

**BETHÂNIA LEITE MANSUR**

**ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO MULTIRRESÍDUO  
DE AGROTÓXICOS EM MAÇÃ E TOMATE**

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  
2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

Mansur, Bethânia Leite, 1988-

M289e  
2013

Estudo comparativo de métodos de extração multirresíduo  
de agrotóxicos em maçã e tomate / Bethânia Leite Mansur. –  
Viçosa, MG, 2013.

x, 70 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antônio Augusto Neves.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 64-70.

1. Extração (Química). 2. Produtos químicos agrícolas.  
3. Alimentos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento  
de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica.  
II. Título.

CDD 22. ed. 543.85

**BETHÂNIA LEITE MANSUR**

**ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO MULTIRRESÍDUO  
DE AGROTÓXICOS EM MAÇÃ E TOMATE**

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: 9 de agosto de 2013.

---

Mauricio Xavier Coutrim

---

Alessandra Regina Pepe Ambrozin

---

André Fernando de Oliveira  
(Coorientador)

---

Maria Eliana L. R. de Queiroz  
(Coorientadora)

---

Antônio Augusto Neves  
(Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, soberanamente justo e bom, Aquele que nos deu a oportunidade de aprendizado constante por meio de Sua Obra e, a Jesus, nosso Mestre, o Caminho, a Verdade e a Vida.

Aos meus pais, Joel e Silvana, pela compreensão e amor. Às minhas irmãs (*in memoriam*), Luciane e Vânia, pois que, por meio delas, presença e ausência, me fortaleci na Doutrina Espírita e na fé no futuro.

Aos demais familiares pela “torcida”.

Ao meu namorado, Fernando, por me alertar e confortar nos “momentos de tensão”.

Às amigas do meu “primeiro lar *out*”, Cristina e Christiane, e da minha primeira república, Izabela, Josiane, Liana, Juliette, Juliana Rodriguez e Karine; aos amigos e companheiros de Trabalho Espírita, Igor e Delaine: vocês têm um lugar garantido no meu coração!

Aos irmãos da “Família LAQUA”, carinhosamente, Luiz Manoel, Gustavo, Adley, Fernanda, Bel, Carlos, Renata, Flaviane, Ricardo (técnico), Nívia (“Pi Amor”) e Ana Schettini (pela insistência e consultoria de *make up*), pelo companheirismo, esclarecimentos e paciência. E nesta “família”, de modo especial, agradeço ao Prof. Antônio Augusto, Profª. Maria Eliana e Prof. Fernando, pela sabedoria.

Aos meus pais Joel e Silvana,  
Às minhas irmãs Luciane e Vânia (*in memoriam*),

Com amor e gratidão,  
dedico este trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	viii
RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A cultura da maçã .....	3
2.2 A cultura do tomate .....	4
2.3 Agrotóxicos em estudo.....	6
2.4 Métodos de extração multirresíduos .....	11
2.5 Técnicas de análise multirresíduo.....	13
2.6 Validação dos métodos.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Preparo das soluções .....	20
3.2 Análise cromatográfica .....	21
3.3 Preparo e fortificação das amostras .....	22
3.4 Extração dos agrotóxicos .....	23
3.4.1 ESL/PBT .....	23
3.4.2 QuEChERS .....	24
3.5 Linearidade de resposta do detector.....	24
3.6 Validação dos métodos de extração.....	25
3.6.1 Seletividade .....	25
3.6.2 Linearidade.....	25
3.6.3 Limites de detecção e quantificação .....	26
3.6.4 Exatidão .....	26
3.6.5 Precisão .....	26
3.6.6 Efeito de matriz .....	27
3.7 Alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1 Análise cromatográfica .....	28
4.2 Linearidade de resposta do equipamento.....	31
4.3 Validação dos métodos de extração.....	34

4.3.1	Seletividade .....	34
4.3.2	Linearidade.....	38
4.3.3	Limites de detecção e quantificação .....	43
4.3.4	Exatidão .....	44
4.3.5	Precisão .....	46
4.3.6	Efeito de Matriz.....	49
4.4	<i>Alteração no tempo de contato após fortificação na extração QuEChERS.....</i>	<i>56</i>
5.	CONCLUSÃO .....	61
5.1	<i>Perspectivas futuras .....</i>	<i>62</i>
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	64

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cromatograma de uma solução padrão dos agrotóxicos a  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,30 \text{ mg L}^{-1}$  para a deltametrina e  $0,45 \text{ mg L}^{-1}$  para o tiametoxam (agrotóxicos usados na cultura da maçã). Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,68 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 4,20 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,67 / 7,85 \text{ min}$ .

Figura 2. Cromatograma de uma solução padrão dos agrotóxicos a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  para a cialotrina e  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$  para a deltametrina (agrotóxicos usados na cultura do tomate). Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,63 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,50 / 5,59 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,43 / 6,48 / 6,54 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,43 / 7,59 \text{ min}$ .

Figura 3. Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à ESL/PBT e QuEChERS.

Figura 4. Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à ESL/PBT e QuEChERS.

Figura 5. Curvas analíticas preparadas em acetonitrila com padrões de agrotóxicos utilizados na cultura de maçã (A) e tomate (B).

Figura 6. Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à extração QuEChERS (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  para o tiametoxam;  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,67 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 3,83 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,56 / 7,73 \text{ min}$ .

Figura 7. Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à extração ESL/PBT (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  para o tiametoxam;  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,67 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 3,84 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,55 / 7,72 \text{ min}$ .

Figura 8. Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à extração QuEChERS (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  para a  $\lambda$ -cialotrina;  $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,63 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,50 / 5,59 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,42 / 6,47 / 6,53 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,39 / 7,56 \text{ min}$ .

Figura 9. Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à extração ESL/PBT (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  para a  $\lambda$ -cialotrina;  $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. 1 – clorpirifós  $t_R = 3,60 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,49 / 5,57 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,40 / 6,45 / 6,52 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,38 / 7,54 \text{ min}$ .

- Figura 10. Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de maçã fortificadas e submetidas à extração QuEChERS. Faixa de concentração: 0,02 a 2,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,02 a 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina; 0,05 a 0,45 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam.
- Figura 11. Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de maçã fortificadas e submetidas à extração ESL/PBT. Faixa de concentração: 0,02 a 2,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,02 a 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina; 0,05 a 0,60 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam.
- Figura 12. Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de tomate fortificadas e submetidas à extração QuEChERS. Faixa de concentração: 0,02 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,05 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para a cipermetrina; 0,02 a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 0,015 a 0,23 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.
- Figura 13. Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de tomate fortificadas e submetidas à extração ESL/PBT. Faixa de concentração: 0,02 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,05 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para a cipermetrina; 0,02 a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 0,015 a 0,23 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.
- Figura 14. Curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas em solvente e extrato de amostras de maçã submetidas à extração QuEChERS e ESL/PBT.
- Figura 15. Curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas em solvente e extrato de amostras de tomate submetidas à extração QuEChERS e ESL/PBT.
- Figura 16. Porcentagem do efeito de matriz na análise de agrotóxicos em amostra de maçã.
- Figura 17. Porcentagem do efeito de matriz na análise de agrotóxicos em amostra de tomate.
- Figura 18. Variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos em amostras de tomate após alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS.
- Figura 19. Porcentagem do efeito de matriz do tomate na análise de agrotóxicos aplicados nessa cultura, após o aumento do tempo de fortificação da extração QuEChERS.
- Figura 20. Variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos em amostras de maçã após alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS.
- Figura 21. Porcentagem do efeito de matriz da maçã na análise de agrotóxicos aplicados nessa cultura, após o aumento do tempo de fortificação da extração QuEChERS.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Valor nutritivo de 100 gramas de maçã.
- Tabela 2. Composição dos frutos maduros de tomate.
- Tabela 3. Principais características dos agrotóxicos em estudo.
- Tabela 4. Volume adicionado ( $\mu\text{L}$ ) de solução padrão para fortificação das amostras de tomate e maçã, em função dos valores de LMR.
- Tabela 5. Equação da regressão linear das curvas preparadas em solvente puro.
- Tabela 6. Parâmetros das equações de regressão das linearidades dos métodos de extração de agrotóxicos em maçã e tomate.
- Tabela 7. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos métodos para os agrotóxicos estudados em tomate e maçã.
- Tabela 8. Porcentagens de recuperação (%R) e coeficientes de variação (%CV) obtidos pela análise dos extratos de maçã fortificados com os agrotóxicos em três concentrações.
- Tabela 9. Porcentagens de recuperação (%R) e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise dos extratos de tomate fortificados com os agrotóxicos em três concentrações.
- Tabela 10. Porcentagem de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após seis extrações dos agrotóxicos em cada matriz.
- Tabela 11. Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após análise dos extratos de maçã por CG/DCE ao longo de três dias, pelo mesmo analista.
- Tabela 12. Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após análise dos extratos de tomate por CG/DCE ao longo de três dias, pelo mesmo analista.
- Tabela 13. Equação de regressão do tipo “ $y = a.x + b$ ” para estudo do efeito de matriz.
- Tabela 14. Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV) dos agrotóxicos em extrato de tomate obtidos após extração QuEChERS com tempo de fortificação diferente.
- Tabela 15. Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV) dos agrotóxicos em extrato de maçã obtidos após extração QuEChERS com tempo de fortificação diferente.

## RESUMO

MANSUR, Bethânia Leite, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Agosto de 2013. **Estudo comparativo de métodos de extração multirresíduo de agrotóxicos em maçã e tomate.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Co-orientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e André Fernando de Oliveira.

Este estudo buscou comparar dois métodos de extração multirresíduo: a extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL/PBT) e a extração QuEChERS (do inglês *Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe Method*) de clorpirifós, deltametrina e tiametoxam em maçã e, clorpirifós,  $\lambda$ -cialotrina, cipermetrina e deltametrina em tomate, seguida da análise por Cromatografia Gasosa com Detector por Captura de Elétrons (CG/DCE). A partir dos resultados, nota-se que a linearidade de resposta do detector apresentou-se satisfatória para todos os compostos. Em relação aos aspectos cromatográficos, QuEChERS reduziu os ruídos da linha de base. Na validação dos métodos, a ESL/PBT apresentou menores valores de limite de detecção (LD entre 10 e 13  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) e quantificação (LQ entre 30 e 39  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). Quanto à linearidade, ambas as técnicas apresentam-se aceitáveis. Em relação à exatidão, ambas apresentaram boa exatidão, porém, menor na extração de deltametrina em tomate, em baixas concentrações. Na repetitividade, ambos os métodos apresentaram coeficiente de variação (CV) abaixo do máximo permitido de 15%. Na precisão intermediária do tomate, as duas técnicas apresentaram queda em menores concentrações dos analitos; na maçã, variou menos em função da mudança na concentração do analito pelo QuEChERS. Sobre o efeito de matriz, a ESL/PBT apresenta maior efeito de matriz, nas duas matrizes. Porém, com o aumento do tempo de fortificação da QuEChERS, seu efeito de matriz quase se iguala ou ultrapassa o da ESL/PBT. A modificação da ESL/PBT buscou diminuir o número de etapas no procedimento analítico. A opção por estudar o método QuEChERS original teve como objetivo mostrar que, com menos etapas no procedimento e outros fatores, resultados semelhantes a ESL/PBT podem ser obtidos, tornando esta última ainda assim mais viável de ser aplicada, por exemplo, para um grande número de amostras.

## ABSTRACT

MANSUR, Bethânia Leite, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2013. **Comparative study of multiresidue extraction methods of pesticides in apple and tomato.** Adviser: Antônio Augusto Neves. Co-advisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and André Fernando de Oliveira.

This study aimed to compare two multiresidue extraction methods: the solid-liquid extraction with low temperature partitioning (SLE/LTP) and the extraction QuEChERS (*Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe Method*) of the chlorpyrifos, deltamethrin and thiamethoxan in apple, and cypermethrin,  $\lambda$ -cyalothrin, chlorpyrifos and deltamethrin in tomato, as well as analysis by Gas Chromatography with Electron Capture Detector (GC/ECD). The results showed that the linearity of the detector response showed to be satisfactory for all compounds. In relation to the chromatographic aspects, QuEChERS reduced baseline shift. In the validation of methodologies, the SLE/LTP extraction had lower limit of detection (LOD of 10 to 13  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) and quantification (LOQ of 30 to 39  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ). As for linearity, both were acceptable. Regarding accuracy, both showed good accuracy but with less accuracy in the extraction of deltamethrin in tomatoes at low concentrations. In repeatability, the two methods presented coefficient of variation (CV) below the maximum allowed of 15%. In terms of intermediate precision in the tomato, both techniques decreased in lower concentrations of analytes. In apple, the intermediate precision varied less as a function of the change in the concentration of the analyte by the QuEChERS method. On the matrix effect, the SLE/LTP is more in both matrices. However, with increasing time fortification in QuEChERS methodology, its matrix effect is almost equal to or larger than the SLE/LTP. The modification of the SLE/LTP extraction tried to reduce the number of steps in the analytical procedure. The option to perform the method QuEChERS original aims to show that with fewer steps in the procedure, and other factors, similar results can be obtained using the SLE/LTP making it more feasible to be implemented, for example, a large number of samples.

## 1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade, na época em que tribos viviam da caça, da pesca e da coleta de vegetais, o ser humano passou a selecionar determinadas espécies alimentícias e a cultivá-las, estabelecendo a agricultura. Iniciam-se então os problemas decorrentes de eventuais danos causados às plantas por organismos diversos, ocasionando conseqüências ambientais, sociais e econômicas, a partir daí.

Sendo evidente a necessidade do controle de pragas e doenças nas lavouras, vários métodos foram desenvolvidos, com variedade de procedimentos: métodos mecânicos, físicos ou culturais (capina, barreira vegetal, poda, rotação de cultura); melhoramento genético de plantas em busca de resistência; controle biológico (inimigos naturais como predadores e parasitas) e; tratamento químico de plantas e partes dela – o método mais difundido.

As pesquisas no desenvolvimento de substâncias para controle químico de pragas e doenças começaram no século XIX, na região de Bordeaux, na França, pelo botânico Pierre Marie Alexis Milladert, que descobriu o efeito fungicida de um preparado a base de sulfato de cobre e cal, quando aplicado em videiras. A “calda bordalesa” é utilizada até hoje como fungicida em diversas plantas (MOURA, 2007).

A partir daí, a indústria de agroquímicos desenvolveu-se de forma extraordinária em todo o mundo e também no Brasil. Enquanto, nos últimos dez anos, o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190%. Em 2008, o Brasil passou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos. Na penúltima safra, que envolve o segundo semestre de 2010 e o primeiro semestre de 2011, o mercado nacional de venda de agrotóxicos movimentou 936 mil toneladas de produtos. A produção gerou 833 mil toneladas de agrotóxicos e a importação foi de 246 mil toneladas de produtos (MOLINA, 2013).

Existe ainda uma concentração do mercado de agrotóxicos em determinadas categorias de produtos: os herbicidas, por exemplo, representaram 45% do total de agrotóxicos comercializados; os fungicidas foram 14% do mercado nacional; os inseticidas 12% e as demais categorias de agrotóxicos 29% (MOLINA, 2013).

Porém, após a aplicação de um agrotóxico no campo, o mesmo passa a estar sujeito a processos físicos, químicos e biológicos, os quais irão determinar seu comportamento no ambiente e, em função de sua estabilidade, permanecer no solo, água ou em outras matrizes de interesse, como os alimentos.

Em razão deste potencial risco à saúde humana e ao meio ambiente, cada país estabeleceu um sistema próprio de regulação e controle. Entretanto, historicamente, ao longo das últimas décadas, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos no Brasil foi marcado por uma série de esforços isolados de órgãos estaduais de saúde, agricultura e instituições de pesquisas, fato que sempre impediu que o país tivesse uma noção clara dos níveis de agrotóxicos encontrados em seus produtos agrícolas (ANVISA, 2006).

Atento às necessidades citadas, o Governo Federal, no tocante aos alimentos produzidos e consumidos no Brasil, estabeleceu, no ano de 2001, o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura* que chegam à mesa do consumidor. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) coordena o Programa em conjunto com as vigilâncias sanitárias dos estados participantes, que realizam os procedimentos de coleta dos alimentos nos supermercados e de envio aos laboratórios para análise. O último relatório disponível pelo PARA é o referente ao ano de 2010.

Portanto, considerando a busca por alimentos mais saudáveis, que favorece a venda de produtos frescos bem como a demanda por alimentos industrializados ou semiprontos, nota-se crescente consumo de maçã e tomate, este último também pela consolidação de redes de *fast food*. Porém, de acordo com o último relatório emitido pelo PARA, cerca de 14 princípios ativos de agrotóxicos foram encontrados em amostras de maçãs disponíveis para o consumidor. Para o tomate, este número dobrou.

Neste sentido, este trabalho busca executar e comparar os parâmetros de validação de dois métodos de extração de agrotóxicos em tomate e maçã. Um deles, otimizado e validado no Laboratório de Química Analítica da Universidade Federal de Viçosa (LAQUA/UFV), e o outro, de reconhecimento e aplicação internacional.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura da maçã

A maçã (*Malus domestica*) é tão antiga quanto a história da humanidade, pois vem acompanhando o homem desde sua origem, com a imagem freqüentemente relacionada com o proibido, o tentador, o pecado. No Brasil, o cultivo da macieira é uma atividade relativamente recente: no início da década de 70, a produção anual de maçãs era de cerca de 1.000 toneladas. Com incentivos fiscais e apoio à pesquisa e extensão rural, o Sul do Brasil aumentou a produção de maçãs em quantidade e em qualidade, fazendo com que o país passasse de importador a auto-suficiente e com potencial de exportação (ABPM, 2013).

A maçã brasileira, com composição variada e equilibrada, é praticamente uma fruta “modelo”. Moderadamente energética é recomendada para todas as idades. As variedades brasileiras, Gala e Fuji, são consideradas excelentes do ponto de vista nutricional: baixo teor em proteínas e gorduras, pontos positivos para quem quer emagrecer, além de umedecer os pulmões (BRAZILIAN FRUIT, 2013). Na Tabela 1 está a composição nutricional da maçã.

**Tabela 1.** Valor nutritivo de 100 gramas de maçã.

Nutriente		Quantidade*	Unidade
Vitaminas	C	5	mg
	A	53	mg
Macro componentes	Água	83	g
	Energia	59	kcal
Minerais	Ca	7	mg
	Fe	0	mg
	Mg	5	mg
	P	7	mg
	K	115	mg

\*Valor por 100 g de porção comestível. Adaptado de BRAZILIAN FRUIT(2013).

A ação benéfica da maçã se dá principalmente pela presença de pectina e do alto teor de potássio, um elemento insubstituível na fisiologia do coração, indispensável na geração de energia para a atividade celular, nas contrações musculares e na transmissão de

estímulos nervosos. A presença de pectina, um tipo de carboidrato complexo que forma as fibras das frutas cítricas, uma vez dissolvido em água, produz uma massa gelatinosa, viscosa que absorve os ácidos biliares no tubo digestivo, diminuindo-os junto com as fezes. Deste modo, não havendo a reciclagem dos ácidos biliares no tubo digestivo, o organismo mobiliza o colesterol para formar novos ácidos biliares, indispensáveis no metabolismo das gorduras e do colesterol, conseqüentemente diminui-se a taxa de colesterol sérico do organismo, que evita a deposição de gorduras na parede arterial, evitando a arteriosclerose, melhorando a circulação sangüínea, reduzindo o trabalho cardíaco, prolongando a vida útil do coração (BRAZILIAN FRUIT, 2013; ABPM, 2013).

A macieira é uma cultura perene, de ciclo longo e, por isso, está sujeita a várias pragas como a mosca das frutas (*Anastrepha fraterculus*), lagarta enroladeira (*Bonagota cranaodes*), ácaro vermelho europeu (*Panonychus ulmi*), grafolita ou mariposa oriental (*Grapholita molesta*), cochonilha (*Dactylopius coccus*) e pulgão lanígero (*Eriosoma lanigera*) (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003).

