitação, não teve significância, podendo ser usada em qualquer nível, dentro do limite estudado. Portanto, os parâmetros otimizados para a extração de clorpirifós em solo foram: proporção de solvente extrator acetonitrila:acetato de etila 6,5:1,5 (mL) (+), ausência de força iônica (-) no meio e tempo de agitação de 30 minutos (-).

Para a extração do thiamethoxam em solo, os fatores 1, 3 e a interação entre os fatores 2 e 3 podem ser avaliados. Por meio da interação entre os fatores 2 e 3, observa-se que melhores resultados são obtidos quando esses fatores estão no nível (+). O fator 1, proporção de solvente extrator, também deve ser trabalhado no nível (+), como mostra a Tabela 5. Portanto, as condições ótimas para extração de thiamethoxam em solo foram: proporção de solvente extrator acetonitrila:acetato de etila 6,5:1,5 (mL) (+), força iônica no meio (+) e tempo de agitação de 45 minutos (+).

A diminuição da polaridade do solvente extrator favoreceu a extração dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em amostras de batata e solo. O aumento da força iônica, em geral, provoca a redução da solubilidade do analito na matriz, facilitando a sua extração (VIEIRA, 2005). Isto foi observado para a extração do thiamethoxam em batata e em solo. Porém, neste trabalho, verificou-se para a extração do clorpirifós em solo, que o aumento na adição de

sais pode dificultar a formação de uma fase única, diminuindo a porcentagem de extração dos compostos.

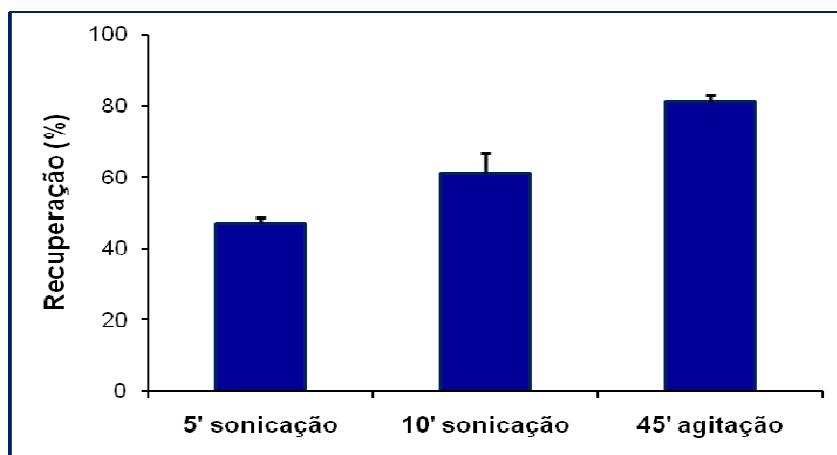
Ao avaliar o processo de otimização, verificou-se uma porcentagem de recuperação média menor para o agrotóxico thiamethoxam em batata e solo. Tal fato pode ser compreendido pela sua maior solubilidade em água comparada ao inseticida clorpirifós (aproximadamente 100 vezes maior), o que desfavorece sua extração.

### 3.3.3. Efeito do ultra-som na eficiência de extração dos inseticidas em batata e solo

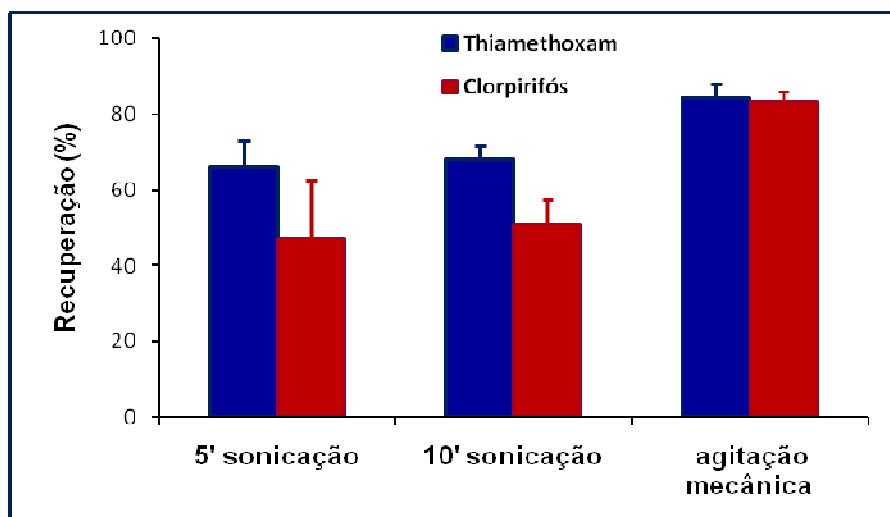
O etapa de agitação das amostras é um dos fatores relevantes no processo de otimização da técnica, pois é nesta etapa que ocorre maior interação dos solventes com o analito de interesse.

Os químicos analíticos têm empregado a técnica de sonicação como uma opção para agitação e para auxiliar em processos de extração (KORN *et al.*, 2005). Amostras de batata e solo fortificadas com clorpirifós e thiamethoxam foram submetidas a 5 e 10 minutos de sonicação, seguindo os demais parâmetros otimizados no planejamento fatorial  $2^3$  (item 3.3.2).

Nas Figuras 9 e 10, estão representadas graficamente as porcentagens de recuperação dos inseticidas estudados, após extração com 5 e 10 minutos de sonicação comparados com a agitação mecânica (planejamento fatorial).



**Figura 9.** Porcentagens de recuperação de thiamethoxam em batata, após extração com 5 e 10 minutos ultra-som e 45 minutos agitação mecânica.



**Figura 10.** Porcentagens de recuperação do clorpirifós (30') e thiamethoxam (45') em solo, após extração com 5 e 10 minutos ultra-som e de agitação mecânica.

A utilização de maior tempo de ultra-som favoreceu a extração dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em amostras de batata e solo, como mostram as Figuras 9 e 10. No entanto, este efeito ainda foi menor comparado à agitação mecânica. Portanto, optou-se por trabalhar com agitação mecânica para extração dos inseticidas de interesse.

É importante ressaltar que alguns parâmetros podem influenciar na resposta encontrada utilizando-se o ultra-som, tais como: volume de água dentro do banho, temperatura, posição vertical e horizontal dos tubos no banho, número de tubos dentro do banho e tempo de sonicação (NASCENTES *et al.*, 2001). Estes parâmetros não foram avaliados neste estudo, trabalhando-se, portanto, com o número máximo de frascos permitidos, água a temperatura do ambiente e nível de água recomendado pelo fabricante.

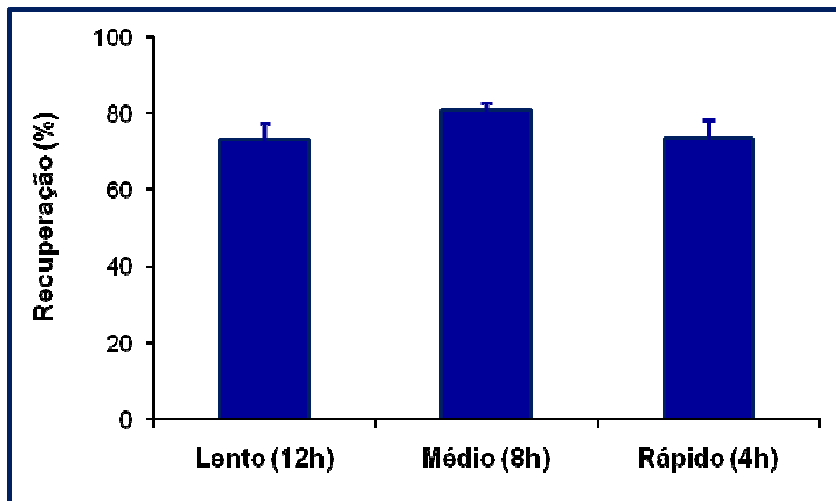
#### **3.3.4. Avaliação do tempo de congelamento na eficiência de extração dos inseticidas em batata e solo**

Segundo VIEIRA (2005) o tempo de congelamento da amostra pode influenciar de maneira significativa na eficiência de extração dos analitos de

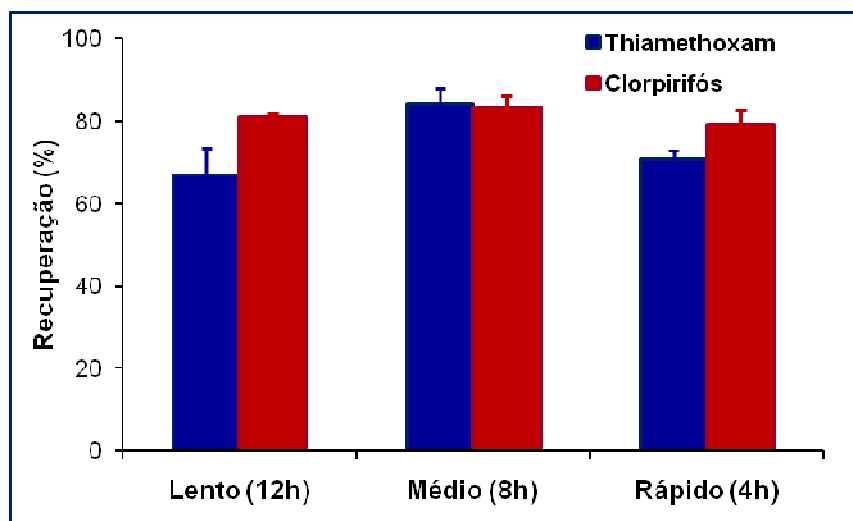
interesse. Portanto, observaram-se três regiões no freezer em que ocorria congelamento em tempos diferentes.