Ainda segundo Valdebenito-Sanhueza (2003), a produção integrada de maçã (PIM) busca manejar a cultura para que as plantas possam expressar sua resistência natural às pragas e patógenos e para que sejam protegidos os organismos benéficos. Porém, ainda assim, o uso de agrotóxicos ainda é a maneira mais cômoda para o combate às pragas e doenças, principalmente os fungicidas e inseticidas.

No caso de inseticidas aplicados na cultura da maçã, o AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos e Fitossanitários) esclarece que a deltametrina, inseticida/formicida, é de aplicação nas partes aéreas; o clorpirifós, acaricida, de aplicação foliar e o tiametoxam, inseticida de aplicação no solo. Estes serão os compostos estudados neste trabalho, para a maçã (MAPA, 2013).

## 2.2 A cultura do tomate

O tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*), originário da América do Sul, é cultivado em quase todo o mundo, e a sua produção global duplicou nos últimos 20 anos. A produção brasileira de tomate para industrialização, ou tomate rasteiro, começou em Pernambuco, no município de Pesqueira, no final do século XVIII. Porém, a cultura

experimentou um grande impulso apenas a partir da década de 1950, no Estado de São Paulo, viabilizando a implantação de diversas agroindústrias. Na década de 80, ela expandiu-se na região Nordeste, especialmente em Pernambuco e no Norte da Bahia (CARVALHO & PAGLIUCA, 2007).

Um dos principais fatores para a expansão da cultura é o crescimento do consumo, devido aos altos teores de vitaminas A e C, além de ser rico em licopeno, substância esta presente tanto no fruto fresco como no processado, que ajuda na prevenção de cânceres, principalmente aqueles relacionados ao aparelho digestivo (CARVALHO & PAGLIUCA, 2007).

O fruto do tomateiro possui em sua composição de 93% a 95% de água. Nos 5% a 7% restantes, encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares e outros compostos, como observado na Tabela 2 (SILVA & GIORDANO, 2006).

**Tabela 2.** Composição dos frutos maduros de tomate.

<b>Componete</b>	<b>Quantidade</b>
Vitamina A ( $\beta$ -caroteno)	900-1271 i.u.*
Vitamina B1 (tiamina)	50-60 mg
Vitamina B2 (riboflavina)	20-50 mg
Vitamina B3 (ácido pantotênico)	50-750 mg
Vitamina do complexo B6	80-110 mg
Vitamina C	15.000-23.000 mg
Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol)	40-1.200 mg
Ácido fólico	6,4-20 mg
K, Ca, Mg e P	8**
Ácido cítrico	9**
Frutose	25**
Glucose	22**
Proteínas	8**

\*i.u.(unidade internacional) = 0,6 mg de  $\beta$ -caroteno.

\*\*% na matéria seca.

Adaptado de (SILVA & GIORDANO, 2006).

Porém, assim como na maçã, muitas doenças atacam o tomateiro, causando grande redução da produtividade e da qualidade do produto. Entre as doenças causadas por bactérias, destacam-se o cancro-bacteriano (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*), a mancha-bacteriana (*Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria*), a pinta-bacteriana (*Pseudomonas syringae pv. tomato*), a murcha-bacteriana (*Ralstonia*

*solanacearum*), o talo-oco e a podridão mole dos frutos (*Erwinia spp.*). Os fungos causam doenças como a mancha-de-estenfilio (*Stemphyllium spp.*), a mela-de-rizoctonia (*Rhizoctonia solani*), a murcha-de-fusário (*Fusarium oxysporum fsp. lycopersici*) e murcha-de-verticílio (*Verticillium dahliae*), a pinta-preta (*Alternaria solani*), a podridão-de-esclerócio (*Sclerotium rolfsii*) e a podridão-de-esclerotínia (*Sclerotinia sclerotiorum*), requeima (*Phytophthora infestans*) e septoriose (*Septoria lycopersici*). Além destas, há ainda as doenças causadas por nematóides e vírus (SILVA & GIORDANO, 2006).

Silva & Giordano (2006) esclarecem também que, dentre as pragas do tomateiro, se destacam a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), a mosca branca (*Bemisia argentifolii*), ácaros (*Aculops lycopersici*), larva minadora (*Liriomyza huidobrensis*), tripes (*Frankliniella spp.*), pulgões (*Myzus persicae*), lagarta-rosca (*Agrotis spp*) e burrinho (*Epicauta suturalis*).

Para combate a estas pragas, consta no sistema AGROFIT que o clorpirifós, a cipermetrina, deltametrina e a  $\lambda$ -cialotrina, todos inseticida/formicida/acaricida, são de aplicação foliar, nas partes aéreas da planta. Estes serão os compostos estudados neste trabalho, em tomate (MAPA, 2013).

### 2.3 Agrotóxicos em estudo

Segundo o decreto nº 4.074 de 8 de Janeiro de 2002, a definição para agrotóxico e afins é dada por:

“[...] produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (BRASIL, 2002).

Para que, desta forma, o agrotóxico seja eficaz na manutenção do potencial produtivo, controlando a dispersão de diversas pragas, as formulações dos produtos

comerciais são compostas por princípios ativos de classes químicas variadas que, juntos, irão cumprir a sua função, mas além de cumprirem o papel de proteger as culturas agrícolas das pragas, doenças e plantas daninhas, podem oferecer riscos à saúde humana e ao ambiente.

Neste sentido, o último relatório do PARA disponibilizado pela ANVISA mostrou que nas 146 amostras de maçã analisadas, cerca de 8,9% apresentaram ingredientes ativos não-autorizados ou acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR) permitido para a cultura. Isto parece irrelevante, mas dos 14 ingredientes ativos detectados, 8 são da classe dos organofosforados, incluindo o clorpirifós, e 2 da classe dos piretróides, incluindo a deltametrina. Neste relatório, não foi detectada a presença de tiametoxam (neonicotinóide), mas o mesmo foi incluído neste estudo em função de seu uso e popularidade (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2003; ANVISA, 2011).

Já os resultados do tomate no último relatório do PARA mostram que, das 141 amostras analisadas, um total de 16,3% apresentaram ingredientes ativos não-autorizados ou acima do LMR permitido. Dos 28 ingredientes ativos detectados, 8 são da classe dos organofosforados e 4 são piretróides, ou seja, dentre os detectados, identificam-se o clorpirifós, a cipermetrina e a deltametrina. A  $\lambda$ -cialotrina, apesar de não ter sido detectada durante a última análise do PARA, foi incluída neste estudo também por causa de seu uso e popularidade (SILVA & GIORDANO, 2006; ANVISA, 2011).

Além dos relatórios do PARA, a ANVISA disponibiliza em seu portal “monografias autorizadas” as quais são o resultado da avaliação e reavaliação toxicológica dos ingredientes ativos destinados ao uso agrícola, domissanitário, não agrícola, ambientes aquáticos e preservante de madeira. Estas monografias trazem, entre outras informações, os nomes comum e químico, a classe de uso, a classificação toxicológica e as culturas para as quais os ingredientes ativos encontram-se autorizados, com seus respectivos LMR. Todos os agrotóxicos escolhidos para este estudo possuem monografia autorizada pela ANVISA<sup>1</sup>.

Porém, para este estudo, não somente a fórmula química e estrutural dos agrotóxicos, bem como os valores de LMR e a classe química são relevantes. Por isso, a Tabela 3 contém outras características de interesse para o estudo dos agrotóxicos em maçã e tomate.

---

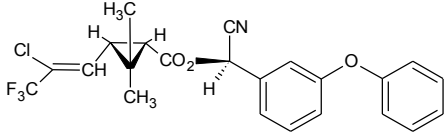
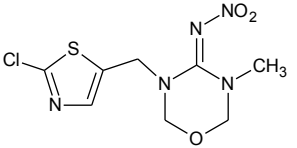
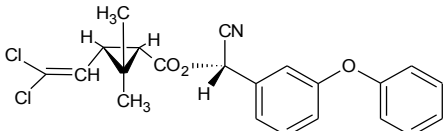
<sup>1</sup>Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos>> Acesso em 12/07/2012.

Segundo o dossiê da Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), os organofosforados (OP) são de grande importância para a saúde pública em decorrência de sua elevada toxicidade, a qual está relacionada às ligações P=O existentes nas suas estruturas ou em seus metabólitos. Além disso, o clorpirifós e outros OP estão em processo de revisão de seus registros pela ANVISA desde 2008 (AUGUSTO et al., 2012).

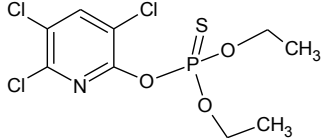
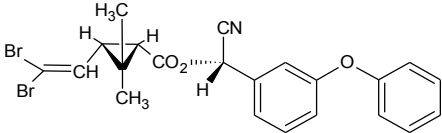
Os piretróides são os derivados sintéticos das piretrinas, ésteres tóxicos isolados das flores das espécies de *Chrysanthemum cinerariaefolium*. A mudança estrutural para modificar a estrutura química com o intuito de se obter substâncias com maior estabilidade e potencial inseticida, manteve relativamente baixa a toxicidade aguda em mamíferos. E, assim como os OP, os efeitos da toxicidade dos piretróides são função direta de sua estrutura química, a ausência ou presença do grupo ciano/CN (SANTOS et al., 2007).

Por sua vez, o neonicotinóides ou cloronicotinóis, classe de compostos que tiveram origem na molécula de nicotina, são também divididos em dois grupos em função da sua estrutura química: a 1ª Geração caracteriza-se por conter o grupo cloropiridinil, o qual foi substituído pelo clorotiazolidil na 2ª Geração. Esta classe apresenta aparente segurança devida, em grande parte, à sua grande seletividade para atuar em insetos, sendo inativos nos vertebrados e por este motivo apresentam menos efeitos secundários que outras classes de inseticidas. Dentre os neonicotinóides, o tiametoxam é o composto mais solúvel em água (FISHEL, 2013).

Tabela 3. Principais características dos agrotóxicos em estudo.

Ingrediente ativo	Fórmula Química e Estrutural	GQ <sup>1</sup>	TE <sup>2</sup>	MM <sup>3</sup>	S <sub>w</sub> <sup>4</sup>	K <sub>ow</sub> <sup>5</sup>	Matriz	LMR <sup>6</sup>			
								Anvisa	Codex	UE	
	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>										
λ-cialotrina (λ-cyhalothrin)	 <p>(R)-α-cyano-3-phenoxybenzyl (1S, 3S)-3-[(Z)-2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl]-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate</p>	P	489,9	449,8	5.10 <sup>-3</sup>	7,94.10 <sup>6</sup>	Tomate	50	-	100	
	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S										
Tiametoxam (thiamethoxam)	 <p>3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine</p>	N	485,8	291,7	4.10 <sup>3</sup>	7,41.10 <sup>-1</sup>	Maçã	300	-	300	
	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>										
Cipermetrina (cypermethrin)	 <p>(RS)-α-cyano-3-phenoxybenzyl (1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate</p>	P	511,3	416,3	9.10 <sup>-3</sup>	2,00.10 <sup>5</sup>	Tomate	500	200	500	

**Tabela 3.** Principais características dos agrotóxicos em estudo (continuação).

Ingrediente ativo	Fórmula Química e Estrutural	GQ <sup>1</sup>	TE <sup>2</sup>	MM <sup>3</sup>	S <sub>w</sub> <sup>4</sup>	K <sub>ow</sub> <sup>5</sup>	Matriz	LMR <sup>6</sup>		
								Anvisa	Codex	UE
Clorpirifós (chlorpyrifos)	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ 	OP	375,9	350,9	1,05	$5,01 \cdot 10^4$	Maçã Tomate	1000	-	500
	500							1000	500	
Deltametrina (deltamethrin)	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ 	P	535,8	505,2	$2 \cdot 10^{-4}$	$3,98 \cdot 10^4$	Maçã Tomate	200	200	200
	30							300	300	
	(S)- $\alpha$ -cyano-3-phenoxybenzyl(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate									

<sup>1</sup>GQ: grupo químico - OP: organofosforado / P: piretróide / N: neonicotinóide. <sup>2</sup>TE: temperatura de ebulição (°C, 760 mmHg). <sup>3</sup>MM: massa molar (g mol<sup>-1</sup>). <sup>4</sup>S<sub>w</sub>: coeficiente de partição octanol-água (pH 7, a 20 °C). <sup>5</sup>K<sub>ow</sub>: coeficiente de partição octanol-água (pH 7, a 20 °C). <sup>6</sup>LMR: Limite Máximo de Resíduos (µg kg<sup>-1</sup>).

Fonte: CHEMSPIDER, 2013; IUPAC, 2013; CODEX ALIMENTARIUS, 2013; EU PESTICIDES DATABASE, 2013; MAPA, 2013.

## 2.4 Métodos de extração multirresíduos

Dentre as etapas de um procedimento analítico, o preparo da amostra tem como objetivo converter uma matriz real em uma amostra disponível para análise por técnicas instrumentais. É a etapa determinante na obtenção de bons resultados, pois, em se tratando de amostras complexas, sólidas ou semi-sólidas como amostras ambientais e de alimentos, amostras estas com baixas concentrações dos analitos de interesse e diversidade de constituintes da própria matriz, as mesmas não podem ser analisadas sem a etapa prévia de preparo (RAMOS, 2012).

Ainda segundo Ramos (2012), considerando a natureza e objetivo das operações de preparo de amostra, fica evidente que esta é a parte do procedimento analítico que exerce profunda influência no tempo total gasto para finalizar a análise, além da obtenção de bons resultados, como dito anteriormente. Há décadas as técnicas de preparo de amostras ainda seguem etapas tediosas, consumindo grande quantidade de reagentes orgânicos, envolvendo a manipulação repetida dos extratos ou exaustivas extrações. Por razões óbvias, a autora afirma que o ideal seria a eliminação da etapa de preparo de amostra, mas como isto ainda está longe de ocorrer, conceitos como miniaturização e simplificação vem surgindo e contribuindo muito nesta etapa inicial (RAMOS, 2012).

Técnicas como a extração líquido-líquido (ELL), a extração Soxhlet ou a extração em fase sólida (EFS) são bem aceitas e ainda muito utilizadas em análises de rotinas. Contudo, recentemente, algumas delas têm sido revisadas e atualizadas com as novas necessidades que a etapa de preparo de amostras requer. Neste trabalho, dois métodos de preparo de amostras serão estudados: uma variação da extração líquido-líquido, a extração sólido-líquido, e a extração QuEChERS.

A extração líquido-líquido (ELL) é uma técnica de simples execução, não exige instrumentação sofisticada, mas apresenta contratempos na extração de analitos lipofílicos em amostras gordurosas. Para tentar solucionar este obstáculo, o Grupo de Pesquisa do Laboratório de Química Analítica da Universidade Federal de Viçosa (LAQUA/UFV) desenvolveu, recentemente, o método de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em leite, obtendo taxas de recuperação próximas de 90%, não sendo necessárias outras etapas de purificação (GOULART et al., 2008). Além

do leite, o Grupo de Pesquisa também aplicou a partição em baixa temperatura em associação com a dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) na análise de piretróides em manteiga, alcançando porcentagens de recuperação e eficiência de extração elevadas (MARTHE et al., 2010).

Durante a troca de experiências em congressos e demais eventos, alguns pesquisadores relatam informalmente que não têm conseguido boa reprodutibilidade e eficiência na extração ELL-PBT. Apesar disso, outros trabalhos como o de Lopes et al. (2008), Rübensam et al. (2011) e Magalhães et al. (2012), evidenciaram o potencial da técnica. Paralelamente, o Grupo de Pesquisa tem aplicado a ELL-PBT na detecção e quantificação de outros pesticidas em água (VIEIRA et al., 2007), café bebida (ALVES, 2010), mel (PINHO et al., 2010b), dentre outros.

Em relação à extração QuEChERS (do inglês *Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe Method*), diversos autores argumentam ser um método eficiente, que reduz as fontes de erros e melhora a eficiência no laboratório por utilizar mínima quantidade de amostra, além da simplicidade e remoção de etapas manuais.

O método QuEChERS original (ANASTASSIADES et al., 2003) foi modificado ao longo do tempo para extração de pesticidas em páprica (WOO et al., 2011); alimentos cozidos (PARK et al., 2011); arroz (PAREJA et al., 2011); sangue e urina (USUI et al., 2012); água e sedimentos (BRONDI et al., 2011b); cebola (RODRIGUES et al., 2011); sucos de frutas (ROMERO-GONZÁLEZ et al., 2008); cereais (SANTILIO et al., 2011); mel (KANDA et al., 2011); óleo de soja (NGUYEN et al., 2010); tabaco (LEE et al., 2008); azeitona, laranja, morango e pepino (GARRIDO FRENICH et al., 2008); banana (GONZÁLEZ-CURBELO, 2011); leite (JEONG et al., 2012) e outros.

A notável aplicação deste método se deve, principalmente, aos reagentes utilizados no processo de *clean up*, como adsorventes e removedores de água: para a maioria das amostras, utiliza-se a extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) com uma mistura de PSA (amina primária-secundária) e  $MgSO_4$ ; para remoção de lipídios, a mistura contém PSA,  $MgSO_4$  e ODS (octadecilsilano); para remoção de clorofila e carotenóides, o ODS é substituído por GCB (carbono grafitizado); por fim, também para a remoção de lipídios, bem como outros co-extrativos de baixa solubilidade em acetonitrila, o método indica o resfriamento por no mínimo 2 h, antes da adição dos adsorventes citados anteriormente.

Porém, estudos têm mostrado que ocorre extração de gorduras junto com os analitos de interesse (BRONDI et al., 2011a; GARRIDO FRENICH et al., 2008), promovendo a baixa recuperação de pesticidas lipofílicos (ANASTASSIADES et al., 2003). Por este motivo, o QuEChERS tem sido recomendado para a extração de pesticidas polares e semipolares em amostras menos gordurosas (LEHOTAY et al., 2005), situação esta que apresenta boa sensibilidade e seletividade, principalmente, devido à etapa de extração em fase sólida dispersiva (D-SPE).

Além disso, o método recomenda a adição de água de acordo com a quantidade e o tipo de matriz: para cereais, devem ser adicionados 10 g de água em 5 g de amostra; para frutas secas, adiciona-se 7,5 g de água em 5 g de amostra; para frutas e vegetais com mais de 80% de água em sua constituição, nenhuma quantidade de água precisa ser adicionada; caso o conteúdo de água da fruta ou do vegetal seja entre 25 e 80%, em 10 g de amostra deve-se adicionar  $X$  g de água, em que  $X = 10$  g – quantidade de água nestes 10 g de amostra<sup>2</sup>.

Um trabalho interessante a se destacar é o de Brondi e colaboradores (2013). No preparo de amostra, os autores utilizaram o método QuEChERS original, proposto em 2003 por Anastassiades e seu grupo de pesquisa. Isto é, após a partição líquido-líquido com a adição de  $MgSO_4$  e  $NaCl$ , seguida da etapa de *clean up* com PSA,  $C_{18}$  e  $MgSO_4$ , parte do sobrenadante foi congelado durante 2 h, para posterior análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). O trabalho de Brondi e colaboradores buscou aliar a ESL/PBT à extração QuEChERS, obtendo altos valores de recuperação e cromatogramas livres de interferentes nas regiões dos picos dos analitos de interesse (BRONDI et al., 2013).

## 2.5 Técnicas de análise multirresíduo

A análise de resíduos de agrotóxicos envolve duas etapas: 1) a extração dos analitos de interesse da matriz, que pode ou não ser acompanhada por uma etapa posterior de purificação, dependendo das características da matriz e do tipo de extração utilizada; e 2) a

---

<sup>2</sup> Disponível em <<http://quechers.cvua-stuttgart.de/index.php?nav1o=1&nav2o=0&nav3o=0>>, Acesso em: 25/08/2013.

determinação qualitativa e quantitativa, que frequentemente é realizada empregando técnicas cromatográficas (QUEIROZ et al., 2008).

A primeira etapa, o preparo da amostra, já foi discutida anteriormente. Na segunda etapa, desde os anos 70 têm-se utilizado a técnica de cromatografia gasosa (CG) acoplada a sistemas clássicos de detecção como, por exemplo, a detecção por captura de elétrons (*Electron Capture Detection/ECD*), a detecção de compostos nitrogenados e fosforados (*Nitrogen and Phosphorus Detection/NPD*) e a detecção por fotometria de chama (*Flame Photometric Detection/FPD*) para a determinação de resíduos de pesticidas (PRESTES et al., 2009).

Recentes trabalhos têm apresentado a eficiência da cromatografia gasosa acoplada a alguns destes detectores. Por exemplo, Zhang e colaboradores, reafirmando a popularidade e aplicabilidade do detector ECD, realizaram experimentos que comprovaram que a sensibilidade do  $\mu$ ECD à pesticidas organofosforados foi maior do que com detector FDP, apresentando limite de detecção menor que  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ . Os autores não desmereceram o detector FDP, coloram-no como opcional na detecção de organofosforados e reforçaram que, compostos que não contem átomos de fósforo e enxofre não poderiam ser detectados por este (ZHANG et al., 2012).

O acima exposto ocorre, pois, caso se introduza uma pequena quantidade de um composto que apresente grande afinidade por elétrons, haverá diminuição da corrente de fundo, já que eles serão capturados pelo composto introduzido. O valor da queda da corrente é proporcional à quantidade do composto eletroceptor introduzida e, desta forma, esta medida da diminuição da corrente é utilizada para o cálculo quantitativo de espécies de alta eletroafinidade (CIOLO, 1985).

## 2.6 Validação dos métodos

Os procedimentos de validação adotados neste trabalho seguem as normas do “Manual de Garantia da Qualidade Analítica – Resíduos e Contaminantes em Alimentos”, estabelecido pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA, 2011).

Os parâmetros e os critérios de validação aplicáveis às determinações dos analitos (resíduos ou contaminantes) devem levar em consideração o nível de concentração de

interesse, ou simplesmente o nível de interesse no qual alguma decisão será tomada: limite máximo permitido ou limite máximo de resíduo (LMR) ou teor máximo de contaminante (TMC) ou limite mínimo de desempenho requerido (LMDR), ou o limite de quantificação (LQ) ou semelhantes.

Ainda segundo o MAPA, para substâncias permitidas devem ser levados em consideração os Limites Máximos Permitidos (LMR ou TMC). E esta foi a opção adotada neste trabalho, uma vez que a ANVISA disponibiliza as monografias autorizadas do clorpirifós, tiametoxam, deltametrina, cipermetrina e  $\lambda$ -cialotrina.

### 2.6.1. Seletividade

A seletividade é a extensão na qual um procedimento analítico pode determinar analito (s) particular (es) em mistura (s) ou matriz (es) sem a interferência de outros componentes de comportamento semelhante. Portanto, é a capacidade do procedimento analítico de discriminar entre a substância a analisar e substâncias análogas (isômeros, metabólitos, produtos de degradação, substâncias endógenas, componentes da matriz, isóbaros e componentes que possam gerar interferência poliatômica, entre outras).

A verificação da seletividade do procedimento analítico deve ser realizada a partir da comparação entre os sinais (no caso, a resposta instrumental do detector do cromatógrafo) dos analitos em solvente puro e na matriz fortificada, após passar pelo método (MAPA, 2011).

### 2.6.2. Linearidade, curva analítica e sensibilidade

A linearidade do método reflete sua propriedade de produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado, isto é, produzir curvas analíticas que podem ser adequadamente ajustadas pela equação de uma reta.

A sensibilidade do procedimento analítico é determinada pela inclinação da curva analítica. Se a curva for uma reta, a sensibilidade é constante em toda a faixa de trabalho e é determinada pela inclinação desta reta. Por isso, um dos fatores que pode reduzir o tamanho

da faixa de trabalho é a redução da sensibilidade da curva analítica em algum de seus extremos. Nesse caso pode ocorrer que a faixa de trabalho vá do limite de quantificação (LQ), em unidades de concentração do analito na amostra até uma dada concentração máxima. Vale esclarecer que, a faixa de trabalho deve compreender os valores de LMR (MAPA, 2011).

Sobre as curvas analíticas, devem ser construídos três tipos:

- I. *Curva Analítica do Analito em Solução*: construída a partir dos padrões do analito em solvente puro;
- II. *Curva Analítica da Matriz Fortificada*: construída a partir da matriz fortificada com os padrões do analito, após passar pelo método de extração;
- III. *Curva Analítica do Extrato da Matriz Fortificado*: construída a partir do extrato da matriz, obtido após passar pelo método, e fortificado com os padrões do analito.

Estas curvas devem ser obtidas a partir de, no mínimo, cinco níveis de concentração, preferencialmente distribuídos de forma equidistante, em triplicata. Caso seja verificado que a curva analítica não é estatisticamente bem representada por uma função afim (uma reta), podem-se ajustar outros tipos de funções, incluindo os polinômios de ordem superior a um (curva analítica polinomial), no máximo de terceiro grau (MAPA, 2011).

### **2.6.3. Limites de detecção e quantificação**

O limite de detecção (LD) do método representa a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando determinado procedimento experimental. Por sua vez, o limite de quantificação (LQ) é justamente a menor concentração que poder ser medida com segurança.

A maneira adotada neste trabalho para o cálculo de LD e LQ é baseada em parâmetros da curva analítica Tipo II:

$$LD = 3,3 \frac{s}{S} \qquad LQ = 10 \frac{s}{S} \qquad \text{Equação (1)}$$

Em que “s” é a estimativa do desvio padrão da resposta e “S” é a inclinação (“slope”) da curva analítica (RIBANI et al., 2004). Utilizando a função “=proj.lin.” no software Excel, os resultados são apresentados num conjunto de cinco linhas (L1, L2, L3, L4 e L5) e duas colunas (C1 e C2), de modo que, “s” é o valor expresso em L2C2 e “S” o valor em L1C1.

#### 2.6.4. Exatidão

A exatidão, também chamada de veracidade, representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.

Para avaliar a exatidão, neste trabalho optou-se pelos ensaios de recuperação, por intermédio da matriz fortificada, pois a recuperação tem por objetivo corrigir o resultado da análise dos erros sistemáticos oriundos dos efeitos de extração e das perdas advindas de todas as etapas da marcha analítica, realizadas até a leitura da resposta instrumental, tais como limpeza (*clean up*), diluições ou pré-concentração, derivatizações, secagens.

Para isso, deve-se fortificar, em sextuplicata, a matriz branca em três níveis de concentração e executar a extração. A exatidão será confirmada se o valor do coeficiente de variação (CV), expresso em porcentagem, for menor que 15% (MAPA, 2011).

#### 2.6.5. Precisão

A precisão de um método é a estimativa da dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. As maneiras de expressá-la, adotadas neste trabalho, são por meio da repetitividade e da precisão intermediária.

A repetitividade é a precisão intracorrída, ou seja, é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas, efetuadas sob as mesmas condições de medição. Ribani

e colaboradores complementam que, a repetitividade pode ser expressa por meio da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV), e que, as condições de medição são, por exemplo, mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sobre as mesmas condições, mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo (RIBANI et al., 2004).

A precisão intermediária engloba o conceito de repetitividade, porém é avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, mesmo laboratório, mas alterando algumas condições, tais como: dias de análise, analistas, equipamentos e condições ambientais, entre outras, se necessário. Neste trabalho, alterou-se os dias de análise.

O procedimento para determinação da repetitividade é preparar, passar pelo método e analisar um conjunto de seis amostras fortificadas, no mínimo em três níveis de concentração, de modo que o valor do LMR se encontre na região central dos níveis de fortificação. Para este trabalho, o procedimento para determinar a precisão intermediária consistiu em executar os passos da repetitividade ao longo de três dias não consecutivos e analisar os extratos obtidos no mesmo dia (MAPA, 2011).

Para que a precisão seja confirmada, o valor do coeficiente de variação (CV) para a repetitividade e precisão intermediária também deve ser menor que 15%.

#### **2.6.6. Efeito de matriz**

Quando os analitos de interesse, preparados em solvente puro, encontram-se em concentrações mais baixas e são injetados no sistema cromatográfico, parte expressiva deles é retida na interface do injetor e o pouco restante é detectado. Por outro lado, quando a proporção entre componentes de matriz e analito é muito alta, apenas uma quantidade insignificante do analito é adsorvida, uma vez que os constituintes da matriz disputam pela interação com os sítios ativos do injetor (HAJŠLOVÁ et al., 1998). A este fenômeno dá-se o nome de efeito de matriz.

Na década de 80, foram publicados os primeiros trabalhos que investigaram a influência da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia (HERNÁNDEZ et al., 1990; MALLET & MALLET, 1989; STAN & GOEBEL, 1983/1984). Porém, Erney et al.

(1993) são considerados os pioneiros ao estudarem sistematicamente o efeito de matriz na análise de organofosforados em leite e ovos, por CG.

A construção de uma curva “tipo III”, apresentada no item 2.6.2, pode compensar o efeito de matriz ou de possíveis interferentes de matrizes complexas. Este procedimento, denominado “superposição de matriz”, fornece melhor correspondência com a composição da amostra em comparação com a padronização externa (RIBANI et al., 2004).

Ribani e colaboradores relatam ainda que alguns autores acreditam que o efeito dos co-extrativos sobre a resposta da substância de interesse deveria ser avaliado pela comparação da superposição de matriz com a padronização externa (padrões preparados em solvente puro). Esta foi a estratégia adotada neste trabalho para avaliar o efeito de matriz. Desta forma, o efeito de matriz pode ser calculado da seguinte maneira (FRIGGI, 2008):

$$\% EM = \frac{(X_1 - X_2)}{X_2} \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

% EM: valor em porcentagem do Efeito de Matriz

X<sub>1</sub>: média das áreas na solução padrão do agrotóxico, preparada em extrato da matriz, numa dada concentração;

X<sub>2</sub>: média das áreas na solução padrão do agrotóxico, preparada em solvente puro, em dada concentração.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Preparo das soluções

Partindo de soluções-padrão estoque de cada agrotóxico, na concentração de 1.000,0 e 8.880,0 mg L<sup>-1</sup> para clorpirifós (99,0% m/m) e 10.000,0 mg L<sup>-1</sup> para cipermetrina (92,4% m/m) - padrões adquiridos da Chem Service, West Chester, PA, USA; 590,2 mg L<sup>-1</sup> para deltametrina (99,7% m/m) e 1.000,0 mg L<sup>-1</sup> para tiametoxam (99,7% m/m) - padrões adquiridos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha); e 1.000,0 mg L<sup>-1</sup> para λ-cialotrina (86,5% m/m) – padrão adquirido da Syngenta (São Paulo, Brasil). Todos os padrões foram preparados pela solubilização dos sólidos em acetonitrila da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) grau HPLC.

As soluções de trabalho contendo os agrotóxicos foram preparadas em função do LMR de cada composto em cada uma das matrizes e armazenadas em geladeira à temperatura de aproximadamente 4,0 °C. Desta forma, foram preparadas quatro soluções trabalho:

*Solução A:* clorpirifós 200,0 mg L<sup>-1</sup>; deltametrina 40,0 mg L<sup>-1</sup>; tiametoxam 60,0 mg L<sup>-1</sup>.

*Solução B:* clorpirifós 125,0 mg L<sup>-1</sup>; deltametrina 25,0 mg L<sup>-1</sup>; tiametoxam 37,5 mg L<sup>-1</sup>.

*Solução C:* clorpirifós 100,0 mg L<sup>-1</sup>; λ-cialotrina 10,0 mg L<sup>-1</sup>; cipermetrina 100,0 mg L<sup>-1</sup>; deltametrina 6,0 mg L<sup>-1</sup>;

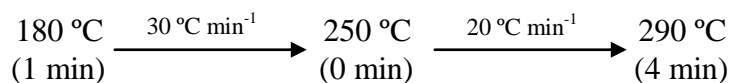
*Solução D:* clorpirifós 50,0 mg L<sup>-1</sup>; λ-cialotrina 5,0 mg L<sup>-1</sup>; cipermetrina 50,0 mg L<sup>-1</sup>; deltametrina 3,0 mg L<sup>-1</sup>.

As soluções A e B foram utilizadas para fortificar as amostras de maçã, submetidas aos procedimentos da extração QuEChERS e ESL/PBT, respectivamente. As soluções C e D foram utilizadas para fortificar as amostras de tomate, submetidas aos mesmos procedimentos, respectivamente.

### 3.2 Análise cromatográfica

As análises qualitativas e quantitativas dos princípios ativos estudados foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-2014, com detector por captura de elétrons (DCE), equipado com auto-injetor AOC-20i. As condições analíticas tais como programação de aquecimento da coluna cromatográfica, temperaturas do injetor e do detector, modo de injeção, e vazão do gás de arraste, foram determinadas visando um tempo de análise curto, boa resolução e separação dos picos dos agrotóxicos de interesse. Sendo assim, as condições cromatográficas foram:

- ✓ Coluna capilar DB-5 da Agilent Technologies, com fase estacionária composta de 5% de difenil e 95 % de dimetilsiloxano; 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.
- ✓ Programação de aquecimento da coluna:



- ✓ Tempo total de análise: 9,33 minutos
- ✓ Temperatura do injetor: 280,0  $^{\circ}\text{C}$
- ✓ Temperatura do detector: 300,0  $^{\circ}\text{C}$
- ✓ Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$
- ✓ Divisão de fluxo: 1:5
- ✓ Gás de arraste: nitrogênio
- ✓ Vazão do gás de arraste: 1,15  $\text{mL min}^{-1}$

### 3.3 Preparo e fortificação das amostras

As maçãs (tipo Nacional Média) e os tomates (tipo Carmen do grupo Saladete) foram adquiridos no mercado da cidade de Viçosa/MG e os experimentos foram executados no Laboratório de Química Analítica (LAQUA) do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV/MG).

Primeiramente, as amostras foram lavadas com detergente, enxaguadas com água corrente e, em seguida, trituradas separadamente no mixer até total homogeneização, para posterior armazenamento sob refrigeração. Parte do extrato foi submetida a cada uma das extrações a fim de se verificar a ausência dos agrotóxicos em estudo.

Considerando a quantidade de polpa necessária para cada extração (ESL/PBT e QuEChERS), as amostras foram fortificadas com as soluções descritas no item 4.1, em função do LMR dos agrotóxicos em cada matriz (Tabela 4).

**Tabela 4.** Volume adicionado ( $\mu\text{L}$ ) de solução padrão para fortificação das amostras de tomate e maçã, em função dos valores de LMR.

Solução	Concentração de Fortificação (x LMR, $\text{mg kg}^{-1}$ )							
	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	
Maçã	<i>QuEChERS (<math>m_a</math>)</i>							
	A	25,0	38,0	50,0	62,0	75,0	88,0	100,0
	<i>ESL/PBT (<math>m_m</math> e <math>m_t</math>)</i>							
	B	12,0	18,0	24,0	30,0	36,0	42,0	48,0
Tomate	<i>QuEChERS (<math>m_a</math>)</i>							
	C	25,0	38,0	50,0	62,0	75,0	88,0	100,0
	<i>ESL/PBT (<math>m_m</math> e <math>m_t</math>)</i>							
	D	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0	80,0

LMR (maçã): clorpirifós  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ; tiametoxam  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ ; deltametrina  $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ;

LMR (tomate): clorpirifós e cipermetrina  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ;  $\lambda$ -cialotrina  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ ; deltametrina  $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ ;

$m_a$ : massa de amostra =  $10,0 \text{ g}$  (tomate ou maçã);

$m_m$ : massa de maçã =  $3,00 \text{ g}$ ;  $m_t$ : massa de tomate =  $4,00 \text{ g}$ .

### 3.4 Extração dos agrotóxicos

Após a trituração e homogeneização das amostras, as polpas foram armazenadas sob refrigeração constante até a etapa de extração.

#### 3.4.1 ESL/PBT

Para esta extração, empregou-se os métodos otimizados por Pussente (2008) em maçã e por Pinho et al. (2010a) em tomates, porém modificados.

Na extração dos agrotóxicos em tomate, cerca de 4,00 g de polpa, adicionados em frascos de 22,0 mL com tampa rosqueável, foram fortificados com os volumes das soluções descritas no item 3.1, nos níveis estabelecidos em 3.3. Após o tempo de fortificação de 2 h, no qual os frascos foram mantidos destampados e em repouso, adicionou-se 0,50 mL de água destilada juntamente com a fase extratora composta de 6,50 mL de acetonitrila e 1,50 mL de acetato de etila. Em seguida, a mistura foi submetida a 10 minutos de banho no ultrassom e resfriado a  $-20,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 6 h.

Para a extração dos agrotóxicos em maçã, o procedimento foi semelhante. Cerca de 3,00 g de polpa, colocados em frascos de 22,0 mL com tampa rosqueável, foram fortificados com o volume das soluções também descritas no item 3.1, nos níveis estabelecidos em 3.3, durante o mesmo tempo de fortificação, 2 h, destampados e em repouso. Após esta etapa, adicionou-se 1,0 mL de solução aquosa  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ( $0,20\text{ mol L}^{-1}$ ) juntamente com a mesma fase extratora utilizada para a extração em tomate. A agitação ocorreu durante 20 min, a 175 rpm, e a etapa de resfriamento à  $-20,0\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 6 h.

Após os procedimentos descritos acima, os métodos otimizados propunham ainda uma etapa de filtração com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , a qual foi retirada a fim de minimizar o número de etapas manuais e confirmar a eficiência da partição em baixa temperatura.

O tempo de resfriamento adotado para ambos os métodos é suficiente para separar o sistema em duas fases: a fase aquosa congelada com a polpa (fase inferior) e a fase líquida orgânica (fase superior), não congelada, contendo os analitos extraídos. Isto ocorre pois a temperatura de fusão dos solventes orgânicos são  $-43,82\text{ }^{\circ}\text{C}$  para a acetonitrila e  $-83,80\text{ }^{\circ}\text{C}$  para o acetato de etila (LIDE, 2009).

Após a separação das fases, aproximadamente 900,0  $\mu\text{L}$  foram retirados da parte superior do sobrenadante e transferidos para *vials*, para posterior análise por cromatografia gasosa e detector por captura de elétrons (CG/DCE).

### 3.4.2 QuEChERS

Inicialmente, realizou-se a fortificação de 10,00 g de amostra com as soluções descritas nos itens 3.1 e 3.3, durante 1 min. Após esta etapa, a mistura foi agitada durante 30 s em vórtex e, após a adição de 10,0 mL de acetonitrila, nova agitação em vórtex, durante 1,0 min. Em seguida, após a adição de 4,0 g de  $\text{MgSO}_4$  anidro e 1,0 g de NaCl, novamente o sistema foi agitado em vórtex por 1,0 min e centrifugado durante 11 min, a 2.300 rpm, promovendo a partição líquido-líquido. Após a separação de fases do sistema, cerca de 1,30 mL do sobrenadante foi agitado em vórtex durante 30,0 s com 195,0 mg de  $\text{MgSO}_4$  anidro e 32,5 mg do sorvente amina primária-secundária (PSA), para a remoção de resíduo de água e *clean-up*, permitindo a remoção de componentes polares da matriz, como ácidos orgânicos, pigmentos polares e açúcares. Por fim, o sistema foi novamente centrifugado durante 5 min, a 2.300 rpm e cerca de 800  $\mu\text{L}$  foram retirados do sobrenadante para análise CG/DCE.

### 3.5 Linearidade de resposta do detector

A linearidade de resposta do detector DCE é avaliada pela injeção de soluções padrão preparadas em acetonitrila, em concentrações crescentes. Neste trabalho, as concentrações foram calculadas em função do LMR de cada agrotóxico na referida matriz:

Ponto 1 – 0,5LMR;	Ponto 5 – 1,5LMR;
Ponto 2 – 0,75LMR;	Ponto 6 – 1,75LMR;
Ponto 3 – 1,0LMR;	Ponto 7 – 2,0LMR.
Ponto 4 – 1,25LMR;	

Para os agrotóxicos estudados em maçã, as concentrações injetadas foram: 0,50; 0,75; 1,0; 1,25; 1,50; 1,75 e 2,0  $\text{mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós; 0,15; 0,22; 0,30; 0,37; 0,45; 0,52

e 0,60 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 e 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.