Na avaliação do tempo de congelamento para a extração de clorpirifós em solo e thiamethoxam em batata e solo, as amostras foram mantidas em gavetas do freezer ou diretamente no congelador na região sem gelo ou em contato com uma superfície coberta por gelo. Observou-se em experimentos anteriores que o tempo necessário para o completo congelamento da fase aquosa da amostra era dependente da região do freezer onde as amostras eram colocadas. Para um volume de fase aquosa de 4,0 mL e 8,0 mL da mistura extratora, quando colocadas na gaveta do freezer o tempo médio de congelamento era de 8 h.

As porcentagens de recuperação do thiamethoxam em batata (Figura 11) e do clorpirifós e thiamethoxam no solo (Figura 12) estão representadas graficamente.



**Figura 11.** Porcentagem de recuperação de thiamethoxam em batata em um tempo de 4h (rápido), 8h (médio) e 12h (lento) de congelamento.



**Figura 12.** Porcentagem de recuperação de clorpirifós e thiamethoxam em solo após diferentes tempos de congelamento.

Quando as amostras foram colocadas diretamente na placa do congelador na região com gelo acumulado o tempo médio de congelamento foi de 4 horas. Quando eram colocadas nesta placa, mas na região sem gelo, o tempo médio de congelamento era de 8 horas. O congelamento diretamente no congelador na região sem gelo ( $\pm$  8 horas) proporcionou a melhor porcentagem de recuperação dos agrotóxicos em batata e solo, sendo este tempo de congelamento adotado no experimento.

### **3.4. Metodologia otimizada para extração de thiamethoxam em batata**

A metodologia otimizada para a análise de thiamethoxam em amostras de batata, pela técnica ESL-PBT, foi: extração de 3,0000 g de polpa de batata, com 1,0 mL de solução de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  à  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ , 6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila, posteriormente agitação mecânica por 45 minutos a 180 opm.

Em seguida, as amostras foram colocadas em um freezer, diretamente no congelador em contato com a placa na região sem gelo, por

aproximadamente 8 horas. Decorrido esse período, os extratos foram passados por um papel de filtro com 1,5 g de sulfato de sódio anidro e o papel de filtro previamente lavado com 5,0 mL de acetonitrila. Os extratos obtidos foram recuperados em balões volumétricos de 10,0 mL, aferidos com acetonitrila, transferidos para frascos de vidro e armazenados no freezer até o momento da análise cromatográfica.

### **3.5. Metodologia otimizada para extração de clorpirifós e thiamethoxam em solo**

A metodologia otimizada para a análise de clorpirifós e thiamethoxam em amostras de solo, pela técnica ESL-PBT, foi: extração 1,0000 g de solo, com 4,0 mL água, 6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila, posteriormente agitação mecânica por 30 minutos e 45 minutos a 180 opm, para a extração de clorpirifós e thiamethoxam, respectivamente.

Em seguida, as amostras foram colocadas em um freezer, diretamente no congelador na região sem gelo, por aproximadamente 8 horas. Decorrido esse período, os extratos foram passados por um papel de filtro com 1,5 g de sulfato de sódio anidro e o papel de filtro previamente lavado com 5,0 mL de acetonitrila. Os extratos obtidos foram recuperados em balões volumétricos de 10,0 mL, aferidos com acetonitrila, transferidos para frascos de vidro e armazenados no freezer até o momento da análise cromatográfica.

### **3.6. Validação do método analítico**

Validação do método analítico é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos. A validação de métodos desenvolvidos no laboratório é efetuada após seleção, desenvolvimento e otimização dos métodos (BARROS, 2002).

Em análise de resíduos de agrotóxicos a validação do método ocorre, usualmente, por meio de ensaios de recuperação, uma vez que este processo gera todas as informações necessárias para a avaliação do procedimento analítico.

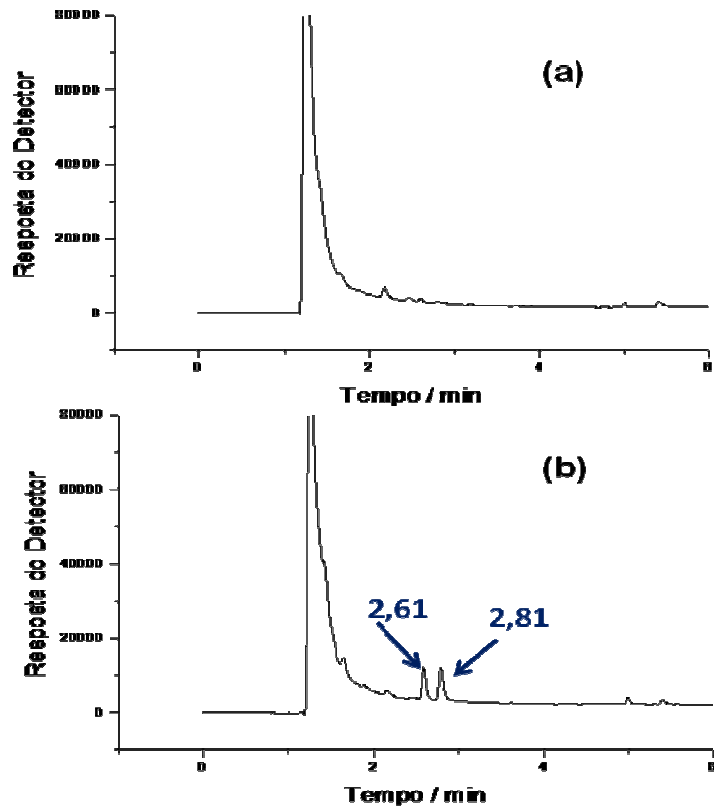
Segundo o INMETRO (2003), os parâmetros de desempenho analítico normalmente utilizados para validação de métodos de separação e análise são: seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão.

### **3.6.1. Seletividade**

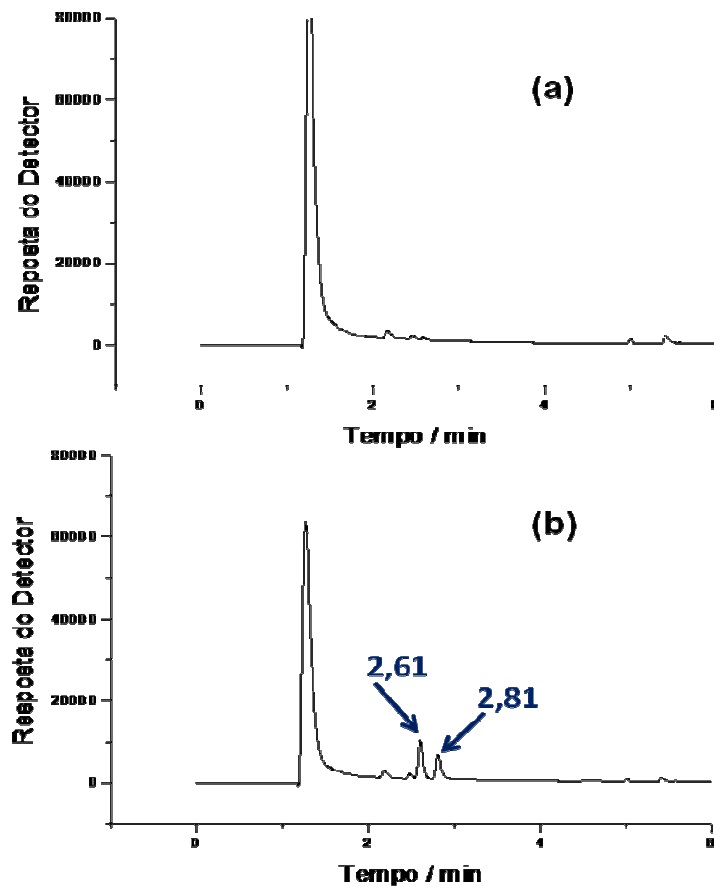
A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. A seletividade avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (RIBANI *et al*, 2004).

Este parâmetro foi avaliado comparando-se os cromatogramas dos extratos obtidos após extração das matrizes de batata e solo isentas dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam com os cromatogramas dos extratos de matrizes de batata e solo fortificadas e analisadas conforme o procedimento otimizado descrito no item 3.4 e 3.5.

Nas Figuras 13 e 14 estão representados os cromatogramas de extratos de matrizes isentas de agrotóxicos e de extrato de amostras fortificadas para a batata e solo, respectivamente. Visualmente não é detectado nenhum interferente cujo tempo de retenção seja coincidente com os dos princípios ativos de interesse. Os cromatogramas dos extratos são nítidos e permitem a identificação dos dois agrotóxicos sem grandes problemas. O pico atribuído ao clorpirifós, com tempo de retenção de 2,61 minutos, é a resposta para uma solução de 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O pico atribuído ao thiamethoxam em 2,81 minutos é a resposta para uma solução de 100,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 13.** (a) - Cromatograma de um extrato obtido de uma polpa de batata isenta dos princípios ativos e (b) - cromatograma de um extrato obtido de uma polpa de batata fortificada com os inseticidas estudados (clorpirifós:  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e thiamethoxam:  $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ), em que:  $t_R = 2,61$  min: clorpirifós e  $t_R = 2,81$  min: thiamethoxam.



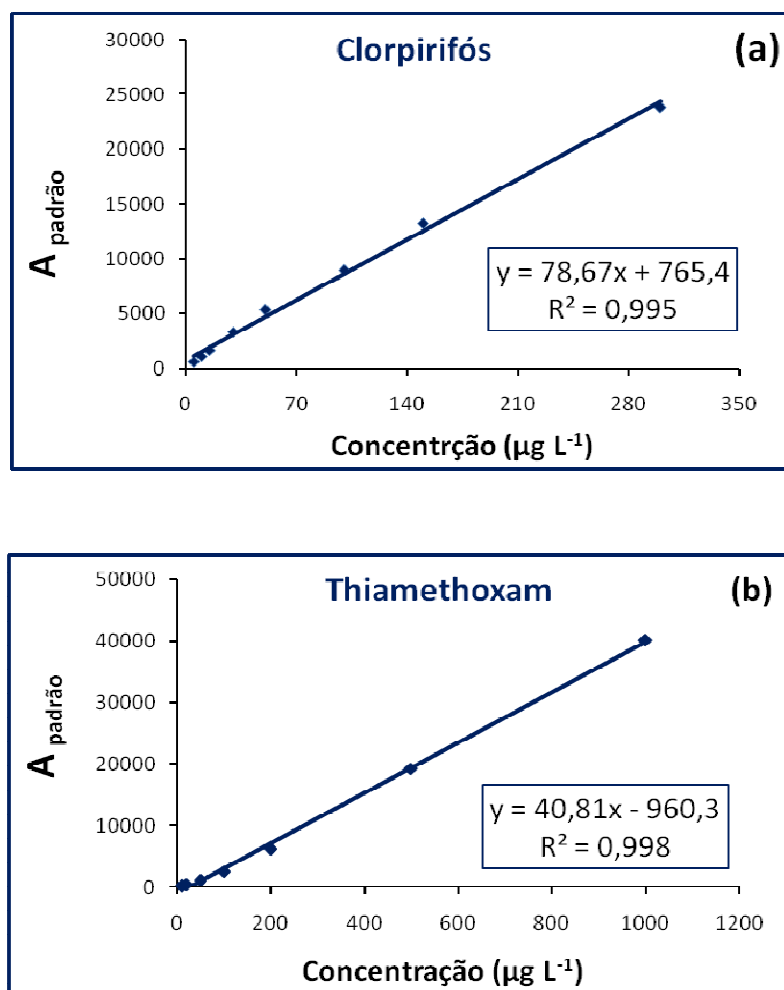
**Figura 14.** (a) - Cromatograma de um extrato obtido de uma amostra de solo isenta dos princípios ativos e (b) - cromatograma de um extrato obtido de uma amostra de solo fortificada com os inseticidas estudados (clorpirifós:  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e thiamethoxam:  $100,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ), em que:  $t_R = 2,61$  min: clorpirifós e  $t_R = 2,81$  min: thiamethoxam.

### 3.6.2. Linearidade da resposta do detector

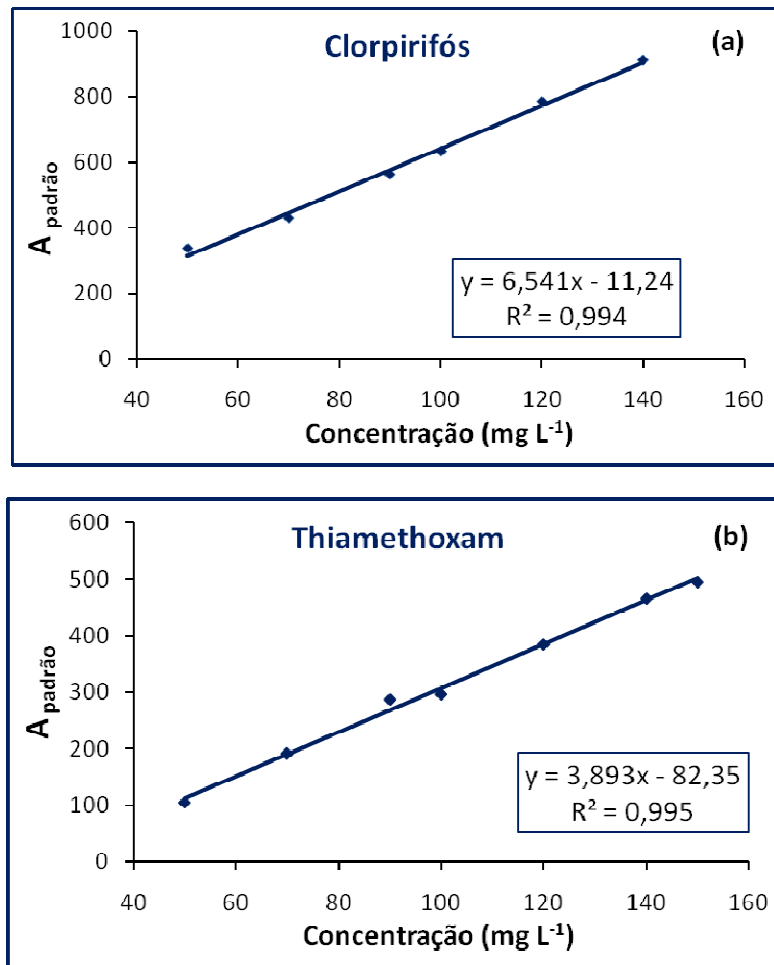
A Linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado (RIBANI, 2004).

A linearidade de resposta do detector foi verificada pelas curvas analíticas preparadas conforme descrito no item 2.4. Nas Figuras 15 e 16 estão representadas as curvas analíticas quando soluções padrão foram analisadas

por CG/DCE e CG/DIC, respectivamente. A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação determinado pela regressão linear.



**Figura 15.** Curvas analíticas preparadas a partir de soluções padrão de (a) clorpirifós na faixa de concentração entre 5,0 e 300,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  e (b) thiamethoxam na faixa de concentração de 10,0 a 1000,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , analisados por CG/DCE.



**Figura 16.** Curvas analíticas preparadas a partir de soluções padrão de (a) clorpirifós na faixa de concentração entre 50,0 e 140,0 mg L<sup>-1</sup> e (b) thiamethoxam na faixa de concentração de 50,0 a 150,0 mg L<sup>-1</sup>, analisados por CG/DIC.

Os valores dos coeficientes de correlação ( $R^2$ ) obtidos da regressão linear dos dados experimentais estão de acordo com as normas estabelecidas pela ANVISA que recomenda valores superiores a 0,99, indicando que existe uma resposta linear dos detectores na faixa de concentração trabalhada para os agrotóxicos clorpirifós e thiamethoxam.

Além disso, pode-se notar pelos coeficientes angulares das curvas analíticas, que o detector por captura de elétrons (DCE) e o detector por ionização em chama (DIC) são mais sensíveis ao inseticida clorpirifós. Esta sensibilidade está relacionada com a presença e a quantidade de átomos eletronegativos que capturam elétrons nas moléculas dos agrotóxicos, uma vez

que, a molécula do inseticida clorpirifós e thiamethoxam, possui três e um átomos de cloro, respectivamente.

### 3.6.3. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados pelo método da relação sinal-ruído (item 2.6.3), em que LD corresponde à concentração que proporcionou um sinal três vezes maior que o ruído e o LQ um sinal dez vezes maior que esse ruído.

O limite de detecção e quantificação do método estabelecido para o clorpirifós foi de  $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . Considerando que o método emprega 1,0000 g de solo e 3,0000 g de batata esses limites serão de 17,0 e  $50,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo e de 5,67 e  $16,67 \mu\text{g kg}^{-1}$  para a batata, respectivamente. Da mesma forma, para o inseticida thiamethoxam o limite de detecção e quantificação foi de  $3,3 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$  (ou de 33,0 e  $100,0 \mu\text{g kg}^{-1}$  para o solo e de 11,0 e  $33,3 \mu\text{g kg}^{-1}$  para a batata). Estes valores cobrem o LMR permitido para esses inseticidas em amostras de batata.

DARDENGO (2007) ao analisar os agrotóxicos clorpirifós,  $\lambda$ -cialotrina, cipermetrina e deltametrina em batata por CG-DCE, obteve um valor de LQ de  $8,6 \mu\text{g L}^{-1}$  para o inseticida clorpirifós.

Para o thiamethoxam, observou também resultado semelhante publicado pela Agência Regulatória de manejo de agrotóxicos do Canadá, em junho de 2007, no qual determinou-se o limite de quantificação deste inseticida por CG/HPLC sendo de  $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Segundo RIBANI *et al.* (2004), LD e LQ podem ser influenciados pelo tipo e tempo de uso da coluna cromatográfica, a estabilidade do detector utilizado e obviamente do tipo de detector.

### 3.6.4. Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analítica obtidos para uma mesma amostra (RIBANI, 2004). Normalmente é

expresso em termos de desvio padrão e desvio padrão relativo também conhecido como coeficiente de variação (CV).

A precisão dos métodos ESL-PBT foi avaliada sob condições de repetitividade e precisão intermediária, nos quais, amostras de batata e solo foram fortificadas com os inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em concentrações igual a 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 5,0 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, seguindo o procedimento otimizado.

#### 3.6.4.1. Repetitividade

A repetitividade do método ESL-PBT para análise dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo, foi determinada realizando-se a extração dos agrotóxicos de amostras fortificadas, em sete repetições, para o cálculo da estimativa do desvio padrão relativo, conforme recomendações do INMETRO (2003).