No caso dos agrotóxicos estudados em tomate, as concentrações injetadas foram: 0,25; 0,37; 0,50; 0,62; 0,75; 0,87 e 1,0 mg kg<sup>-1</sup> para clorpirifós e cipermetrina; 0,025; 0,038; 0,050; 0,063; 0,075; 0,088 e 0,10 mg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 0,015; 0,023; 0,030; 0,038; 0,045; 0,053 e 0,060 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.

### 3.6 Validação dos métodos de extração

Para a validação dos métodos de extração foram considerados os seguintes parâmetros: seletividade; linearidade de resposta do método; limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ); exatidão (ensaios de recuperação); precisão (repetitividade e precisão intermediária) e efeito de matriz. Estes parâmetros considerados foram baseados em recomendações de MAPA, 2011.

#### 3.6.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada pela comparação dos cromatogramas dos extratos obtidos após a extração de amostras de tomate e maçã, isentas dos agrotóxicos em estudo, com os cromatogramas dos extratos obtidos das matrizes fortificadas e submetidas aos procedimentos de extração descritos anteriormente.

#### 3.6.2 Linearidade

A linearidade é verificada por meio da construção de curvas analíticas obtidas da extração dos agrotóxicos de amostras fortificadas, submetidas aos métodos de extração. Neste caso também, as concentrações de fortificação são baseadas nos valores de LMR.

Para a extração dos agrotóxicos em tomate, as concentrações foram de: 250,0 a 1.000 µg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós e cipermetrina; 25,0 a 100,0 µg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 15,0 a 60 µg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina. No caso da maçã, as concentrações foram de 500,0 a

2.000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o clorpirifós; 150,0 a 600,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o tiametoxam; 100,0 a 400,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para a deltametrina.

### 3.6.3 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados baseando-se nos parâmetros das curvas analíticas obtidas pela fortificação das amostras e posterior extração, abrangendo concentrações de 50,0 a 230,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para o tiametoxam e 20,0 a 200,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para todos os outros compostos, independente da matriz e do método.

### 3.6.4 Exatidão

Para avaliar a exatidão, foram realizados ensaios de recuperação nos quais as amostras foram fortificadas para que os agrotóxicos apresentassem concentrações iguais a 0,5LMR; 1,0LMR e 1,5LMR.

As concentrações dos agrotóxicos em maçã foram 0,50; 1,00 e 1,50  $\text{mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós; 0,15; 0,30 e 0,45  $\text{mg kg}^{-1}$  para o tiametoxam; 0,10; 0,20 e 0,30  $\text{mg kg}^{-1}$  para a deltametrina.

Para o tomate, as concentrações dos agrotóxicos foram 0,25; 0,50 e 0,75  $\text{mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina; 0,025; 0,050 e 0,075  $\text{mg kg}^{-1}$  para a  $\lambda$ -cialotrina; 0,015; 0,030 e 0,045  $\text{mg kg}^{-1}$  para a deltametrina.

### 3.6.5 Precisão

A precisão das foi avaliada por meio da repetitividade e da precisão intermediária. A primeira consiste em preparar, injetar e analisar, no mesmo dia, seis extratos de amostras fortificadas, tendo como parâmetro de avaliação o coeficiente de variação (CV) referente às porcentagens de recuperação de cada agrotóxico em cada matriz. A precisão intermediária, por sua vez, considera os coeficientes de variação ao longo de três dias não consecutivos de análise de seis amostras fortificadas, submetidas a cada uma das extrações, em concentrações também referentes ao LMR (0,5LMR; 1,0LMR e 1,5LMR).

### 3.6.6 Efeito de matriz

Para verificar o efeito de matriz foram construídas duas curvas dos padrões, para cada matriz: uma preparada pela adição dos padrões em acetonitrila e outra pela adição destes em extratos orgânicos obtidos de cada matriz isenta de agrotóxicos, contendo conseqüentemente todos os interferentes e co-extrativos da matriz. As concentrações das soluções de cada ponto das curvas foram preparadas em função do LMR dos agrotóxicos para cada matriz.

Deste modo, as concentrações dos pontos das curvas referentes à maçã foram: 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 1,75 e 2,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,15; 0,225; 0,30; 0,375; 0,45; 0,525 e 0,60 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 e 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.

Para o tomate, as concentrações dos pontos das curvas foram: 0,25; 0,37; 0,50; 0,62; 0,75; 0,87 e 1,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós e cipermetrina; 0,025; 0,038; 0,050; 0,063; 0,075; 0,088 e 0,10 mg kg<sup>-1</sup> para a  $\lambda$ -cialotrina; 0,015; 0,023; 0,030; 0,038; 0,045; 0,053 e 0,060 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.

A porcentagem do efeito de matriz (%EM) foi calculada segundo a Equação (2).

### 3.7 Alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS

Foram realizados testes adicionais a fim de verificar se a alteração no tempo de fortificação na extração QuEChERS afeta a resposta cromatográfica dos agrotóxicos em maçã e tomate. Para isto, os procedimentos descritos no item 3.4.2 foram mantidos, alterando-se apenas o tempo de fortificação para 2 h, como na ESL/PBT.

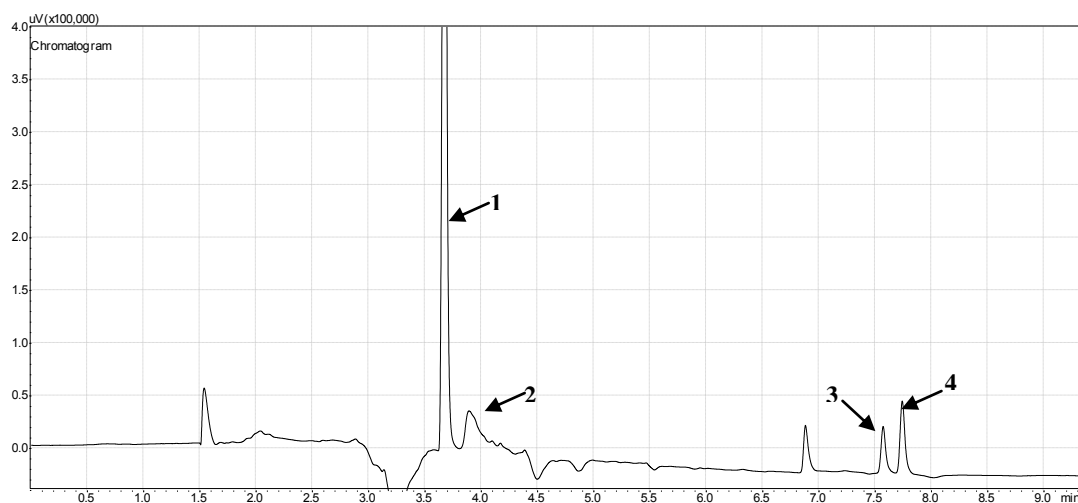
As concentrações de fortificação também foram calculadas em função do LMR dos agrotóxicos em cada matriz, porém, foram escolhidos apenas os níveis 0,5LMR, 1,0LMR e 1,5LMR de fortificação, em sextuplicata em triplicata.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

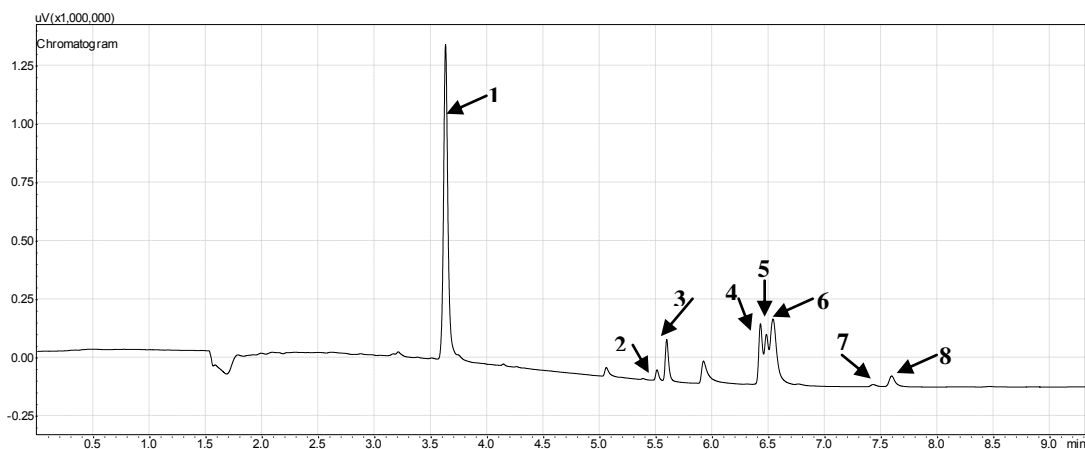
### 4.1 Análise cromatográfica

Para a identificação dos compostos de interesse, comparou-se o tempo de retenção ( $t_R$ ) referente a cada pico no cromatograma de uma solução padrão com o cromatograma dos extratos, após a extração (COLLINS et al., 2006).

Sob as condições descritas no item 4.2, os cromatogramas de uma solução padrão em acetonitrila contendo os agrotóxicos em estudo, separadamente por matriz, estão apresentados a seguir.



**Figura 1.** Cromatograma de uma solução padrão dos agrotóxicos a  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,30 \text{ mg L}^{-1}$  para a deltametrina e  $0,45 \text{ mg L}^{-1}$  para o tiametoxam (agrotóxicos usados na cultura da maçã). Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,68 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 4,20 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,67 / 7,85 \text{ min}$ .



**Figura 2.** Cromatograma de uma solução padrão dos agrotóxicos a  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  para a cialotrina e  $0,06 \text{ mg L}^{-1}$  para a deltametrina (agrotóxicos usados na cultura do tomate). Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,63 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,50 / 5,59 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,43 / 6,48 / 6,54 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,43 / 7,59 \text{ min}$ .

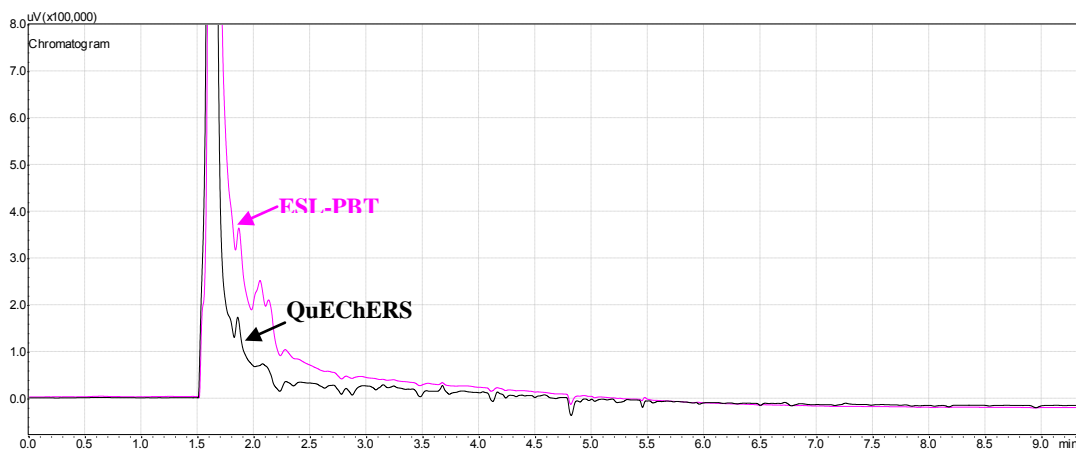
A coluna utilizada (DB-5) nas análises cromatográficas tem caráter de pouco polar. Por este motivo, espera-se que a ordem de eluição dos compostos siga a seqüência de polaridade das moléculas, de modo que, aquelas mais apolares tendam a ficar por mais tempo retidas na coluna e, por sua vez, as moléculas com caráter mais polar, eluem mais rapidamente. Para avaliar a polaridade dos compostos estudados, pode-se considerar o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) para cada um deles, pois o mesmo apresenta o grau de lipofilicidade dos compostos.

Outro parâmetro a se observar é a temperatura de ebulição dos compostos (TE - °C), uma vez que, quanto maior a TE, maior será o necessário para que este seja aluído da coluna. Assim, no cromatograma dos compostos estudados em maçã, a ordem de eluição seguiu a ordem de temperaturas de ebulição: clorpirifós ( $375,9 \text{ }^\circ\text{C}$ ) < tiametoxam ( $485,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ) < deltametrina ( $535,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Para os compostos estudados em tomate, a ordem de temperatura de ebulição também determinou a seqüência de eluição dos compostos: clorpirifós ( $375,9 \text{ }^\circ\text{C}$ ) <  $\lambda$ -cialotrina ( $498,9 \text{ }^\circ\text{C}$ ) < cipermetrina ( $511,3 \text{ }^\circ\text{C}$ ) < deltametrina ( $535,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

Ainda em relação à análise dos cromatogramas, a presença de picos duplos, para a  $\lambda$ -cialotrina e deltametrina, e picos triplos, para a cipermetrina, relaciona-se com a

conversão destes compostos em isômeros durante a corrida cromatográfica (MAŠTOVSKÁ & LEHOTAY, 2004). Nestes casos, a soma dos picos que compõem os compostos foi considerada para a quantificação dos mesmos.

Sobre a capacidade de *clean up* dos métodos, nas Figuras 3 e 4 são apresentados os cromatogramas dos extratos de maçã e tomate obtidos pelas duas técnicas de extração. Fica evidente pelos resultados que, a extração empregando o método QuEChERS produz extratos cujos cromatogramas tem a linha de base reduzida nos primeiros 2,5 min de corrida cromatográfica. Resultado semelhante foi encontrado por LU et al. (2012) na extração de classes diferentes de pesticidas em maçã, pepino e espinafre: os autores confirmaram que o adsorvente PSA mostrou-se eficiente na remoção de interferentes como pigmentos polares, açúcares, ácidos orgânicos.



**Figura 3.** Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à ESL/PBT e QuEChERS.



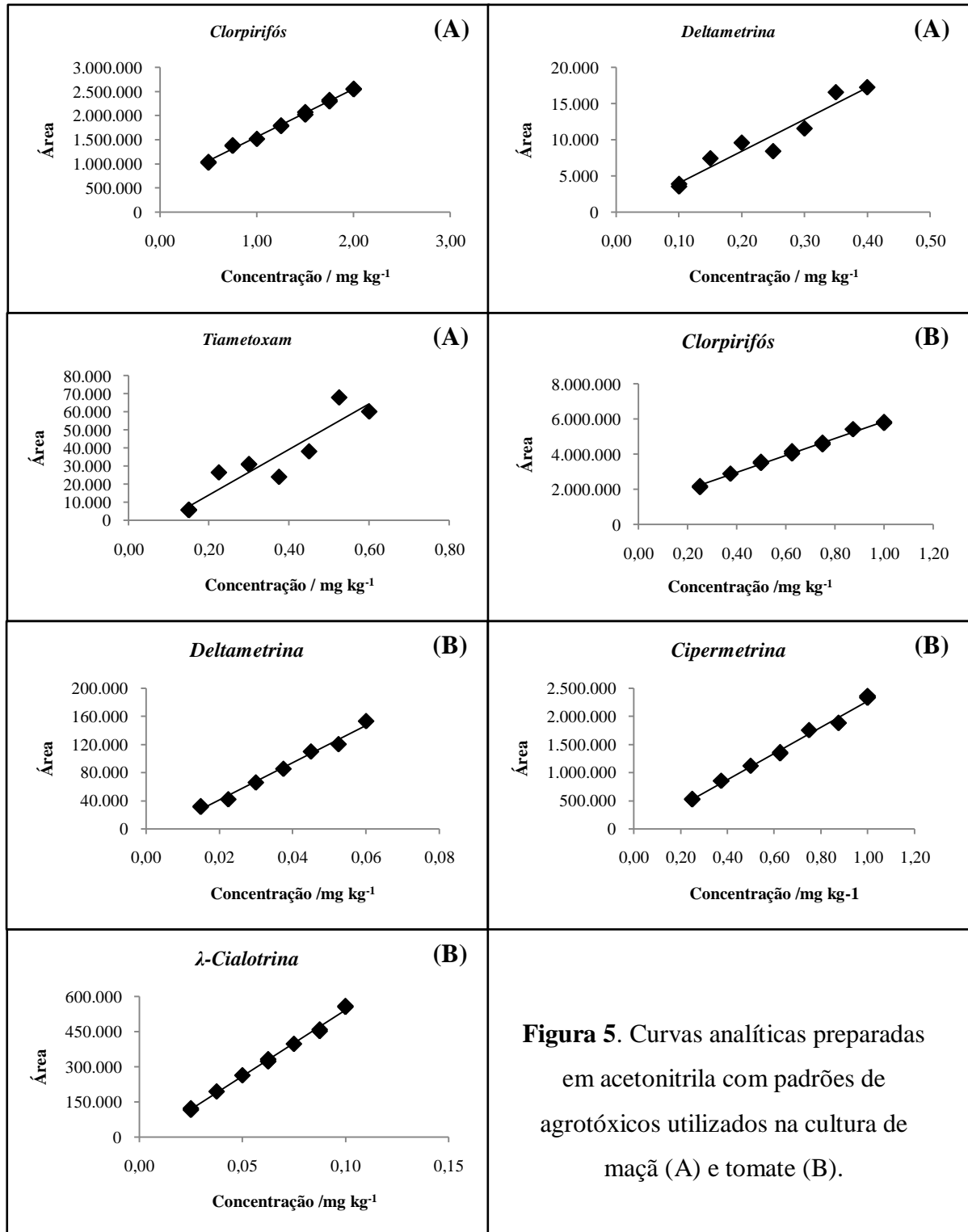
**Figura 4.** Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à ESL/PBT e QuEChERS.

#### 4.2 Linearidade de resposta do equipamento

A linearidade de resposta do detector foi verificada por meio da construção de curvas analíticas dos padrões em acetonitrila, conforme descrito no item 3.5. Na Figura 5 estão apresentadas as curvas analíticas dos agrotóxicos estudados em maçã e tomate após análise por CG/DCE.

Para quantificação dos analitos de interesse, realizou-se a integração das áreas de cada pico, ressaltando que a área total de  $\lambda$ -cialotrina e deltametrina corresponde à soma dos dois picos característicos de cada composto, integrados separadamente. No caso da cipermetrina, a área total é a soma dos três picos integrados em conjunto, isto é, a linha de integração parte do início do primeiro pico e termina no fim do terceiro pico.

As curvas foram obtidas por meio da regressão linear. Deste modo, dos agrotóxicos considerados no estudo da maçã, o tiametoxam apresentou menor valor de coeficiente de correlação ( $R = 0,9631$ ); no caso do tomate, todos os agrotóxicos estudados apresentaram valores de  $R > 0,99$ . Segundo estipulado pela ANVISA (2003), o valor de  $R$  deve ser maior que 0,99. Já o INMETRO (2003) estabelece  $R > 0,90$ . Sendo assim, pode-se afirmar que o detector por captura de elétrons responde linearmente para estes compostos, nas referidas faixas de concentração.



**Figura 5.** Curvas analíticas preparadas em acetonitrila com padrões de agrotóxicos utilizados na cultura de maçã (A) e tomate (B).

Além disso, ao analisar as equações das curvas analíticas da Figura 5 na Tabela 5, observa-se que o clorpirifós e a  $\lambda$ -cialotrina apresentam maior inclinação da reta, ou seja, o termo “a” da equação modelo “ $y = ax + b$ ”. Quando isto ocorre, significa que o detector é mais sensível a estes compostos, reflexo da presença e quantidade de átomos eletronegativos, como flúor e cloro, em sua constituição.