As porcentagens de recuperação obtidas (%R) e os coeficientes de variação (CV) estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Porcentagem de recuperação (%R) e coeficiente de variação, CV (%), obtidos após sete extrações dos inseticidas clorpirifós em solo e thiamethoxam em batata e solo.

| Batata       |       | Solo        |       |              |       |
|--------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|
| Thiamethoxam |       | Clorpirifós |       | Thiamethoxam |       |
| %R           | CV(%) | %R          | CV(%) | %R           | CV(%) |
| 84,07        | 4,82  | 94,25       | 1,98  | 78,14        | 3,76  |

Em análise de resíduos de agrotóxicos considera-se que o método é preciso quando os coeficientes de variação apresentam-se menores que 20% para amostras complexas (BRITO *et al.*, 2002; RIBANI *et al.*, 2004), portanto, os valores de CV(%) menores que 5% obtidos, demonstraram que o método estudado apresentou uma boa repetitividade para as duas matrizes estudadas.

### 3.6.4.2. Precisão Intermediária

A precisão intermediária refere-se às variações ocorridas dentro de um mesmo laboratório, quando um ou mais fatores são alterados.

Neste trabalho, a precisão intermediária do método foi verificada pelas porcentagens de recuperação dos agrotóxicos e respectivos coeficientes de variação (CV) analisados em diferentes intervalos de tempo (1º, 7º e 30º dias). Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 7.

**Tabela 7.** Porcentagem de recuperação (% R) e coeficiente de variação (CV) obtida após a análise em dias diferentes, pelo mesmo analista.

|       | Batata       |       | Solo        |       |              |       |
|-------|--------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|
|       | Thiamethoxam |       | Clorpirifós |       | Thiamethoxam |       |
|       | %R           | CV(%) | %R          | CV(%) | %R           | CV(%) |
| 1 dia | 99,18        | 4,21  | 100,51      | 2,34  | 91,07        | 1,10  |
| 1 sem | 113,73       | 2,15  | 97,58       | 4,77  | 84,53        | 4,47  |
| 1 mês | 99,27        | 1,53  | 97,02       | 2,81  | 91,40        | 4,36  |

Como pode ser observado na Tabela 7, para as amostras de batata e solo os ensaios apresentam boa precisão intermediária, com CV(%) inferiores a 5% para o clorpirifós e thiamethoxam. Segundo RIBANI *et al.* (2004), em métodos de análise de traços, são aceitos CV de até 20 %, dependendo da complexidade da amostra.

### 3.6.5. Exatidão

Existem vários processos para avaliar a exatidão de um método, como a comparação de métodos, os ensaios de recuperação, dentre outros. O processo utilizado para avaliar a exatidão do método ESL-PBT foi o ensaio de recuperação.

### 3.6.5.1. Ensaio de Recuperação

A porcentagem de recuperação foi calculada segundo as recomendações do GARP (1999). As substâncias de interesse foram adicionadas em concentrações próximas a 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação (clorpirifós  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e thiamethoxam  $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Assim, os ensaios de recuperação foram feitos extraindo-se os agrotóxicos estudados das amostras de batata e solo devidamente fortificadas, obtendo-se em 10,0 mL de extrato orgânico final, as concentrações de 5,0; 10,0 e 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o clorpirifós e 10,0; 20,0 e 100,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o thiamethoxam.

A porcentagem de recuperação (%R) e o coeficiente de variação para cada agrotóxico são mostrados nas Tabelas 8 e 9.

**Tabela 8.** Porcentagem de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV) obtidos após extração das amostras de solo fortificadas com o inseticida clorpirifós em três concentrações diferentes.

| Concentração<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Clorpirifós |       |
|--|-------------|-------|
|  | %R          | CV(%) |
| 5,0                                      | 103,15      | 10,37 |
| 10,0                                     | 106,35      | 11,53 |
| 50,0                                     | 104,77      | 0,30  |

**Tabela 9.** Porcentagem de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV) obtida após extração das amostras de batata e solo fortificadas com o thiamethoxam em três concentrações diferentes.

| Concentração<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Thiamethoxam |       |        |       |
|--|--------------|-------|--------|-------|
|  | Batata       |       | Solo   |       |
|  | %R           | CV(%) | %R     | CV(%) |
| 10                                       | 129,96       | 15,64 | 145,85 | 16,59 |
| 20                                       | 122,70       | 7,34  | 108,09 | 13,88 |
| 100                                      | 120,97       | 0,47  | 95,62  | 0,35  |

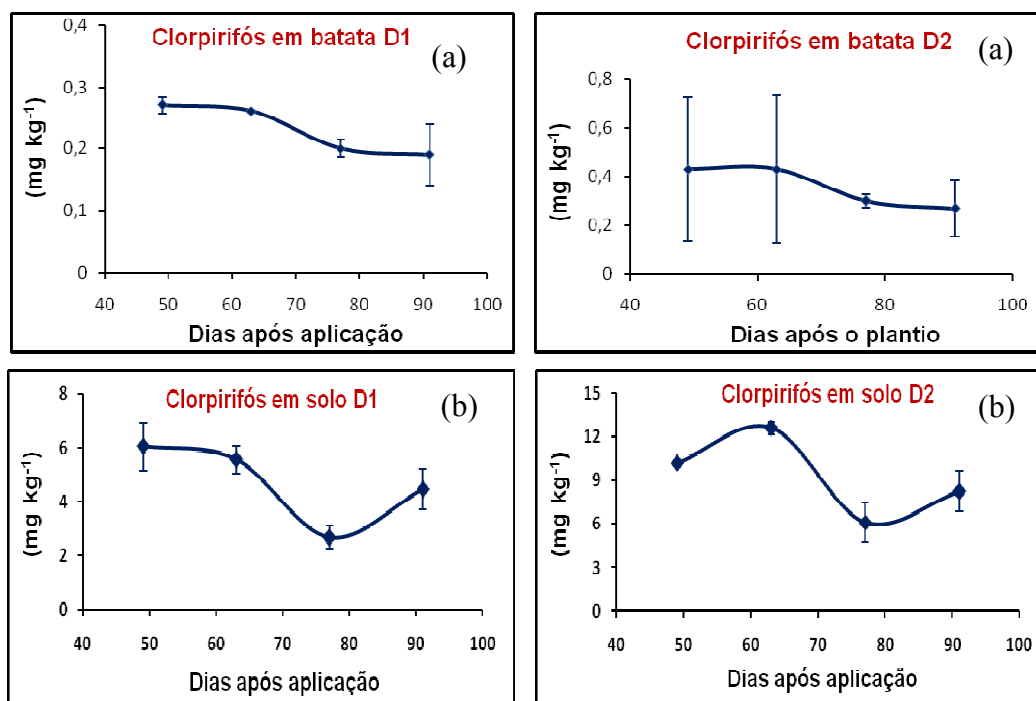
É importante observar que as porcentagens de recuperação, determinadas nos ensaios de precisão e exatidão foram diferentes, principalmente para o inseticida thiamethoxam. Isto pode ser explicado pela diferença nas concentrações dos agrotóxicos. Na avaliação da exatidão do método, a concentração de clorpirifós nas amostras foi 100, 50 e 10 vezes menor do que a concentração desse inseticida no estudo da precisão (clorpirifós:  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ), enquanto que para o thiamethoxam a concentração foi 500, 250 e 50 vezes menor (ensaio de precisão concentração do thiamethoxam:  $5000 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Essa variação na eficiência da extração em função da concentração foi observada por MENKISSOGLU-SPIROUDI & FOTOPOULOU (2004) ao avaliar o efeito de matriz na determinação de resíduos de agrotóxicos por cromatografia gasosa. Eles observaram que apesar dos resultados, em termos de porcentagens de recuperação, variassem para cada agrotóxico, um maior efeito de matriz era notado quando se trabalhava com uma menor concentração do agrotóxico na amostra. Resultados semelhantes foram observados por JIMÉNEZ *et al.* (1998), ao diminuir a concentração dos analitos clorpirifós e aldrin na amostra de mel de 2,5 a  $0,025 \text{ mg kg}^{-1}$ , as porcentagens de recuperação para os agrotóxicos aumentaram de 182 para 589% e de 210 para 573%, respectivamente.

As porcentagens de recuperação obtidas neste estudo estão entre 96 e 146%, observando uma maior dispersão dos resultados para as amostras fortificadas em concentrações mais baixas. Como a concentração das amostras está muito próxima ao LQ é aceitável valores de CV(%) de até 20% (RIBANI, *et al.* 2004; BRITO *et al.* 2002).

### 3.7. Avaliação da dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam durante o ciclo da batata

O termo dissipação tem sido preferencialmente empregado para expressar a diminuição da quantidade do agrotóxico no solo em função do tempo (URZEDO *et al.*, 2006). Nesse estudo, entretanto, foi avaliada a concentração dos agrotóxicos clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo durante o ciclo da batata, empregando as metodologias otimizadas.

Para avaliar a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam, amostras de batata e solo foram coletadas periodicamente de um plantio de batata em vasos em que os princípios ativos foram aplicados em doses iguais e duas vezes maior às recomendadas pelos fabricantes. Resíduos de clorpirifós em batata e solo foram determinados em quatro períodos distintos (item 2.2.1). Os resultados encontrados para o clorpirifós na batata e no solo nas duas dosagens estão representados na Figura 17.



**Figura 17.** Dissipação do clorpirifós em batata (a) e no solo (b) ao longo do ciclo evolutivo de batatas plantadas em vasos com doses do inseticida iguais (D1) e duas vezes maior (D2) às recomendadas pelos fabricantes.

De acordo com os resultados obtidos, a quantidade de resíduo de clorpirifós em batata variou de 0,27 a 0,19 para a dose 1 aplicada, no período avaliado de 49 a 91 dias após o plantio. Para a dose 2 a variação observada não foi significativa, uma vez que o desvio padrão entre as medidas foi alto. Vale ressaltar que estes valores encontram-se em níveis inferiores ao LMR estabelecido para esta cultura que é de  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Graficamente (Figura 17a) ao longo do período avaliado ocorre uma queda na quantidade do agrotóxico, sugerindo uma dissipação do mesmo. Os resultados experimentais demonstram uma dissipação lenta do clorpirifós em batata, obtendo-se taxa de dissipação de 30 e 37% para as doses 1 e 2, respectivamente, no intervalo de 49 a 91 dias, portanto, uma maior dissipação foi observada quando uma dose maior de clorpirifós foi aplicada no plantio. Verificou-se, entretanto, que a dissipação deste inseticida foi maior no intervalo de 63 - 77 dias após aplicação do ingrediente ativo para as duas doses aplicadas, isto é, a taxa de dissipação para a dose 1 e 2 foi de 23 e 30%, respectivamente, permanecendo praticamente constante após este período.

No estudo da dissipação de clorpirifós em solo no 49º dia após aplicação das doses iniciais de  $15,0 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$  (dose 1 e 2) de clorpirifós, ocorreu cerca de 60% de dissipação deste princípio ativo, apesar dessa dissipação os resultados das análises indicam que ao longo do ciclo evolutivo o inseticida clorpirifós ainda permanece no solo em níveis relativamente elevados. Para a dose 1 ( $15,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e 2 ( $30,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) dos princípios ativos no vaso, os valores de resíduos ficaram entre 6,0 e 4,0 e 10,0 e 8,0  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente, no período estudado.

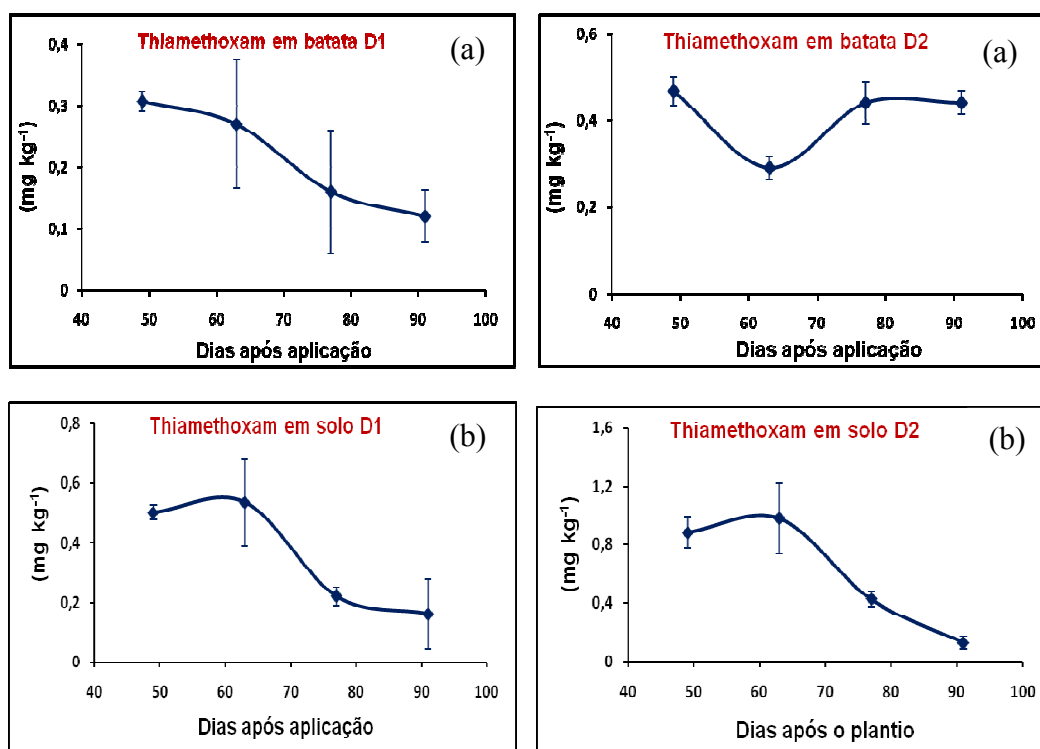
Observou-se também uma maior dissipação deste inseticida no intervalo de 63 - 77 dias após aplicação do produto comercial nas duas doses estudadas (Figura 17b). Após 77 dias do plantio, verificou que a concentração do agrotóxico aumentou até o último período de coleta de amostra para análise. SARDAR *et al.* (2005) ao estudar a dissipação do clorpirifós em solo, no intervalo de 0 a 120 dias após a aplicação do produto comercial na dose de  $1,0 \text{ kg i.a.ha}^{-1}$  e  $100,0 \text{ kg i.a.ha}^{-1}$ , verificaram que o inseticida havia dissipado na ordem de 100 a 91,6 %, respectivamente, em função da dose aplicada no solo. Esses resultados foram diferentes dos obtidos neste trabalho, o que era de se

esperar, uma vez que os estudos de SARDAR *et al.* foram realizados em campo e em condições experimentais diferentes.

Segundo SARDAR *et al.* (2005), um aumento na quantidade de ingrediente ativo aplicado no solo, resulta na diminuição da dissipação do clorpirifós. Isto foi verificado neste estudo, na qual, a taxa de dissipação do clorpirifós para a dose 1 e 2 do produto aplicado, foi em torno de 26% e 19%, respectivamente, no período de 49 – 91 dias das coletas das amostras de solo.

De modo geral, foram encontrados quantidades de resíduos maiores tanto no solo quanto na batata para as plantas que receberam duas vezes a dose recomendada pelo fabricante. Este fato foi observado principalmente no solo, mostrando que no solo que recebeu a aplicação da dose 2 (2 vezes a dose recomendada pelo fabricante), a concentração de clorpirifós em cada período analisado era aproximadamente 2 vezes maior do que a concentração obtida quando a dose 1 era aplicada. A concentração final (91º dia) de clorpirifós determinada no solo para a dose 1 aplicada foi aproximadamente 24 vezes maior que nas amostras de batata. Tal fato pode ser explicado considerando-se que o clorpirifós é um composto não-sistêmico, desta maneira, não será absorvido pelas raízes e translocados para todas as partes da plantas, tendendo a permanecerem próximo ao local em que foram aplicados (solo) formando-se um depósito na superfície (casca) da cultura (BARBOSA, 2004).

Os resultados do estudo da dissipação de thiamethoxam em batata e solo estão representados na Figura 18.



**Figura 18.** Dissipação do thiamethoxam nas batatas (a) e no solo (b) ao longo do ciclo evolutivo de batatas plantadas em vasos com doses do inseticida iguais e duas vezes maior às recomendadas pelos fabricantes.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se verificar a presença de resíduos de thiamethoxam em batata, após a aplicação do produto comercial na dose recomendada pelo fabricante (dose 1), em níveis superiores ao LMR estabelecido para esta cultura (0,02 mg kg<sup>-1</sup>). Resíduos deste agrotóxico em solo também foram encontrados em níveis um pouco maiores do que os encontrados em batata, comportamento diferente do observado para o clorpirifós. Por apresentar propriedades sistêmicas (rápida penetração e distribuição no interior da planta), o thiamethoxam pode se apresentar em níveis próximos tanto no solo quanto no tubérculo.

Os resultados experimentais mostram uma taxa de dissipação do thiamethoxam em batata de 61% para a dose 1, no intervalo de 49 a 91 dias (Figura 18a). Já para a dose 2, a concentração de thiamethoxam encontrada nesse intervalo não variou, apresentando uma dissipação de 6% apenas. Esses resultados mostram que por ser um produto sistêmico, provavelmente maiores concentrações do thiamethoxam no solo (dose 2) pode levar a uma

maior adsorção pelo tubérculo. Por outro lado, esta taxa de dissipação pequena do inseticida aplicado na dose 2 pode estar associada a problemas de amostragens, apesar dos baixos desvios padrão obtidos (entre 0,02 e 0,1).

Estudos sobre a dissipação do thiamethoxam em solos são escassos e restritos a solos norte-americanos e europeus. ANTUNES-KENYON E KENNEDY (2001) relataram que sob condições de fotodegradação, a estabilidade do thiamethoxam em solos é moderada com valores de meia-vida em torno de 50 dias. Já em condições aeróbicas e na ausência de luz, os valores de meia-vida podem alcançar até 385 dias.

URZEDO *et al.* (2006) ao investigar a dissipação do thiamethoxam em amostras de Latossolos vermelho amarelo distrófico, vermelho amarelo distroférico e vermelho distrófico do município de Lavras (MG), conclui que este inseticida é bastante estável nestes solos, com meia vida entre 117 e 301 dias dependendo do tipo de solo.

No estudo da dissipação de thiamethoxam em solo no intervalo entre o dia da aplicação das duas doses de  $1,33 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $2,66 \text{ mg kg}^{-1}$  (dose 1 e 2) e o primeiro período de colheita (49º dia), ocorreu aproximadamente 65% de dissipação deste princípio ativo. Para a dose 1 ( $1,33 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e 2 ( $2,66 \text{ mg kg}^{-1}$ ) dos princípios ativos no vaso, os valores de resíduos ficaram entre 0,50 e 0,16 e 0,88 e 0,13  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente, no período estudado.