**Tabela 5.** Equação da regressão linear das curvas preparadas em solvente puro.

Agrotóxicos		Parâmetros		
		a ( $10^6$ )	b ( $10^4$ )	R
Maçã	Clorpirifós	0,990	57,0	0,9976
	Deltametrina	0,0440	-0,0420	0,9675
	Tiametoxam	0,120	- 1,10	0,9361
Tomate	Clorpirifós	4,80	100	0,9971
	$\lambda$ -cialotrina	5,60	- 2,30	0,9976
	Cipermetrina	2,30	- 6,20	0,9951
	Deltametrina	2,60	- 1,20	0,9943

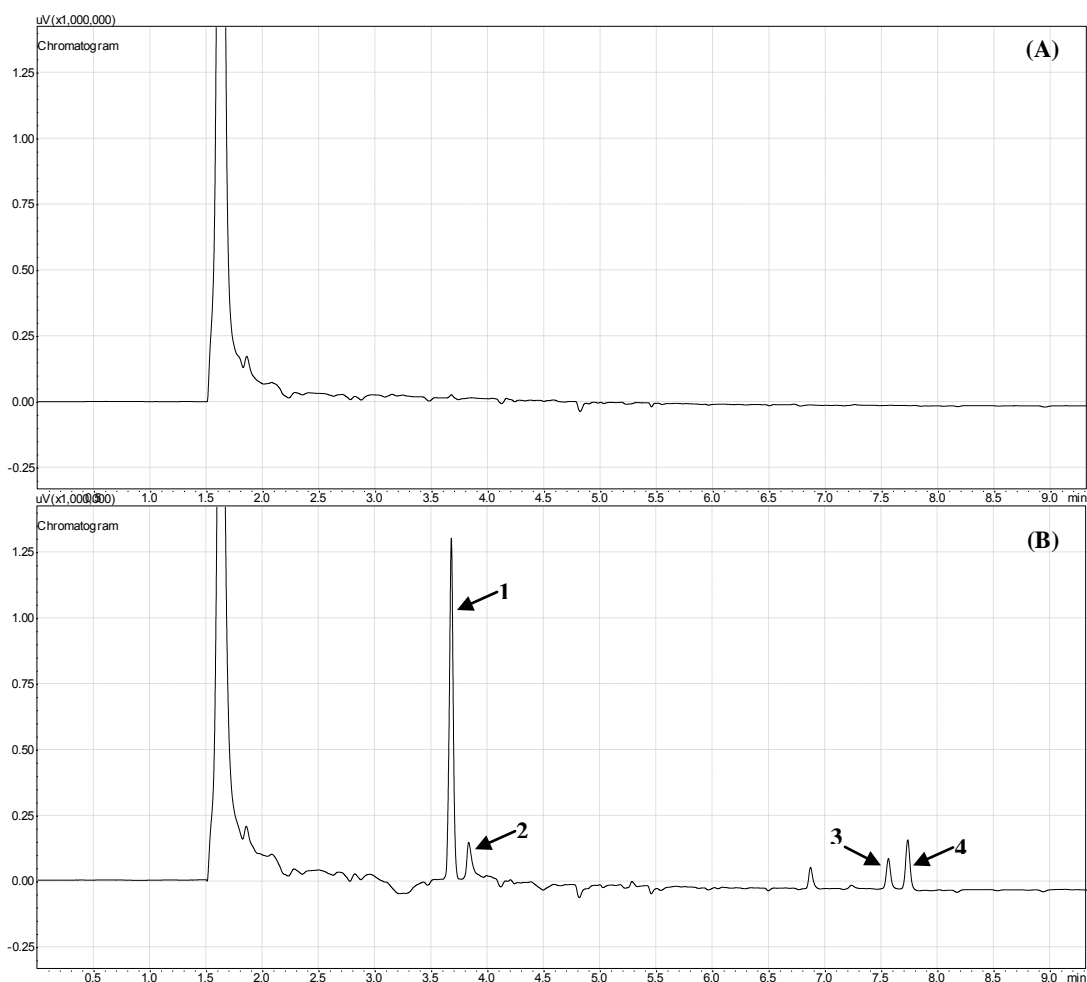
Na determinação de resíduos de clorpirifós, cipermetrina,  $\lambda$ -cialotrina e outros compostos em hortelã, a equipe de Słowik-Borowiec esperava encontrar dificuldades de detecção pois a matriz continha interferentes como a clorofila e o próprio óleo. Para a linearidade de resposta do detector ECD, aos três compostos citados anteriormente, os autores obtiveram valores de coeficiente de correlação maiores que 0,99 (SŁOWIK-BOROWIEC et al., 2012).

Outro aspecto que vale destacar foi discutido por Pinho e colaboradores no qual os autores avaliaram a capacidade de adsorção de clorpirifós e deltametrina no injetor e na coluna cromatográfica, concluindo que a adsorção destes compostos foi influenciada, sim, pela temperatura do injetor e pela rampa de aquecimento da coluna, de modo que, a temperatura ideal do injetor para análise de clorpirifós e deltametrina seria de 310 °C, temperatura esta 30 °C maior que a adotada neste trabalho (PINHO et al., 2012).

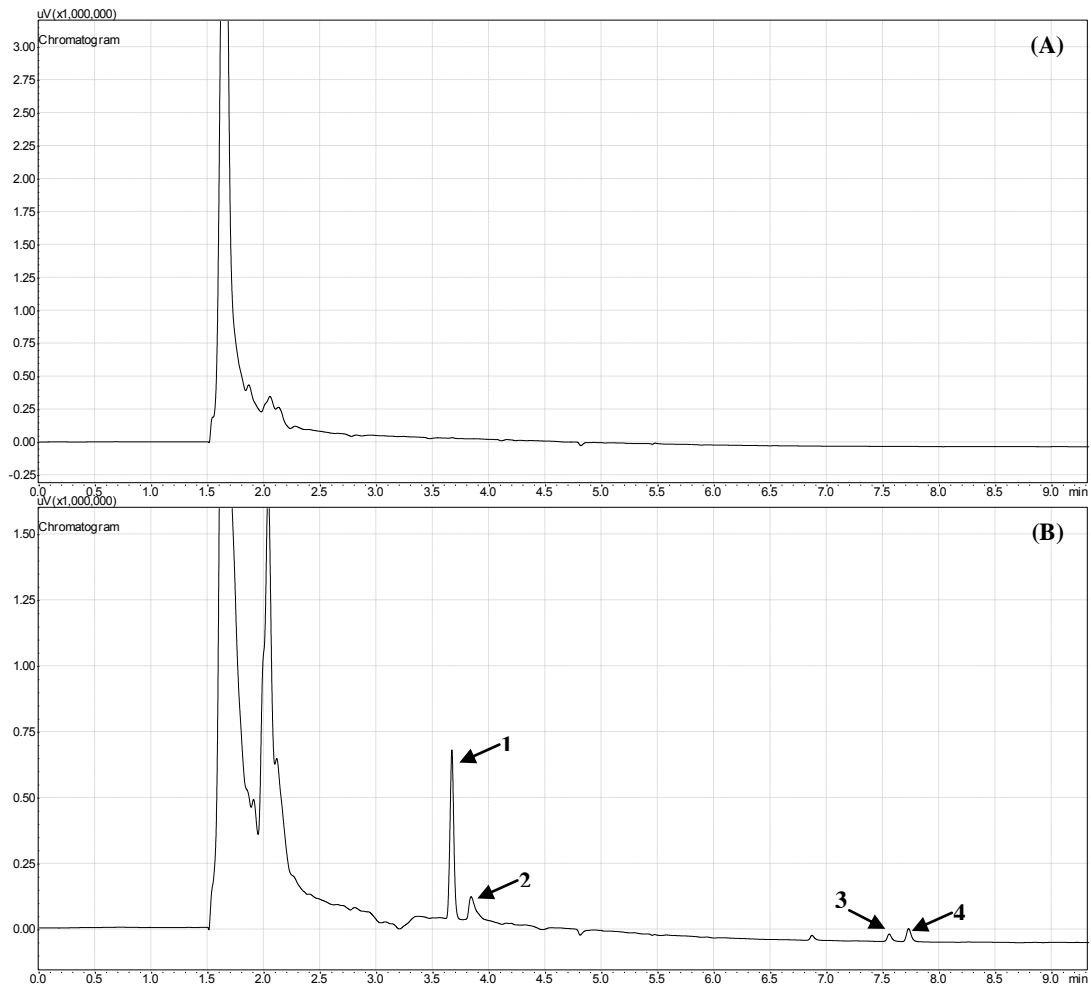
### 4.3 Validação dos métodos de extração

#### 4.3.1 Seletividade

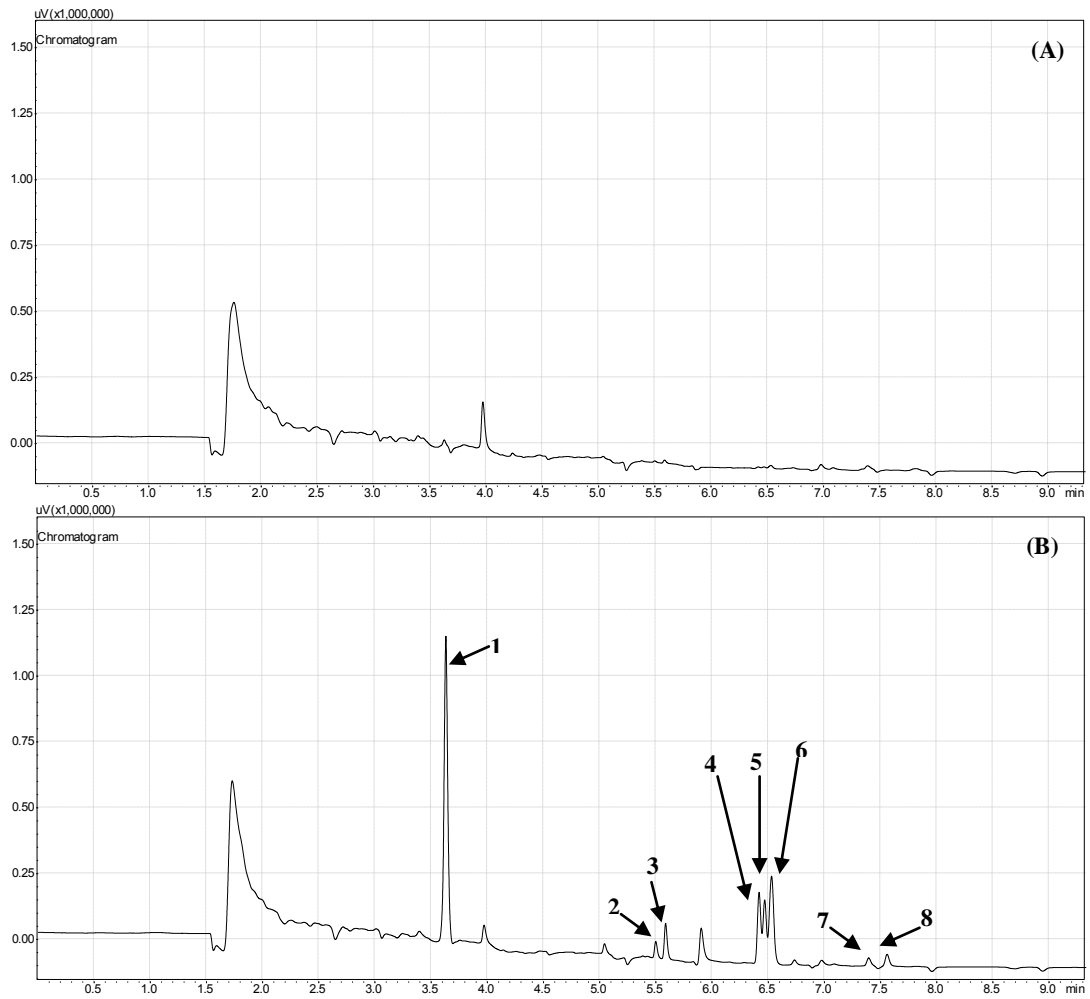
Para avaliação da seletividade das extrações ESL/PBT e QuEChERS, foram comparados os cromatogramas dos extratos obtidos após as extrações em amostras isentas de agrotóxicos (A) e fortificadas (B), conforme as Figuras 6 a 9.



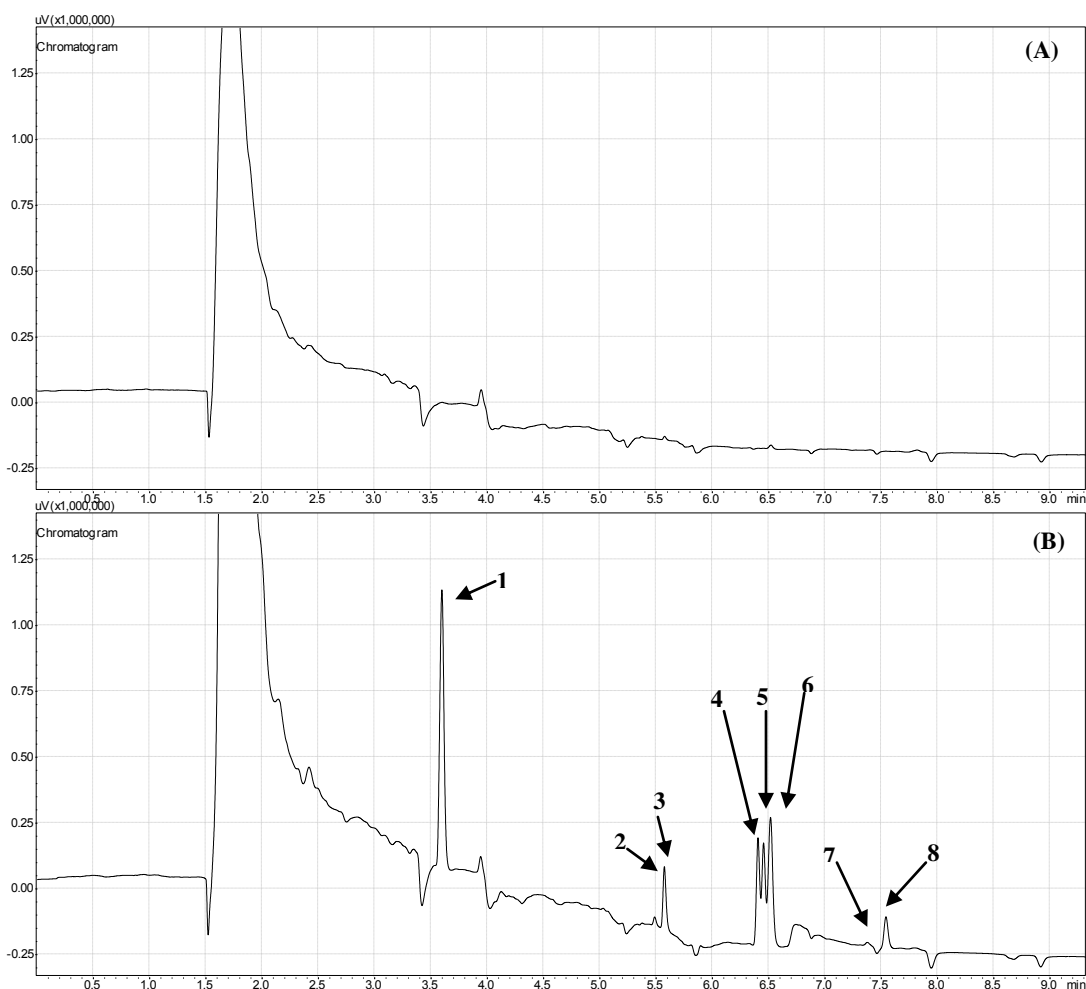
**Figura 6.** Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à extração QuEChERS (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  para o tiametoxam;  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,67 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 3,83 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,56 / 7,73 \text{ min}$ .



**Figura 7.** Cromatogramas de extratos de amostras de maçã submetidas à extração ESL/PBT (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $2,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós;  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  para o tiametoxam;  $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,67 \text{ min}$ ; 2 – tiametoxam  $t_R = 3,84 \text{ min}$ ; 3 e 4 – deltametrina  $t_R = 7,55 / 7,72 \text{ min}$ .



**Figura 8.** Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à extração QuEChERS (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  para a  $\lambda$ -cialotrina;  $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. Em que: 1 – clorpirifós  $t_R = 3,63 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,50 / 5,59 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,42 / 6,47 / 6,53 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,39 / 7,56 \text{ min}$ .



**Figura 9.** Cromatogramas de extratos de amostras de tomate submetidas à extração ESL/PBT (A) isenta dos analitos; (B) contendo os analitos a  $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$  para o clorpirifós e cipermetrina;  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  para a  $\lambda$ -cialotrina;  $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para a deltametrina. 1 – clorpirifós  $t_R = 3,60 \text{ min}$ ; 2 e 3 –  $\lambda$ -cialotrina  $t_R = 5,49 / 5,57 \text{ min}$ ; 4, 5 e 6 – cipermetrina  $t_R = 6,40 / 6,45 / 6,52 \text{ min}$ ; 7 e 8 – deltametrina  $t_R = 7,38 / 7,54 \text{ min}$ .

Nos cromatogramas das figuras 6 a 9, observa-se que, apesar da complexidade das matrizes, nenhum de seus interferentes apresenta pico coincidente com os picos dos analitos, como ocorre na matriz tomate, na qual um pico existente em torno de 4,0 minutos. Está confirmada, assim, a seletividade das duas técnicas de extração.

Além disso, o pico do tiametoxam, tanto em solvente puro quanto no extrato de maçã, em todas as análises, apresentaou-se assimétrico. Uma possível justificativa seria que os compostos da classe dos neonicotinóides deveriam ser determinados por cromatografia líquida, devido à sua baixa volatilidade (OBANA et al., 2003).

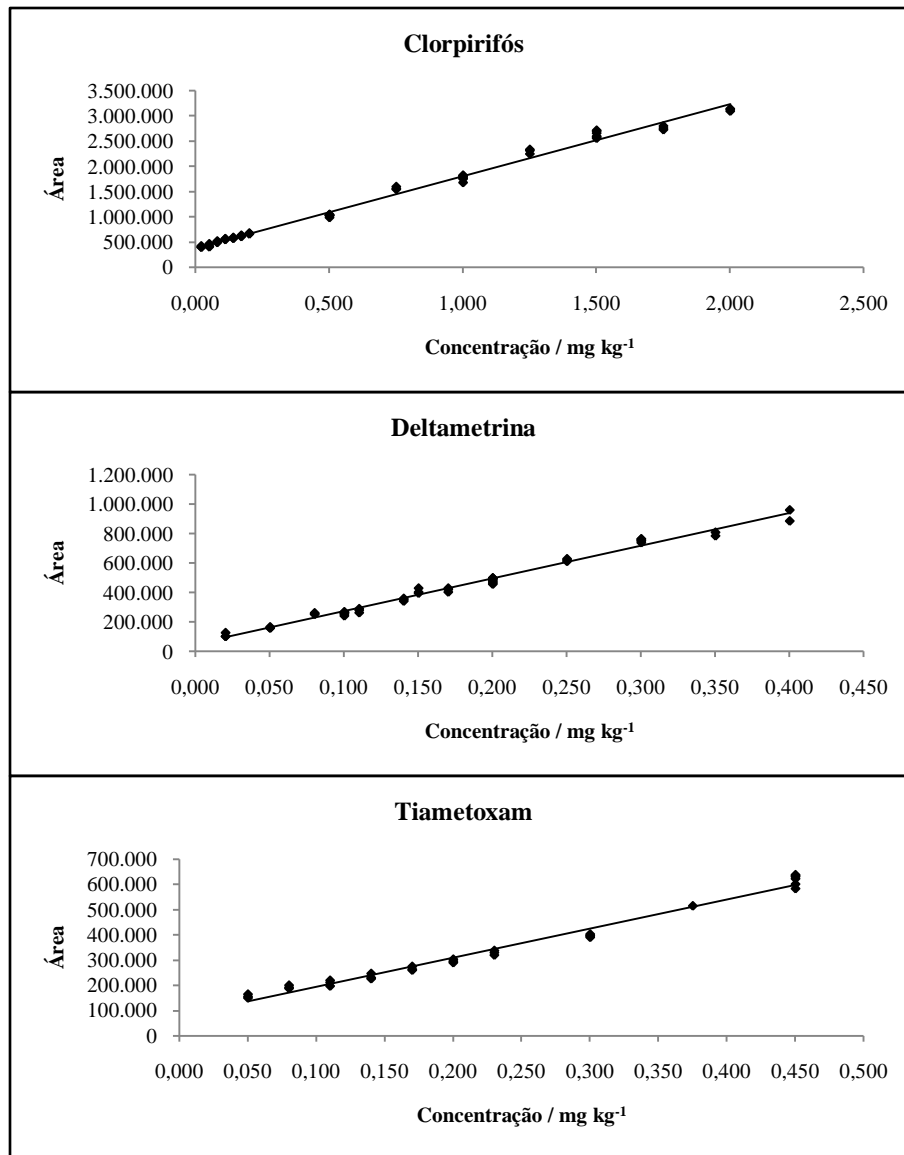
#### 4.3.2 Linearidade

Segundo Valderrama et al. (2009), a linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse, dentro de um determinado intervalo de concentrações onde o método será aplicado. Isto é avaliado por meio de curvas analíticas construídas com dados de amostras fortificadas e submetidas às extrações.