No estudo realizado, observa-se um comportamento semelhante do thiamethoxam no solo no intervalo de 49 a 77 dias após o plantio, para as duas doses do produto comercial aplicada. Do 49º ao 63º dia, praticamente não houve dissipação do agrotóxico nas duas doses aplicadas. Já do 63º ao 77º dia, observou uma dissipação de aproximadamente 57% para as duas doses. Porém, no período de 77º a 91º dia a taxa de dissipação do inseticida na dose 2 é significativamente maior comparado a dose 1, isto é, a taxa de dissipação do thiamethoxam no solo, neste período, foi de aproximadamente 27 e 70% para as doses 1 e 2, respectivamente. No final do ciclo da batata, correspondente ao 91º dia após o plantio, observou-se que a quantidade de resíduo encontrada eram semelhante, independente da dose aplicada, chegando a uma concentração de 0,16 e 0,13  $\text{mg kg}^{-1}$ )

Desta forma, conclui-se que, a quantidade de resíduo encontrada na batata é um pouco menor do que a encontrada no solo, independente da dose aplicada, mostrando que a aplicação da dose 2 conduziu a uma maior quantidade de resíduo na batata. Observou-se também que no final do período (91º dia), a concentração de thiamethoxam em solo é praticamente a mesma independente da dose aplicada.

Em função dos elevados valores de desvio padrão dos resultados observados neste estudo, o comportamento dos agrotóxicos foi avaliado como uma tendência. Vale a pena ressaltar ainda que o presente trabalho foi realizado em vaso no intuito de simular uma situação real de campo , portanto, para uma melhor avaliação da dissipação dos inseticidas em batata e solo, vários fatores deveriam ter sido rigorosamente controlados no experimento, como: massa exata do solo e da batata após colheita, umidade, limpeza dos tubérculos, sombreamento do plantio, etc, de forma a manter todos os vasos sob as mesmas condições experimentais.

### 3.8. Determinação de resíduos de clorpirifós e thiamethoxam em plantio de batata realizado no campo

Neste estudo, foram determinados pela técnica de ESL-PBT otimizada e validada, resíduos dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em amostras de batatas tratadas com os produtos comerciais de acordo com o item 2.2.1. Os Resultados são mostrados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Resíduo de clorpirifós e thiamethoxam, em  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , nas amostras de batata do experimento de campo

| Tratamentos | Repetições     |                |                | Média<br>(m $\pm$ dp) |
|-------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|
|             | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |                       |
| 1           | ND             | ND             | ND             | ND                    |
| 2           | 8,0            | 13,0           | <LOQ           | 10,5 $\pm$ 3,54       |
| 3           | ND             | ND             | ND             | ND                    |
| 4           | 15,0           | 17,0           | -              | 16,0 $\pm$ 1,41       |
| 5           | <LOQ           | 84,0           | -              | 84,0 $\pm$ 0,00       |
| 6           | <LOQ           | ND             | ND             | ND                    |
| 7           | ND             | ND             | 6,0            | 6,0 $\pm$ 0,00        |
| 8           | 15,0           | ND             | ND             | 15,0 $\pm$ 0,00       |

ND = não detectado ( $Y < \text{LOD}$ ); <LOQ ( $\text{LOD} < Y < \text{LOQ}$ ); onde y = valor do resíduo (resolução da diretoria colegiada – RDC N° 216, de 15 de dezembro de 2006)

Nas amostras dos tratamentos 1 (testemunha), 3 (aplicação de thiamethoxam no sulco de plantio na dose recomendada) e 6 (aplicação de clorpirifós em duas pulverizações) não foram encontrados resíduos dos princípios ativos estudados

A aplicação do inseticida thiamethoxam no sulco de plantio (tratamento 3), comprova que a aplicação de produto comercial de acordo com as Boas Práticas Agrícolas resulta em amostras confiáveis e apropriadas para o consumo.

Nos tratamentos com o inseticida clorpirifós (tratamentos 2 e 4-8) foram encontrados resíduos de clorpirifós, em níveis inferiores ao LMR estabelecido para esta cultura ( $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  ou  $1000 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Resíduo de clorpirifós foram encontrados em todos os tratamentos, mostrando que o tratamento 5, em que foram feitas aplicações de clorpirifós no sulco de plantio, duas pulverizações durante o ciclo e uma última aplicação na seca das ramas da batata gerou uma maior quantidade de resíduo de clorpirifós nas amostras. No final do ciclo, já se observava alguns tubérculos na superfície do solo, os quais recebem diretamente o produto aplicado, o que justificaria os resultados obtidos.

Observou uma pequena repetibilidade nos resultados das três repetições realizadas. Este fato está diretamente relacionado a quantidade de ingrediente ativo aplicado durante as pulverizações, uma vez que, o volume da calda inseticida aplicada nos tratamentos não foi controlado.

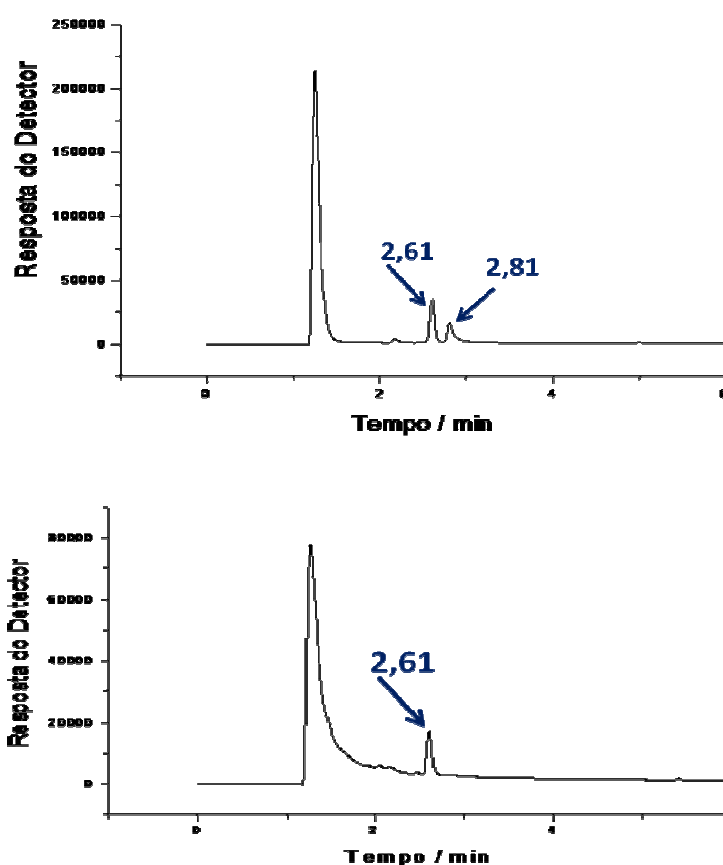
RANDHAWA *et al.* (2007) ao analisar amostras de batata de campo tratadas com  $6,0 \text{ mL L}^{-1}$  do produto comercial Larsban 40 EC, encontrou resíduo do inseticidas clorpirifós em amostras brutas na concentração de  $136,0 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ .

Estudos recentes têm mostrado a presença de resíduo de clorpirifós e thiamethoxam em níveis inferiores ao LMR estabelecido para as culturas trabalhadas (RANDHAWA *et al.*, 2007; BOLLES *et al.*, 1999; DIEZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2006). Apesar disto, o monitoramento de agrotóxicos em amostras de alimentos deve ser realizado periodicamente, a fim de assegurar aos consumidores que os alimentos adquiridos estão de acordo com a legislação imposta e também porque não se tem conhecimento do efeito acumulativo desses produtos nos organismos vivos.

### 3.9. Aplicação da técnica ESL-PBT em amostras de batata do comércio de Viçosa-MG

A técnica ESL-PBT otimizada foi aplicada em amostras de batata coletadas no comércio local da cidade de Viçosa-MG, conforme o procedimento descrito no item 3.4.

A Figura 19 ilustra os cromatogramas correspondentes à solução padrão de clorpirifós e thiamethoxam na concentração de  $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e à amostra de batata que apresentou resíduos do inseticida clorpirifós.



**Figura 19.** Cromatogramas correspondentes: (a) solução padrão de  $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$  dos princípios ativos clorpirifós e thiamethoxam, onde  $T_R = 2,61$  corresponde ao clorpirifós (b) amostras do comércio contaminadas com clorpirifós.

Das amostras analisadas, apenas uma apresentou resíduo de clorpirifós em concentração igual a  $0,67 \text{ mg kg}^{-1}$ , o qual se encontra abaixo do LMR estabelecido para esta cultura ( $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

## 4. CONCLUSÕES

Para a realização deste trabalho foi otimizado e validado o método de Extração Sólido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura (ESL-PBT) em amostras de batata e solo. Na etapa de otimização foram avaliados os efeitos da mistura extratora com diferentes proporções de metanol:acetonitrila e acetato de etila:acetonitrila, força iônica, agitação mecânica/ultra-som e tempo de congelamento das amostras. A metodologia mostrou-se eficiente para análise de clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo com porcentagens de recuperação acima de 80%.

Os parâmetros avaliados no processo de validação, tais como: seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão indicaram que o método ESL-PBT é eficiente para a extração de clorpirifós e thiamethoxam em batata e solo, possibilitando a quantificação de resíduos dos inseticidas nestas matrizes com limites de quantificação de 5 - 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Esses limites estão abaixo do LMR permitido pela legislação em vigor.

A método otimizado e validado foi aplicado para avaliar a dissipação dos inseticidas clorpirifós e thiamethoxam em amostras de batata e solo colhidas de um plantio em vaso. Este método também foi aplicado em amostras do campo para monitorar resíduo destes agrotóxicos em batata e em amostras de batata do comércio de Viçosa-MG.