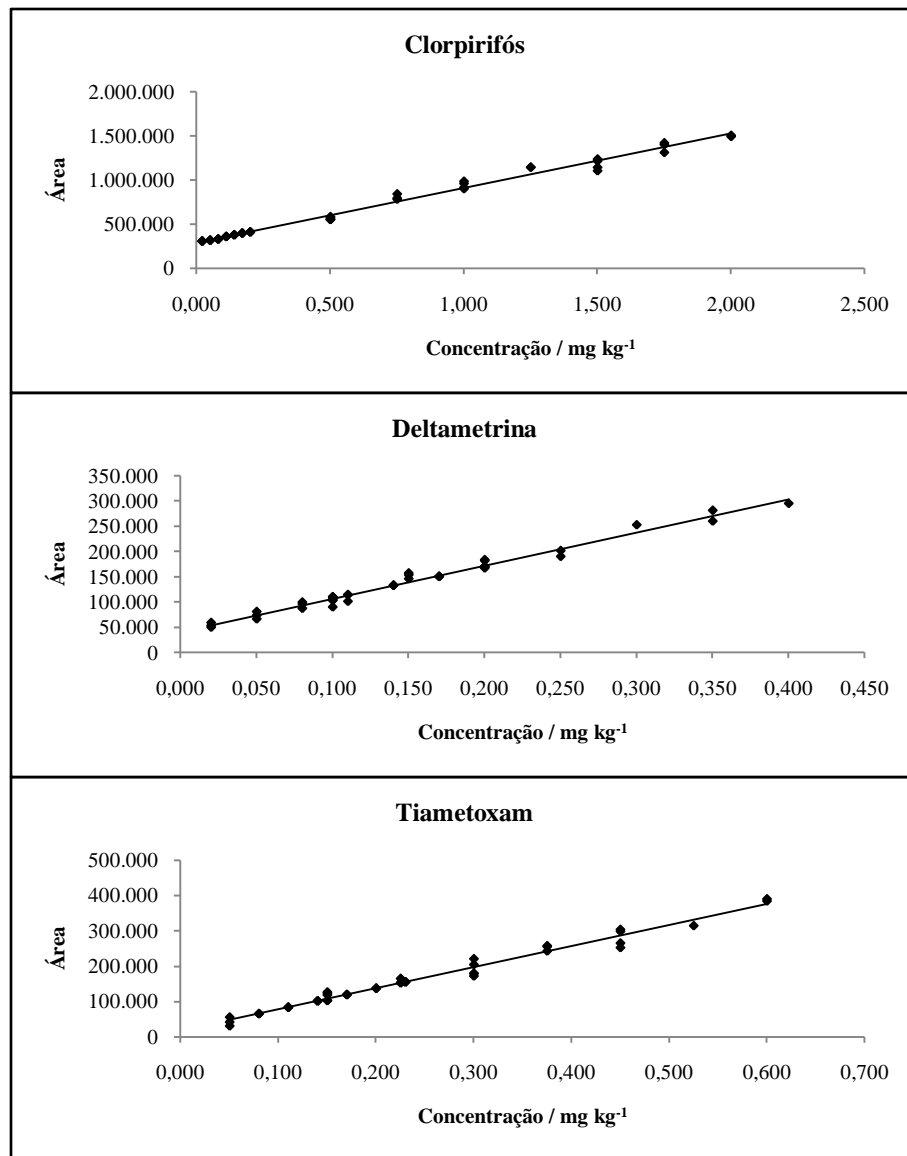
Então, para avaliar a qualidade da curva analítica, considera-se o coeficiente de correlação (R), de modo que, menor será a dispersão do conjunto de pontos experimentais e a incerteza dos coeficientes de regressão estimados, se este valor for próximo a 1,00. Como referência, a ANVISA recomenda que o valor de “R” seja maior que 0,99 (BRASIL, 2003). Já o INMETRO, recomenda que este valor seja maior que 0,90 (INMETRO, 2003).

Desta forma, após análise dos extratos preparados a partir de amostras de tomate e maçã, ambas fortificadas em função do valor do LMR de cada agrotóxico (item 3.6.2) e submetidas aos dois métodos de extração, foram construídas curvas analíticas para cada um dos compostos em estudo, avaliadas pela regressão linear pelo método dos mínimos quadrados para a maioria dos analitos.

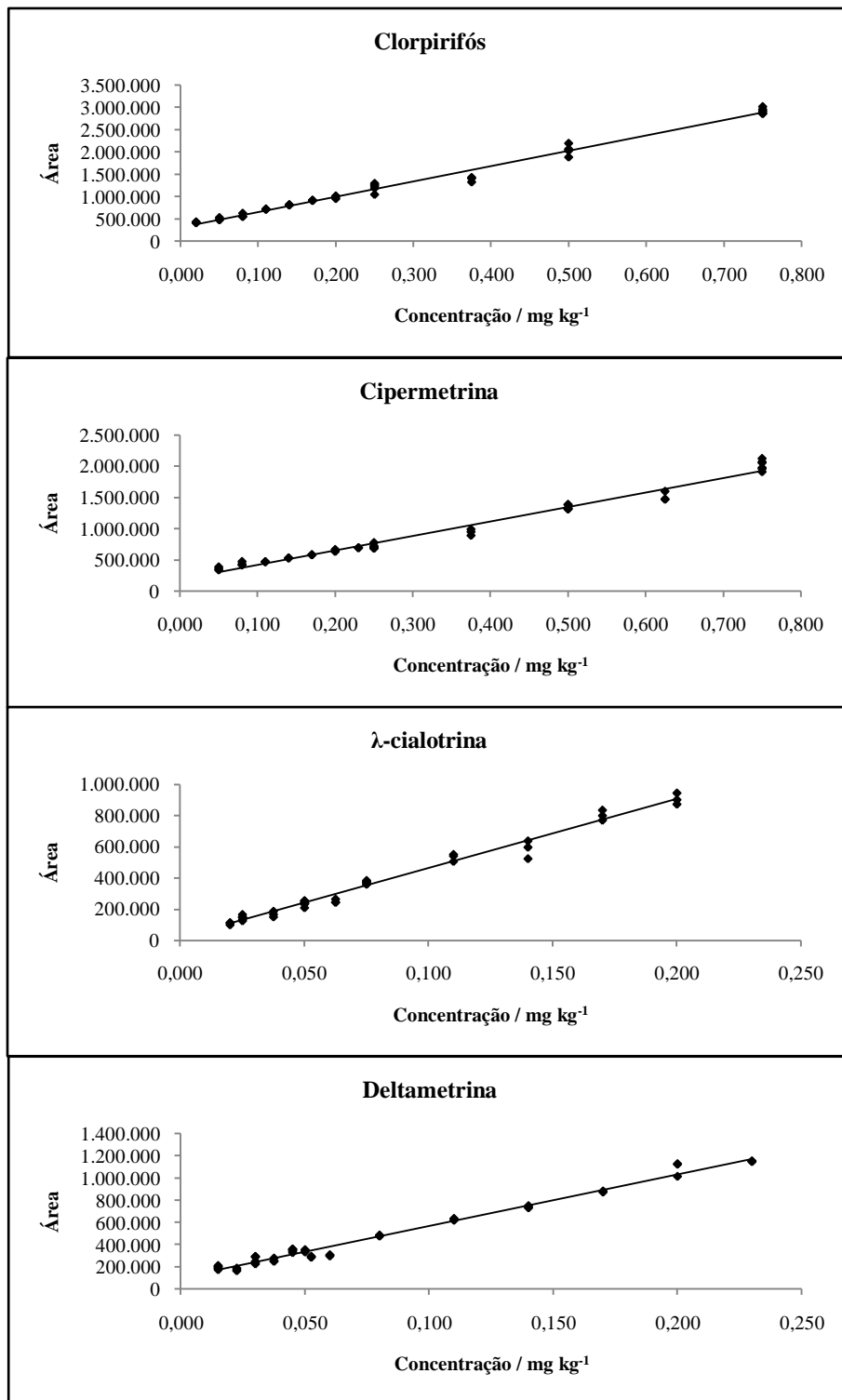
Nas Figuras 10 a 13, bem como a Tabela 6, a seguir, são apresentadas as curvas de linearidade das técnicas de extração.



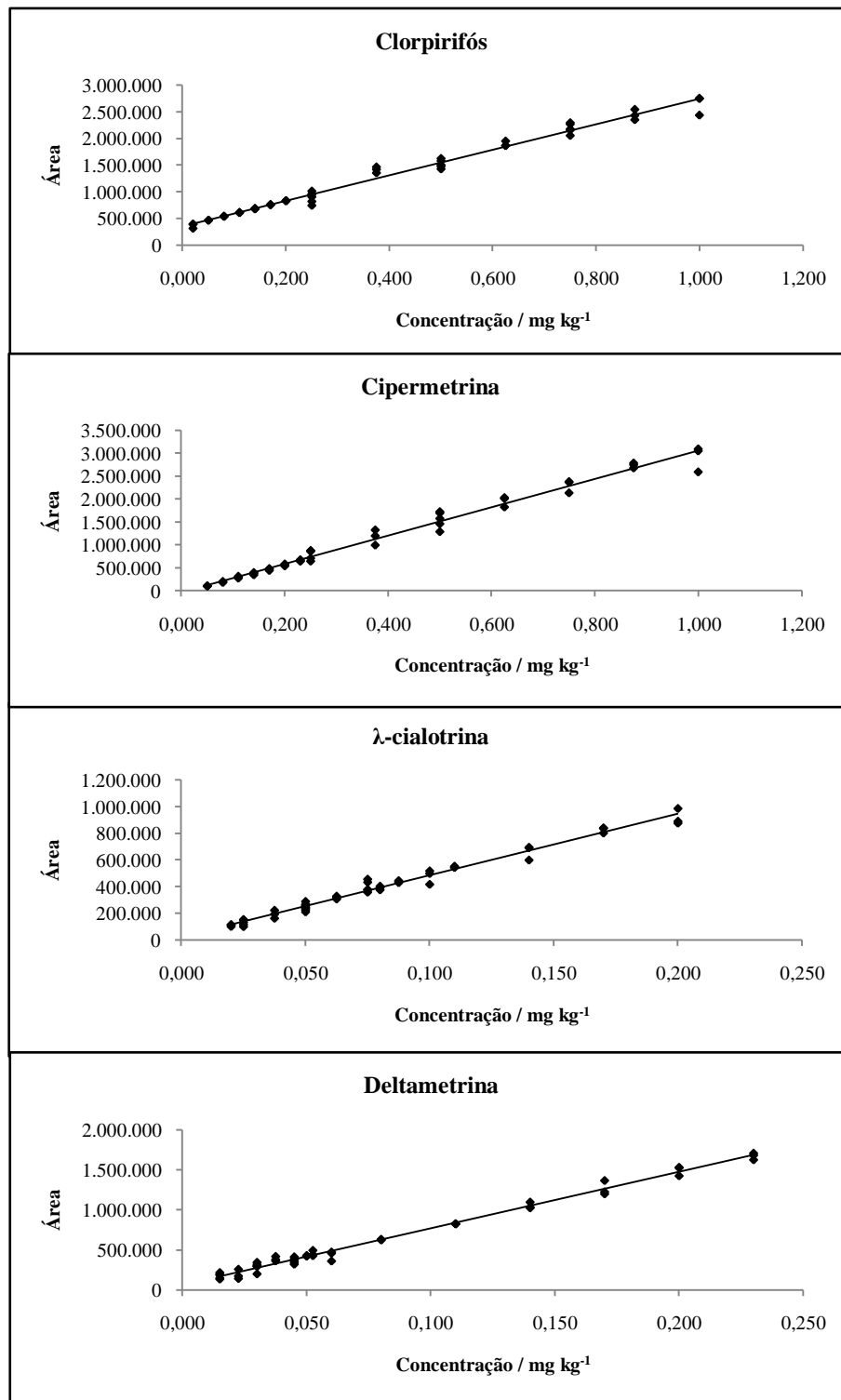
**Figura 10.** Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de maçã fortificadas e submetidas à extração QuEChERS. Faixa de concentração: 0,02 a 2,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,02 a 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina; 0,05 a 0,45 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam.



**Figura 11.** Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de maçã fortificadas e submetidas à extração ESL/PBT. Faixa de concentração: 0,02 a 2,0 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,02 a 0,40 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina; 0,05 a 0,60 mg kg<sup>-1</sup> para o tiametoxam.



**Figura 12.** Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de tomate fortificadas e submetidas à extração QuEChERS. Faixa de concentração: 0,02 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,05 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para a cipermetrina; 0,02 a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 0,015 a 0,23 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.



**Figura 13.** Curvas analíticas preparadas a partir de cromatogramas de extratos de amostras de tomate fortificadas e submetidas à extração ESL/PBT. Faixa de concentração: 0,02 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para o clorpirifós; 0,05 a 0,75 mg kg<sup>-1</sup> para a cipermetrina; 0,02 a 0,20 mg kg<sup>-1</sup> para a λ-cialotrina; 0,015 a 0,23 mg kg<sup>-1</sup> para a deltametrina.

**Tabela 6.** Parâmetros das equações de regressão das linearidades dos métodos de extração de agrotóxicos em maçã e tomate.

Agrotóxicos	QuEChERS			ESL/PBT			
	a (10 <sup>6</sup> )	b (10 <sup>4</sup> )	R	a (10 <sup>6</sup> )	b (10 <sup>4</sup> )	R	
Maçã	Clorpirifós	1,43	37,5	0,9922	0,616	29,1	0,9903
	Deltametrina	2,22	4,97	0,9883	0,656	4,01	0,9835
	Tiametoxam	1,15	7,87	0,9828	0,596	1,91	0,9812
Tomate	Clorpirifós	3,44	30,7	0,9897	2,39	35,4	0,9863
	λ-cialotrina	4,44	2,01	0,9837	4,60	2,53	0,9823
	Cipermetrina	2,32	18,9	0,9814	3,08	-3,25	0,9846
	Deltametrina	4,62	10,5	0,9842	7,02	6,93	0,9905

Os dados da Tabela 6 permitem observar que, em termos de R, a linearidades dos dois métodos não diferem muito entre si. Em relação à sensibilidade dos métodos em maçã, o QuEChERS apresenta sensibilidade cerca de duas vezes maior para clorpirifós e tiametoxam e, praticamente o triplo de sensibilidade para a deltametrina. No caso do tomate, a sensibilidade não difere mais que três unidades entre os métodos. A construção do gráfico de resíduos também permite verificar a adequabilidade de um modelo de regressão, de modo que, quanto mais dispersos estiverem os resíduos, mais adequado é o modelo de regressão. E isto ocorreu para os dados tanto em tomate quanto em maçã, para os dois métodos.

#### 4.3.3 Limites de detecção e quantificação

Conforme descrito no item 3.6.3, a equação 1 foi a maneira adotada para o cálculo dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos agrotóxicos em maçã e tomate, após a extração QuEChERS e ESL/PBT.

Os valores calculados estão apresentados na Tabela 7. Por esta tabela, observa-se que, para a extração QuEChERS dos agrotóxicos em tomate, os limites de detecção variam entre 12,0 e 17,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e, os de quantificação entre 37,0 e 51,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , correspondendo aos compostos clorpirifós e cipermetrina, respectivamente. No caso da maçã, os limites de detecção da extração QuEChERS, atingiram a faixa de 12,0 a 19,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e, os limites de

quantificação variaram de 35,0 a 57,0  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , correspondendo aos compostos deltametrina e clorpirifós.

**Tabela 7.** Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos métodos para os agrotóxicos estudados em tomate e maçã.

Agrotóxicos	QuEChERS		ESL/PBT		
	LD	LQ	LD	LQ	
----- $\mu\text{g kg}^{-1}$ -----					
Maçã	Clorpirifós	19,0	57,0	12,0	35,0
	Deltametrina	12,0	35,0	10,0	31,0
	Tiametoxam	18,0	53,0	13,0	39,0
Tomate	Clorpirifós	12,0	37,0	10,0	30,0
	$\lambda$ -cialotrina	13,0	39,0	11,0	33,0
	Cipermetrina	17,0	51,0	10,0	30,0
	Deltametrina	13,0	41,0	11,0	33,0

LMR (maçã): clorpirifós 1000  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; tiametoxam 300  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; deltametrina 200  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ;  
 LMR (tomate): clorpirifós e cipermetrina 500  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ;  $\lambda$ -cialotrina 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ; deltametrina 30  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Porém, a extração ESL/PBT proporcionou menores valores de LD e LQ para todos os compostos nas duas matrizes. Assim, considerando os valores de LMR permitidos pela ANVISA, Codex Alimentarius e União Européia, a extração ESL/PBT apresenta-se mais eficiente para a extração destes específicos agrotóxicos em maçã e tomate e detecção por CG/DCE, uma vez que apresentou LQ ainda menores que qualquer valor de LMR estabelecido por estas Organizações.

#### 4.3.4 Exatidão

Conforme descrito no item 3.6.4, para avaliar a exatidão das técnicas de extração, foram realizados ensaios de recuperação nos quais as amostras foram fortificadas para que os agrotóxicos apresentassem concentrações iguais a 0,5LMR; 1,0LMR e 1,5LMR, em relação à sua respectiva matriz. Na tabela a seguir estão representados os dados da exatidão dos métodos de extração em amostras de maçã.

**Tabela 8.** Porcentagens de recuperação (%R) e coeficientes de variação (%CV) obtidos pela análise dos extratos de maçã fortificados com os agrotóxicos em três concentrações.

	Concentração de Fortificação (mg kg <sup>-1</sup> )					
	0,5LMR		1,0LMR		1,5LMR	
	<i>QuEChERS</i>					
	%R	%CV	%R	%CV	%R	%CV
Clorpirifós	89,03	3,30	96,21	4,02	105,75	3,29
Deltametrina	96,39	4,48	96,58	3,87	105,02	4,36
Tiametoxam	83,44	4,28	86,55	4,64	103,49	3,43
	<i>ESL/PBT</i>					
	%R	%CV	%R	%CV	%R	%CV
Clorpirifós	83,61	3,65	100,49	10,86	93,13	7,57
Deltametrina	97,04	5,53	111,17	11,96	95,72	14,49
Tiametoxam	101,19	8,73	85,51	13,47	96,28	9,69

LMR: clorpirifós 1,0 mg kg<sup>-1</sup>; tiametoxam 0,3 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,2 mg kg<sup>-1</sup>;

A aplicação da ESL/PBT para a extração de clorpirifós, deltametrina e tiametoxam por Pussente (2008) apresentou recuperações de 86,1%, 83,3% e 80,4%, respectivamente e coeficientes de variação menores que cinco (CV < 5%). Sabendo que os valores aceitáveis para o coeficiente de variação é CV < 15%, as modificações realizadas na ESL/PBT para a extração dos referidos agrotóxicos em maçã melhoraram a porcentagem de recuperação do método e manteve a exatidão do mesmo.

Na Tabela 9 estão apresentados os dados da exatidão das técnicas de extração em amostras de tomate. As modificações realizadas no método originalmente proposto por Pinho et al. (2010a) mantiveram a exatidão e permitiram maiores porcentagens de recuperação, pois as recuperações determinadas no referido trabalho foram de 64,7%, 88,3%, 99,2% e 89,2% para clorpirifós,  $\lambda$ -cialotrina, cipermetrina e deltametrina, respectivamente. Em relação ao coeficiente de variação, os autores obtiveram melhores valores (CV < 5%).

**Tabela 9.** Porcentagens de recuperação (%R) e coeficientes de variação (CV) obtidos pela análise dos extratos de tomate fortificados com os agrotóxicos em três concentrações.

	Concentração de Fortificação (mg kg <sup>-1</sup> )					
	0,5LMR		1,0LMR		1,5LMR	
	<i>QuEChERS</i>					
	%R	%CV	%R	%CV	%R	%CV
Clorpirifós	103,31	11,64	105,35	6,90	105,24	2,38
λ-cialotrina	108,47	12,07	100,19	3,26	105,42	3,16
Cipermetrina	82,22	12,77	110,18	3,47	123,75	3,74
Deltametrina	98,27	14,90	99,14	22,83	108,12	5,94
	<i>ESL/PBT</i>					
	%R	%CV	%R	%CV	%R	%CV
Clorpirifós	96,13	12,38	96,83	6,71	101,18	5,18
λ-cialotrina	101,14	11,18	98,75	9,55	105,91	9,42
Cipermetrina	97,10	13,67	101,23	12,67	109,36	12,04
Deltametrina	96,05	29,61	107,51	10,16	90,53	15,22

LMR: clorpirifós e cipermetrina 0,5 mg kg<sup>-1</sup>; λ-cialotrina 0,05 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,03 mg kg<sup>-1</sup>.

De modo geral, a extração QuEChERS apresentou menores coeficientes de variação, exceto para a extração de deltametrina em tomate, sobre o qual é possível supor que, em baixas concentrações, os analitos de interesse sofrem maior interferência dos co-extrativos da matriz e isto foi observado também por MENKISSOUGLU-SPIROUDE & FOTOPOULOU (2004). De modo geral, para as duas matrizes, o QuEChERS também apresentou melhor exatidão.

#### 4.3.5 Precisão

A precisão, como visto anteriormente, foi avaliada pela repetitividade e pela precisão intermediária em termos de recuperação, conforme descrito no item 3.6.5.

#### 4.3.5.1 Repetitividade

Após realizar a extração dos respectivos agrotóxicos de seis amostras de maçã e tomate fortificadas em função do LMR, os analitos foram quantificados nos extratos orgânicos por CG/DCE e, o tratamento dos dados permitiu calcular os valores de recuperação (%R) e do coeficiente de variação (CV), expressos na Tabela 10. A repetitividade também poderia ser expressa em termos dos valores de área obtidos após as integrações dos picos.

**Tabela 10.** Porcentagem de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após seis extrações dos agrotóxicos em cada matriz.

		<i>QuEChERS</i>		<i>ESL/PBT</i>	
		%R	%CV	%R	%CV
Maçã	Clorpirifós	100,38	14,19	92,85	7,81
	Deltametrina	103,16	4,19	92,77	16,16
	Tiametoxam	103,35	4,60	98,04	13,57
Tomate	Clorpirifós	105,04	2,31	97,30	12,17
	$\lambda$ -cialotrina	106,27	2,93	103,81	10,54
	Cipermetrina	123,75	3,53	108,48	9,97
	Deltametrina	111,41	4,18	91,69	13,16

Os resultados indicam boa repetitividade, uma vez que, para amostras complexas, o valor máximo permitido para o coeficiente de variação é  $CV < 15\%$ , exceto para extração de deltametrina em maçã por ESL/PBT (RIBANI et al., 2004). Mas, entre as duas técnicas de extração, nota-se que a repetitividade não difere muito.

Singh e colaboradores também obtiveram boa repetitividade (triplicata) na extração de clorpirifós, tiametoxam e outros compostos em maçã. Porém, a recuperação média do grupo para o clorpirifós foi de 80,3% e, para o tiametoxam foi 83,1% (SINGH et al., 2009). No caso do tomate, Albadri e colaboradores obtiveram coeficientes de variação menores que 5% e recuperações de 91,77-98,59% para  $\lambda$ -cialotrina e 92,61-98,04% para deltametrina, em triplicata (ALBADRI et al., 2012).

#### 4.3.5.2 Precisão intermediária

Ao longo de três dias não consecutivos, a análise por CG/DCE dos extratos orgânicos de amostras de maçã e tomate, fortificadas em função dos respectivos LMRs de cada composto, forneceram os dados de precisão intermediária em função das porcentagens de recuperação, expressos nas Tabelas 11 e 12.

Baseando-se nestes resultados, nota-se que os compostos estudados em maçã apresentaram boa precisão intermediária ao longo dos três dias de análise dos extratos. Fato que também é observado na extração ESL/PBT, porém, com maiores valores de CV. No caso das amostras de tomate, a deltametrina e os demais agrotóxicos, em concentrações menores, apresentaram maior dispersão dos dados, ou seja, menor precisão intermediária. Isto é justificado pelas menores concentrações e, no caso da deltametrina, pela sua resposta cromatográfica menor, o que dificulta a integração dos seus picos.

**Tabela 11.** Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após análise dos extratos de maçã por CG/DCE ao longo de três dias, pelo mesmo analista.

Concentração dos agrotóxicos		<i>QuEChERS</i>		<i>ESL/PBT</i>	
		%R	CV	%R	CV
0,5LMR	Clorpirifós (0,50 mg kg <sup>-1</sup> )	89,27	2,98	85,04	4,09
	Deltametrina (0,10 mg kg <sup>-1</sup> )	96,29	3,75	96,75	5,63
	Tiametoxam (0,15 mg kg <sup>-1</sup> )	82,81	4,87	99,63	18,07
1,0LMR	Clorpirifós (1,0 mg kg <sup>-1</sup> )	96,30	3,67	99,96	10,59
	Deltametrina (0,20 mg kg <sup>-1</sup> )	96,42	4,45	104,20	11,55
	Tiametoxam (0,30 mg kg <sup>-1</sup> )	88,11	5,03	94,32	14,14
1,5LMR	Clorpirifós (1,5 mg kg <sup>-1</sup> )	103,80	8,19	92,91	7,28
	Deltametrina (0,30 mg kg <sup>-1</sup> )	104,30	3,50	97,78	14,96
	Tiametoxam (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	103,50	3,79	94,50	14,62

LMR: clorpirifós 1,0 mg kg<sup>-1</sup>; tiametoxam 0,3 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,2 mg kg<sup>-1</sup>;

**Tabela 12.** Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após análise dos extratos de tomate por CG/DCE ao longo de três dias, pelo mesmo analista.

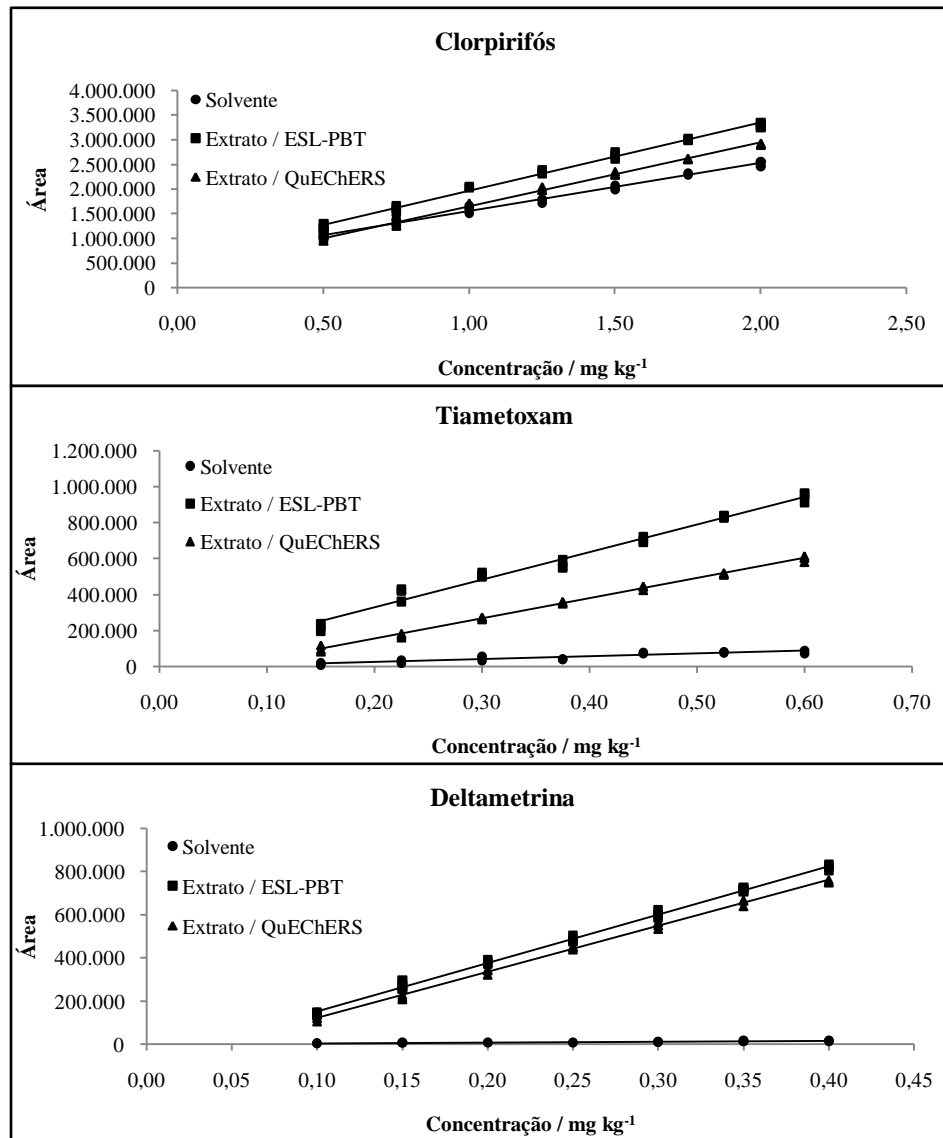
Concentração dos agrotóxicos		<i>QuEChERS</i>		<i>ESL/PBT</i>	
		%R	%CV	%R	%CV
0,5LMR	Clorpirifós (0,25 mg kg <sup>-1</sup> )	94,89	13,49	95,73	10,37
	λ-cialotrina (0,03 mg kg <sup>-1</sup> )	107,99	11,11	100,77	13,78
	Cipermetrina (0,25 mg kg <sup>-1</sup> )	81,09	11,87	98,06	13,56
	Deltametrina (0,02 mg kg <sup>-1</sup> )	84,57	17,74	81,86	37,63
1,0LMR	Clorpirifós (0,50 mg kg <sup>-1</sup> )	106,05	4,65	95,24	5,82
	λ-cialotrina (0,05 mg kg <sup>-1</sup> )	101,36	6,46	99,25	9,29
	Cipermetrina (0,50 mg kg <sup>-1</sup> )	109,34	3,38	101,93	11,68
	Deltametrina (0,03 mg kg <sup>-1</sup> )	102,35	24,84	107,86	10,42
1,5LMR	Clorpirifós (0,75 mg kg <sup>-1</sup> )	105,46	2,13	98,26	10,34
	λ-cialotrina (0,08 mg kg <sup>-1</sup> )	105,85	2,78	104,86	9,38
	Cipermetrina (0,75 mg kg <sup>-1</sup> )	123,13	3,86	108,43	10,66
	Deltametrina (0,05 mg kg <sup>-1</sup> )	110,18	5,33	90,61	12,97

LMR: clorpirifós e cipermetrina 0,5 mg kg<sup>-1</sup>; λ-cialotrina 0,05 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,03 mg kg<sup>-1</sup>.

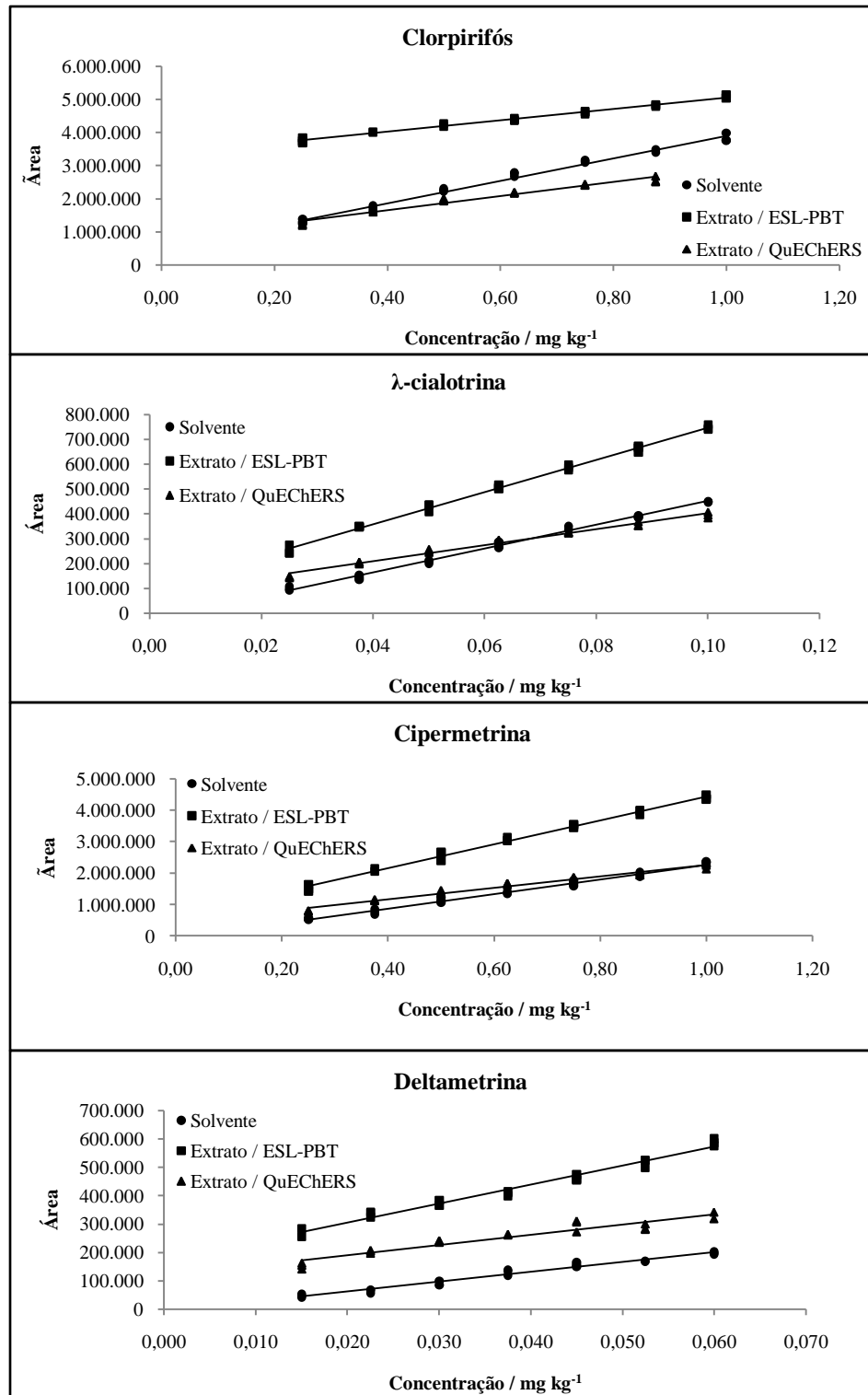
#### 4.3.6 Efeito de Matriz

Durante as análises cromatográficas, observou-se o aumento da resposta cromatográfica induzida pela matriz, processo que explica as taxas de recuperação de agrotóxicos maiores que 100%, quando se compara com os padrões em solvente puro.

Conforme descrito no item 3.6.6, o efeito de matriz foi avaliado pela construção de curvas analíticas nos extratos das amostras isentas de agrotóxicos e também em solvente puro. Estas curvas estão apresentadas nas Figuras 14 e 15 e suas equações na Tabela 13. Em seus gráficos, inicialmente, observa-se diferenças nos coeficientes angular das curvas analíticas em solvente puro, em extrato QuEChERS e em extrato ESL/PBT. Se inclinação da curva preparada em solvente puro for menor que a da curva em um extrato, indica que a resposta cromatográfica é menor em solvente puro, comparada a um extrato. Isto é, o composto em questão sofreu maior interferência positiva dos componentes da matriz, os co-extrativos.



**Figura 14.** Curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas em solvente e extrato de amostras de maçã submetidas à extração QuEChERS e ESL/PBT.



**Figura 15.** Curvas analíticas dos agrotóxicos preparadas em solvente e extrato de amostras de tomate submetidas à extração QuEChERS e ESL/PBT.

**Tabela 13.** Equação de regressão do tipo “ $y = a.x + b$ ” para estudo do efeito de matriz.

Agrotóxicos		Parâmetros da Equação			
		a (10 <sup>6</sup> )	b (10 <sup>4</sup> )	R	
Maçã	Clorpirifós	Solvente	0,982	57,0	0,9943
		QuEChERS	1,30	34,8	0,9983
		ESL/PBT	1,34	57,2	0,9959
	Deltametrina	Solvente	0,0365	0,0249	0,9152
		QuEChERS	2,13	-9,11	0,9982
		ESL/PBT	2,24	-7,30	0,9982
	Tiametoxam	Solvente	0,161	-0,786	0,9207
		QuEChERS	1,12	-7,03	0,9978
		ESL/PBT	1,54	2,12	0,9913
Tomate	Clorpirifós	Solvente	3,40	50,5	0,9942
		QuEChERS	1,89	91,5	0,9733
		ESL/PBT	1,70	334,0	0,9948
	$\lambda$ -cialotrina	Solvente	4,78	-2,63	0,9971
		QuEChERS	3,23	8,00	0,9926
		ESL/PBT	6,50	9,80	0,9977
	Cipermetrina	Solvente	2,33	-6,76	0,9935
		QuEChERS	1,83	-42,3	0,9879
		ESL/PBT	3,80	63,6	0,9960
Deltametrina	Solvente	3,48	-0,721	0,9881	
	QuEChERS	3,62	11,7	0,9539	
	ESL/PBT	6,67	17,2	0,9891	

Como observado, no caso da maçã, as extrações QuEChERS e ESL/PBT favoreceram a interferência positiva dos co-extrativos na quantificação dos agrotóxicos, pois o coeficiente angular da curva preparada em solvente puro é menor que o coeficiente angular das curvas nos extratos, proporcionando menores respostas cromatográficas dos analitos em solvente puro.