No estudo da dissipação de clorpirifós, foram encontrados quantidades de resíduos maiores tanto no solo quanto na batata para as plantas que receberam duas vezes a dose recomendada pelo fabricante. Este fato foi observado principalmente no solo, mostrando que no solo que recebeu a aplicação da dose 2 (2 vezes a dose recomendada pelo fabricante), a concentração de clorpirifós em cada período analisado era aproximadamente 2 vezes maior do que a concentração obtida quando a dose 1 era aplicada. A concentração final (91º dia) de clorpirifós determinada no solo para a dose 1 aplicada foi aproximadamente 24 vezes maior que nas amostras de batata.

Na avaliação da dissipação de thiamethoxam, concluiu-se que, a quantidade de resíduo encontrada na batata é um pouco menor do que a encontrada no solo, independente da dose aplicada, mostrando que a aplicação da dose 2 conduziu a uma maior quantidade de resíduo na batata. Observou-se também que no final do período (91º dia), a concentração de thiamethoxam em solo é praticamente a mesma independente da dose aplicada.

No estudo de monitoramento de resíduo de clorpirifós e thiamethoxam em culturas de batata que receberam diferentes tratamentos não foram detectados resíduos de thiamethoxam aplicado no sulco de plantio na dose recomendada pelo fabricante. Porém, nos diferentes tratamentos com o inseticida clorpirifós foram detectados resíduos, em níveis inferiores ao LMR estabelecido para esta cultura ( $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Das amostras do comércio de Viçosa analisada, uma apresentou resíduo de clorpirifós na concentração de  $0,67 \text{ mg kg}^{-1}$ .

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES-KENYON, S.E.; KENNEDY, G. Thiamethoxam: a new active ingredient review. Boston: Massachusetts Pesticides Bureau, Department of Food Agriculture, 2001. 37 p.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Controlando agrotóxicos nos alimentos: o trabalho desenvolvido pela ANVISA, com as vigilâncias sanitárias dos estados do AC, ES, GO, MG, MS, PA, PE, PR, RJ, RS, SC, SP, TO, a FIOCRUZ/INCQS e os laboratórios IAL/SP, IOM/FUNED, LACEN/PR E ITEP/PE.** Relatório de atividades 2001-2004, Brasília, 2005.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anvisa divulga resultado do monitoramento de agrotóxico em alimentos,** Notícias da Anvisa, Brasília, 2007.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 11,** 2007.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 45,** 2005.

ARAÚJO, J. M. A. Química de Alimentos – Teoria e Prática, 3º edição, editora UFV, 2004.

ARAÚJO, S. M. M.; LEMOS, R. N. S.; QUEIROZ, M. E. R.de; NUNES, G. S. Uso de inseticidas organofosforados nos pólos de produção na ilha de São Luís (MA): condições de trabalho e contaminação de hortaliças. **Agrotóxicos: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 11, p. 159-179, 2001.

BARBOSA, L. C. A. **Os agrotóxicos o homem e o meio ambiente.** Editora UFV, Viçosa, MG, 2004.

BARROS, C. B. **Validação de Métodos Analíticos**. *Biológico*, v. 64, n. 2, p. 175-177, São Paulo, 2002.

BITTENCOURT, C.; REIFSCHEIDER, F. J. B.; MAGALHÃES, J. R.; FUROMOTO, O.; FEDALTO, A. A.; MAROUELLI, W. A.; SILVA, H. R.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C.; GIORDANO, L. B. **Cultivo da Batata (Solanum tuberosum L). Instruções Técnicas do CNPHortaliças**, Brasília, 1985.

BOLLES, H. G.; DIXON-WHITE, H. E., PETERSON, R. K.; TOMERLIN, J. R.; DAY, E. W.; OLIVER, G. R. U.S. Market Basket Study To Determine Residues of the Insecticide Chlorpyrifos. **Journal Agric. Food Chem**, v. 47, n. 5, p. 1817-1822, 1999.

BRITO, N. M.; AMARANTE Jr., O. P. de; POLESE, L.; SANTOS, T. C. R. dos; RIBEIRO, M. L. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de agrotóxicos mediante ensaios de recuperação. *Agrotóxicos: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente*, v. 12, p. 155-168, 2002.

CALDAS, E. D.; MIRANDA, M. C. C.; CONCEIÇÃO, M. H.; SOUZA, L. C. K. R. Dithiocarbamates residues in Brazilian food and the potential risk for consumers. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1877-1883, 2004.

CAUX, P. Y.; BASTIEN, C.; CROWE, A. Fate and impact os pesticides applied to potato cultures: the nicolet river basin. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 33, n. 0023, p. 175-185, 1996.

CISCATO, C. H. P.; GEBARA, A. B.; MONTEIRO, S. H.; RASPE, J.; FERREIRA, R. C. B. **Resíduo de agrotóxicos em hortaliças**. Instituto Biológico, Unidade Laboratorial de Referência em Agrotóxicos nos Alimentos. São Paulo, v. 71, p. 1-749, 2004.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: ed. UNICAMP, p. 453, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. Campinas: Editora da Unicamp, 4<sup>a</sup> ed., p. 279, 1990.

COSTA, L. M.; KORN, M. G. A.; CASTRO, J. T.; SANTOS, W. P. C.; CARVALHO, E. V.; NOGUEIRA, A. R. A. Planejamento fatorial aplicado a digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas. **Química Nova**, v. 29, n.1, p. 149-152, 2006.

DARDENGO, R. P. **Análise multirresíduo de inseticidas em batata (*Solanum tuberosum* L)**. 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia – Um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, n. 7, 1998.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; BAPTISTA, G. C.; TREVIZAN, L. R. P.; HADDAD, M. L.; NAVA, D. E. Resíduos de Tiametoxam, Aldicarbe e de seus Metabólitos em Folhas de Cafeeiro e Efeito no Controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 2, p. 257-263, 2006.

DÓREA, H. S.; LOPES, W. G. Aplicação da técnica de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) na análise de agrotóxicos em quiabo por CG-EM. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 892-896, 2004.

ENGELMANN, M. D.; HUTCHESON, R.; HENSCHIED, K.; NEAL, R.; CHENG, F. Simultaneous determination of total polychlorinated biphenyl and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) by dechlorination with Fe/Pd and Mg/Pd bimetallic particles and flame ionization detection gas chromatography. **Microchemical journal**, v. 74, p. 19-25, 2003.

ESCUDEROS-MORENAS, M. L.; SANTOS-DELGADO, M. J.; RUBIO-BARROS, S.; POLO-DÍEZ, L. M. Direct determination of monolinuron, linuron

and chlorbromuron residues in potato samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1011, p. 143-153, 2003.

FERST, J. C. **Resíduos de clorpirifós e fenitrotion em casca e polpa de pepino “caipira” determinados por cromatografia em fase gasosa.** 1991. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 1991.

FILHO, O. B. **Tópicos em Validação de Métodos.** I Escola Avançada de Metrologia em Química, 2003.

FRANCO, A. A. **Resíduos de deltametrina, aplicada em diferentes formulações, em compartimentos da cultura do pepino (*Cucumis sativus* L.) tutorado e ação do inseticida no controle da broca-das-cucurbitáceas *Diaphania nitidalis* (CRAMER,1782) (Lepidóptera:crambidae).** 2004. 111f. Dissertação (Doutorado na Entomologia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

FRANCO, A. A. **Dissipação do inseticida metamidofós em plantas de alface.** 2000. 45f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2000.

FREITAS JÚNIOR, J. B. de. **Dissipação dos resíduos do inseticida metamidofós em frutos do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.).** 1992. 54f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1992.

GALLI, A; SOUZA, D; GARBELLINI, G. S; COUTINHO, C. F. B; MAZO, L. H; ACALA, L. A; MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de agrotóxicos em alimentos. **Química Nova**. v. 29 , n.1, 2006.

GARP - Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Agrotóxicos. Manual de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (apostila), 1999.

GORENSTEIN, O. Monitoramento de resíduos de agrotóxicos em frutas e hortaliças frescas comercializadas na CEAGESP: análise de resultados de 2003. **Informações Econômicas**, v. 34, n. 10, 2004.

GOULART, S. M. **Extração de deltametrina e cipermetrina de leite e análise por cromatografia gasosa**. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2004.

IMOTO, M. N. **Validação de método multiresíduo para agrotóxicos organohalogenados em maçã por cromatografia gasosa com captura de elétrons (CG/ECD) e cromatografia gasosa com espectrometria de massa (CG/MS)**. 2004. 114f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003.

JIMÉNEZ, J. J.; BERNAL, J. L.; NOZAL, M<sup>a</sup>. J.; TORIBIO, L.; MARTÍN, M<sup>a</sup>. T. Gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection in the analysis of pesticides in honey after elution from a Florisil column/Influence of the honey matrix on the quantitative results. **Journal of Chromatography A**, **823**: 381-387, 1998.

KAIPPER, B. I. A.; MADUREIRA, L. A. S.; CORSEUIL, H. X. Use of activated charcoal in a solid-phase extraction technique. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 4, p. 514-518, 2001.

KORN, M.; PEREIRA, M. G.; BORGES, S. S. Algumas aplicações analíticas dos ultra-sons. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 96, p. 51-56, 2005.

KUHAR, T. P; ALVAREZ, J. M. Timing of injury and efficacy of soil applied insecticides against wireworms on potato in Virginia. **Crop Protection**, v. 27, p. 792-798, 2008.

LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Headspace Solid Phase Microextraction Applied to the Analysis of Organophosphorus Insecticides in Strawberry and Cherry Juices. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 3359-3365, 2002.

LIMA, F. J. C.; MARQUES, P. R. B. O.; NUNES, G. S.; TANAKA, S. M. C. N. Inseticida organofosforado metamidofós: aspectos toxicológicos e analíticos. **Agrotóxicos: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 11, p. 17-34, 2001.

LIU, W.; HU, Y.; ZHAO, J.; XU, Y.; GUAN, Y. Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1095, p. 1-7, 2005.

LOPES, C. A. Manejo da cultura da batata para o controle de doenças. **Circular Técnica do CNP Hortaliças/EMBRAPA**, 1989.

LOPES, W. G.; DÓREA, H. S. Determinação de agrotóxico em feijão por dispersão da matriz em fase sólida (DMFS). **Agrotóxicos: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 73-82, 2003.

MALVONI, M. Q.; SILVA, E. C.; MENDONÇA, R. S.; MACIEL, G. M. Ocorrência e entomofauna em cultivares de batata cultivadas na região de Alfenas-MG (2004). Disponível em: [www.unifenas.br/neol/pdfs/entomofauna.pdf](http://www.unifenas.br/neol/pdfs/entomofauna.pdf). Acessado em: 16 de outubro de 2006.

MARÇON, P. G. Modo de ação de inseticidas e acaricidas. DuPont do Brasil S.A., Estação Experimental. Agrícola, Paulínia, S.P. Acesso em: 20 janeiro de 2008.

MENKISSOGLU-SPIROUDI U.; FOTOPOULOU, A. Matrix effect in gas chromatographic determination of insecticides and fungicides in vegetables **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**,v. 84, p. 15–27, 2004.

MONTEMURRO, N.; GRIECO, F.; LACERTOSA, G.; VISCONTI, A. Chlorpyrifos decline curves and residue levels from different commercial formulations applied to oranges. **Journal Agric. Food Chem**, v. 50, p. 5975-5980, 2002.

MORAIS, L. S. R.; PEREIRA, F. S.; QUEIROZ, S. C. N.; JARDIM, I. C. S. F. **Otimização de Técnicas de Extração de Agrotóxicos em Solo para Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**. 30<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.

NAKANO, O.; ROMANO, F. C. B.; PESSINI, M. M. O. **Pragas do solo**. Piracicaba: ESALQ/USP, p. 231, 2001.

NASCENTES, C. C.; KORN, M.; SOUSA, C. S.; ARRUDA, M. A. Z. Use of ultrasonic baths for analytical applications: a new approach for optimisation conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 57-63, 2001.

NAVARRO, S.; VELA, N.; GIMÉNEZ, M. J.; NAVARRO, G. Persistence of four s-triazine herbicides in river, sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. **Science of the Total Environment**, v. 329, p. 87-97, 2004.

NUNES, G. S.; SANTOS, T. C. R.; BARCELÓ, D.; PIMENTA, A. S.; RIBEIRO, M. L. Extração por fluido supercrítico de alguns inseticidas carbamatos em amostras de batata, com determinação por HPLC/fluorescência e confirmação

por HPLC/espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 214-220, 2002.

OBANA, H.; OKIHASHI, M.; AKUTSU, K.; KITAGAWA, Y.; HORI, S. Determination of neonicotinoid pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry. **Journal Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 2501-2505, 2003.

OVIEDO, M. T. P.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E. Resíduos de agrotóxicos piretróides em hortaliças. **Agrotóxicos: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 9-18, 2003.

PACÁKOVÁ, V.; STULIK, K.; JISKRA, J. High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 17-31, 1996.

PENA, M. F.; AMARAL, E. H.; SPERLING, E. V. Método para determinação de resíduos de clorpirifós em alface por cromatografia a líquido de alta eficiência. **Agrotóxicos: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 37-44, 2003.

PESSINI, M. M. O. **Resíduos de acetamiprid e thiamethoxam em tomate estaqueado (*Lycopersicon esculentum* Mill), em diferentes modalidades de aplicação**. 2003. 88f. Dissertação (Mestrado na Entomologia). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2003.

PINHO, G. P. **Extração de agrotóxicos em amostras de tomate pelas técnicas: extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa**. 2007. 83f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

RANDHAWA, M. A.; ANJUM, F. M.; AHMED, A.; RANDHAWA, M. S. Field incurred chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol residues in fresh and processed vegetables. **Food Chemistry**, v. 103, p. 1016-1023, 2007.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, D. Minas consolida liderança na produção de batata, 2007. Disponível em: [www. ambienteemfoco.com.br](http://www.ambienteemfoco.com.br). Acesso em: 20 janeiro de 2008.

SANTOS, J. A. C. Associação brasileira da Batata. **Batata Show**, ano 4, número 10, 2004. Disponível em: [www.abbabatatabrasileira.com.br/revista12\\_012.htm](http://www.abbabatatabrasileira.com.br/revista12_012.htm). Acessado em: 21 de outubro de 2007.

SANTOS NETO, A. J. dos; SIQUEIRA, M. E. P. B. Análise de agrotóxicos organofosforados em água por extração em fase sólida (SPE) utilizando discos C18 e cromatografia em fase gasosa: Avaliação da contaminação de reservatório de furnas (MG-Brasil). **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 747-750, 2005.

SARDAR, D.; KOLE, R. K. Metabolism of chlorpyrifos in relation to its effect on the availability of some plant nutrients in soil. **Chemosphere**, v. 61, p. 1273-1280, 2005.

SCHWARTZ, B. J.; SPARROW, F. K.; HEART, N. E.; THEDE, B. M. Simultaneous Derivatization and Trapping of Volatile Products from Aqueous Photolysis of Thiamethoxam Insecticide. **Journal Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 4671-4675, 2000.

SHACKELFORD, D. D.; YOUNG, D. L.; MIHALIAK, C. A.; SHURDUT, B. A.; ITAK, J. A. Practical immunochemical method for determination of 3,5,6-Trichloro-2-pyridinol in human urine: applications and considerations for exposure assessment. **Journal Agric. Food Chem.**, v. 47, p. 177-182, 1999.

SILVA, F. C.; CARDEAL, Z. L.; CARVALHO, C. R. Determinação de agrotóxicos organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR-EM. **Química Nova**, v. 22, n. 2, p. 197-200, 1999.

SILVA, H. G.; LANÇAS, F. M. Development and Validation of a Multi-Residue Analytical Methodology to Determine the Presence of Selected Pesticides in Water Through Liquid Chromatography. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 3b, p. 650-653, 2005.

SIMPLÍCIO, A. L.; BOAS, L. V. Validation of a solid-phase microextraction method for the determination of organophosphorus pesticides in fruits and fruit juice. **Journal of Chromatography A**, v. 833, p. 35-42, 1999.

SINGH, S. B.; FOSTER, G. D.; KHAN, S. U. Microwave-assisted extraction for the simultaneous determination of thiamethoxam, imidacloprid, and carbendazim residue in fresh and cooked vegetable samples. **Journal Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 105-109, 2004.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. Porto Alegre:Bookman, 5<sup>a</sup> ed., p. 836, 2002.

ŠTAJNBAHER, D. & KRALJ, A. Z. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography, A**, v. 1015, p. 185-198, 2003.

TAVAREZ, R. P. **Mobilidade de atrazine e ametryn em Latossolo Vermelho-Amarelo**. 2007. 93f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

URZEDO, A. P. F. M.; RIGITANO, R. L. O.; GUERREIRO, M. C.; CASTRO, N. R. A. Dissipação do inseticida tiametoxam em solos da região de Lavras-MG. **Agrotóxicos: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 16, p. 31-38, 2006.

VIEIRA, H. P. **Otimização e validação da extração simultânea de piretróides em água e solo e análise por cromatografia gasosa**. 2005. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2005.

ZAMBOLIM, L.; LOPES, C. A; PICANÇO, M. C; COSTA, H. **Manejo integrado de doenças e pragas – Hortaliças**. Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Fitopatologia. Viçosa, MG, 2007.

ZAMBONIN, C. G.; PALMISANO, F. Determination of triazines in soil leachates by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 874, p. 247-255, 2000.

## APÊNDICE

Os tratos culturais com os inseticidas foram realizados de acordo com as Boas Práticas Agrícolas, e os cálculos da quantidade do produto comercial Sabre e Actara a ser aplicada no sulco de plantio foram baseados nas dosagens recomendadas para esta cultura/ha, como segue abaixo:

- O espaçamento recomendado entre plantas de batata em campo é de 0,85m (entre fileiras) x 0,3m (entre plantas) = 0,255m<sup>2</sup>/planta. Sendo assim, pôde-se encontrar a quantidade de planta por hectare (10000m<sup>2</sup>):

$$\begin{array}{r} 0,255\text{m}^2 \text{ ----- planta} \\ 10000\text{m}^2 \text{ ----- X} \end{array}$$

$$X = 40000 \text{ plantas/ha}$$

- Para clorpirifós, a dose recomendada é: 4L ha<sup>-1</sup> (4000 mL ha<sup>-1</sup>). Como em cada hectare podem-se plantar 40000 plantas, teremos:

$$\begin{array}{r} 4000 \text{ mL ----- } 40000 \text{ plantas} \\ Y \text{ ----- } 1 \text{ planta} \end{array}$$

$$Y = 0,1 \text{ mL / planta} = 0,1 \text{ mL / cova}$$

- Para o thiamethoxam, a dose recomendada é: 15 kg ha<sup>-1</sup> (15000 g ha<sup>-1</sup>). Portanto:

$$\begin{array}{r} 15000 \text{ g ----- } 40000 \text{ plantas} \\ Z \text{ ----- } 1 \text{ planta} \end{array}$$

$$Z \sim 0,4 \text{ g / planta} = 0,4 \text{ g / cova}$$