Para o tomate, as extrações QuEChERS e ESL/PBT favoreceram a interferência negativa dos co-extrativos na quantificação de clorpirifós, pois o coeficiente angular da curva preparada em solvente puro é maior que o coeficiente angular das curvas nos extratos, proporcionando maiores respostas cromatográficas dos analitos em solvente puro. Para os piretróides  $\lambda$ -cialotrina e cipermetrina, este efeito é menos pronunciado na extração QuEChERS. Sobre esta situação, Mastovska e colaboradores esclarecem que pode ocorrer acúmulo gradual de componentes não voláteis da matriz no sistema do cromatógrafo,

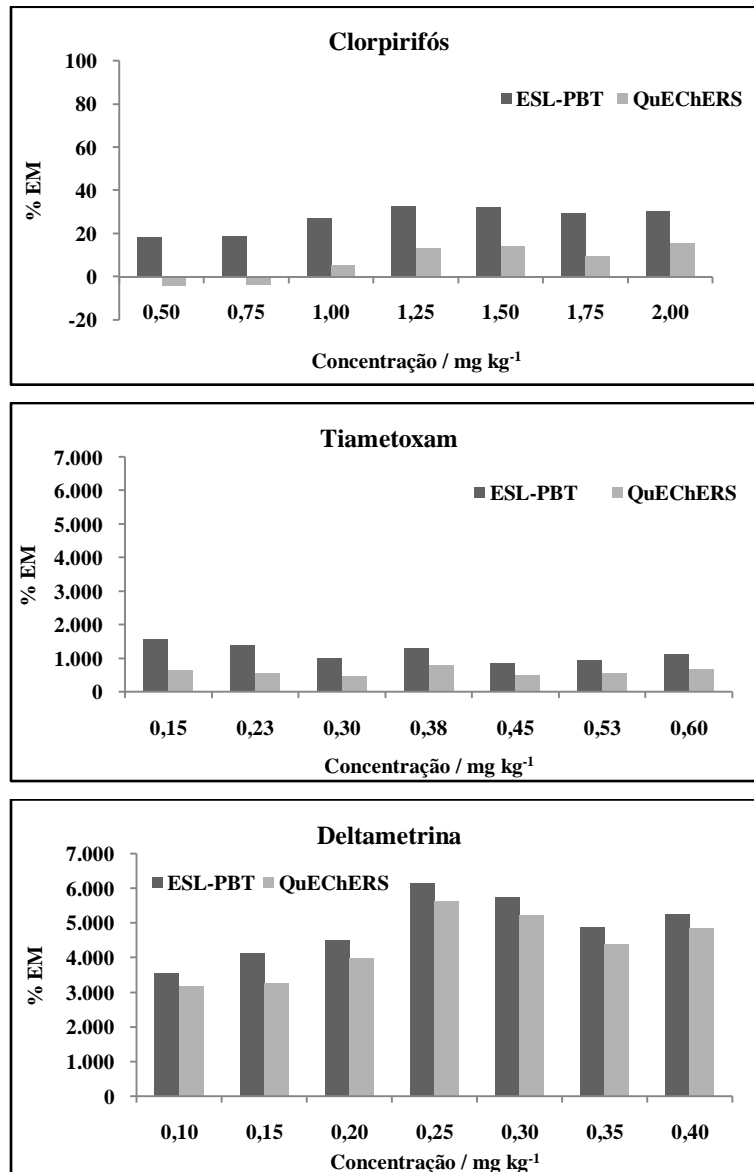
resultando na formação de novos sítios ativos, diminuindo a resposta dos analitos. No caso da ESL/PBT, a interferência dos co-extrativos foi positiva para os piretróides (MAŠTOVSKÁ et al., 2004). Interessante notar que, para todos os compostos nas duas matrizes o coeficiente angular da ESL/PBT é maior que o do QuEChERS.

Comparando as duas técnicas de extração, observa-se que na maçã há menor diferença entre os coeficientes angulares das curvas em extrato QuEChERS e ESL/PBT, indicando possivelmente que os métodos não propiciam efeito de matriz muito diferente. Além disso, a extração ESL/PBT apresentou maior efeito de matriz dos agrotóxicos em tomate, se comparada à extração QuEChERS. Para melhor visualização, as Figuras 16 e 17 representam as porcentagens do efeito de matriz (%EM) calculadas segundo a Equação 2.

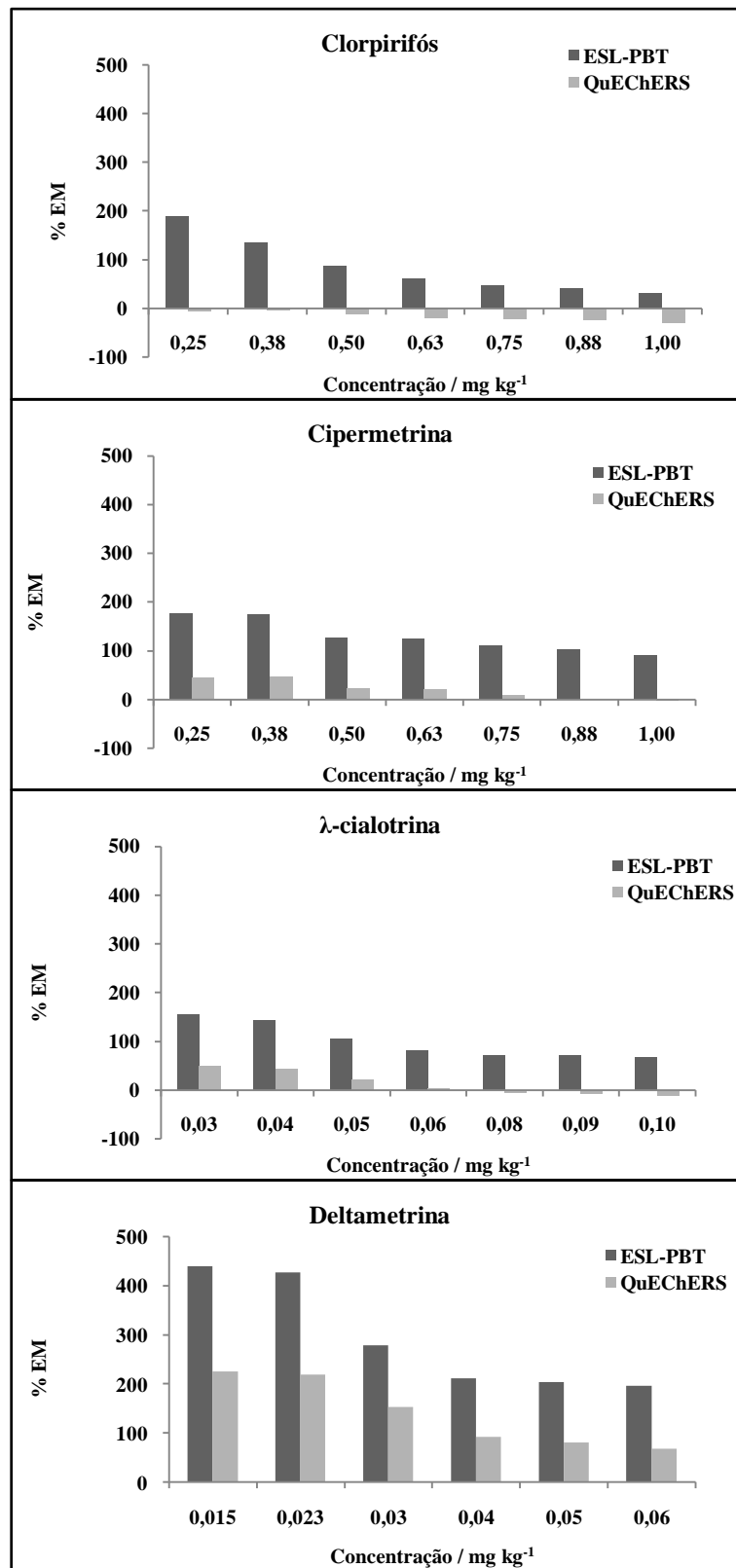
Observando os gráficos das figuras adiante, nota-se que, por meio das duas técnicas de extração, o tiametoxam bem como os compostos utilizados no estudo em tomate, sofrem maior efeito de matriz em menores concentrações. Isto também foi observado há muito tempo por Hajšlová e colaboradores na análise de 37 pesticidas em laranja, repolho e trigo por cromatografia gasosa acoplada com detector por captura de elétrons (CG/DCE) e detector nitrogênio-fósforo (CG/DNP) (HAJŠLOVÁ et al., 1998).

Além disso, nas duas amostras, a porcentagem do efeito de matriz (%EM) da extração ESL/PBT é maior em módulo que o da extração QuEChERS, sendo esta diferença mais pronunciada no tomate.

Recentemente, Pinho e colaboradores afirmaram que, na presença de co-extrativos, os sítios ativos são preferencialmente ocupados pelos constituintes presentes no extrato da matriz e, por isto, o efeito de matriz é mais pronunciado para a deltametrina, conforme observado nas duas matrizes em estudo neste trabalho (PINHO et al., 2012).



**Figura 16.** Porcentagem do efeito de matriz na análise de agrotóxicos em amostra de maçã.



**Figura 17.** Porcentagem do efeito de matriz na análise de agrotóxicos em amostra de tomate.

#### 4.4 Alteração no tempo de contato após fortificação na extração QuEChERS

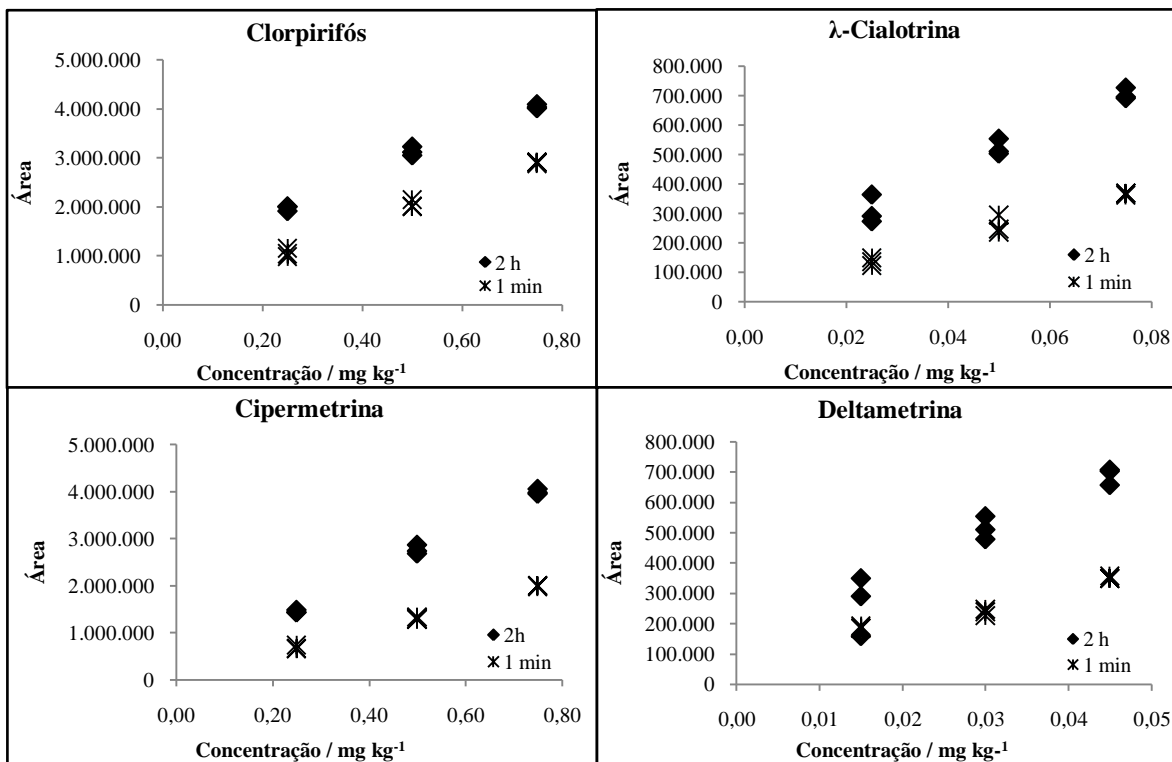
Os procedimentos deste teste estão descritos no item 3.6.7 e, na Tabela 14 estão apresentadas as porcentagens de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após a alteração no tempo de fortificação do tomate.

**Tabela 14.** Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV) dos agrotóxicos em extrato de tomate obtidos após extração QuEChERS com tempo de fortificação diferente.

Concentração dos agrotóxicos	2 h		1 min		
	%R	%CV	%R	%CV	
0,5LMR	Clorpirifós	96,11	5,253	97,22	9,486
	$\lambda$ -cialotrina	83,58	7,608	91,88	8,250
	Cipermetrina	98,97	2,312	101,80	6,705
	Deltametrina	119,60	16,520	110,44	2,121
1,0LMR	Clorpirifós	103,89	4,157	102,78	4,266
	$\lambda$ -cialotrina	102,60	6,712	102,64	13,152
	Cipermetrina	101,03	3,691	98,20	2,283
	Deltametrina	105,75	8,472	87,09	7,350
1,5LMR	Clorpirifós	98,70	1,321	99,07	0,540
	$\lambda$ -cialotrina	99,13	3,312	99,12	1,185
	Cipermetrina	99,66	1,413	100,60	0,520
	Deltametrina	98,08	4,483	104,30	1,927

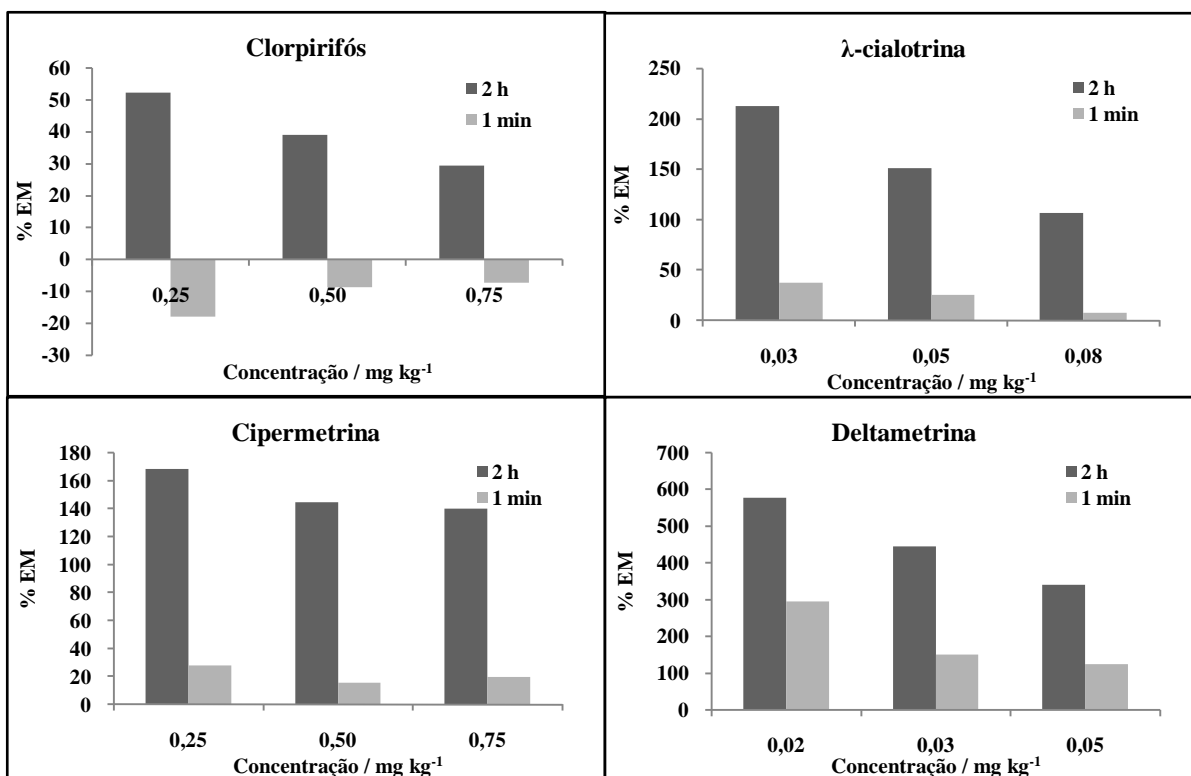
LMR: clorpirifós e cipermetrina 0,5 mg kg<sup>-1</sup>;  $\lambda$ -cialotrina 0,05 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,03 mg kg<sup>-1</sup>.

Primeiramente, é válido ressaltar que, apesar de o número de repetições diminuir de 6 (no experimento de validação) para 3, esperar-se-ia que o coeficiente de variação não variasse. Mas, para a menor concentração dos agrotóxicos em tomate, exceto a deltametrina, os valores de CV melhoraram, e isto também é observado quando se aumenta o tempo de fortificação para 2 h. A figura a seguir apresenta a diferença na resposta cromatográfica dos agrotóxicos estudados em tomate, em função do tempo de fortificação.



**Figura 18.** Variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos em amostras de tomate após alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS.

Pelos resultados, pode-se inferir que, como a resposta cromatográfica aumentou, a extração QuEChERS proporcionaria um resultado semelhante ou até melhor que a extração ESL/PBT. Porém, após o aumento do tempo de fortificação para 2 h, nota-se que o efeito de matriz torna-se mais pronunciado, ou seja, havendo maior interação entre os analitos de interesse e os constituintes da matriz, estes aumentam a resposta cromatográfica com a diminuição da concentração do agrotóxico. A figura 22 permite visualizar esta situação.



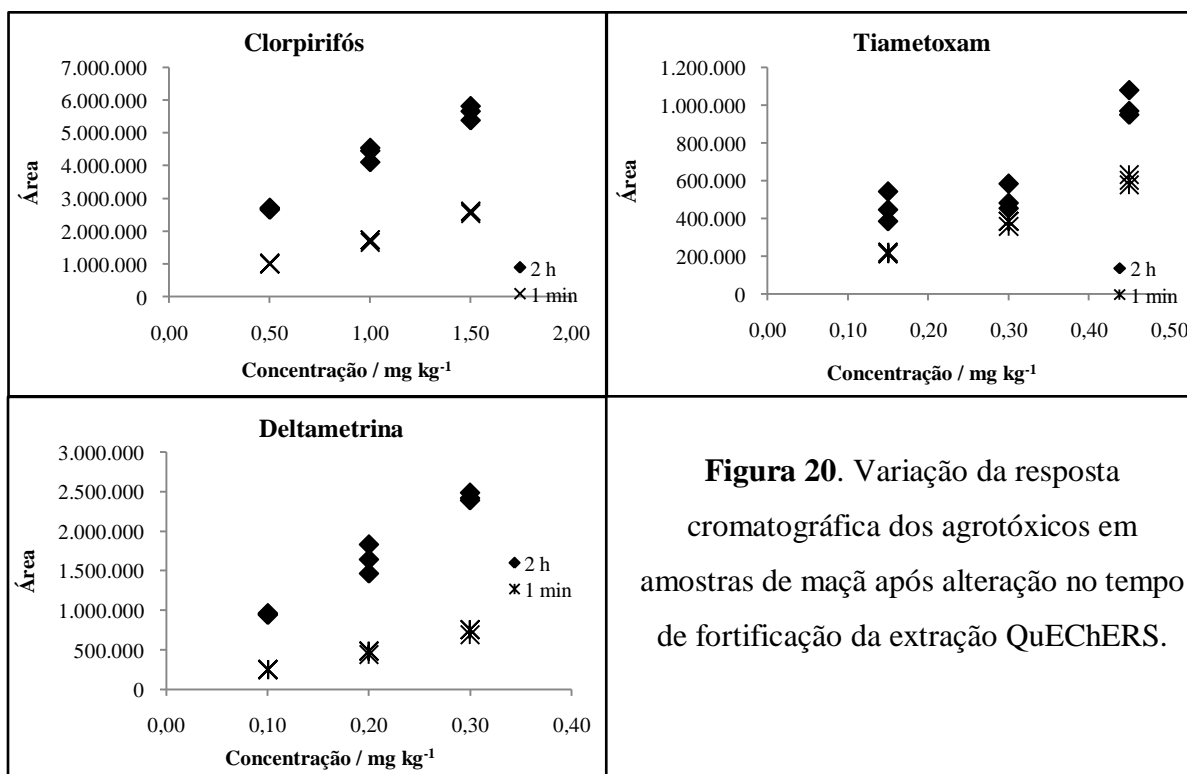
**Figura 19.** Porcentagem do efeito de matriz do tomate na análise de agrotóxicos aplicados nessa cultura, após o aumento do tempo de fortificação da extração QuEChERS.

Para o teste em maçã, os procedimentos também estão descritos no item 3.6.7 e as porcentagens de recuperação (%R) e coeficiente de variação (CV), obtidos após a alteração no tempo de fortificação da amostra, são apresentados na Tabela 15, a seguir. Os dados desta Tabela permitem inferir que, após 2 h de fortificação, a extração QuEChERS do tiametoxam perde exatidão, o que não ocorre com os outros compostos. Em relação à resposta cromatográfica dos agrotóxicos estudados em maçã, a Figura 20, adiante, apresenta sua alteração em função do tempo de fortificação.

**Tabela 15.** Porcentagem de extração (%R) e coeficiente de variação (CV) dos agrotóxicos em extrato de maçã obtidos após extração QuEChERS com tempo de fortificação diferente.

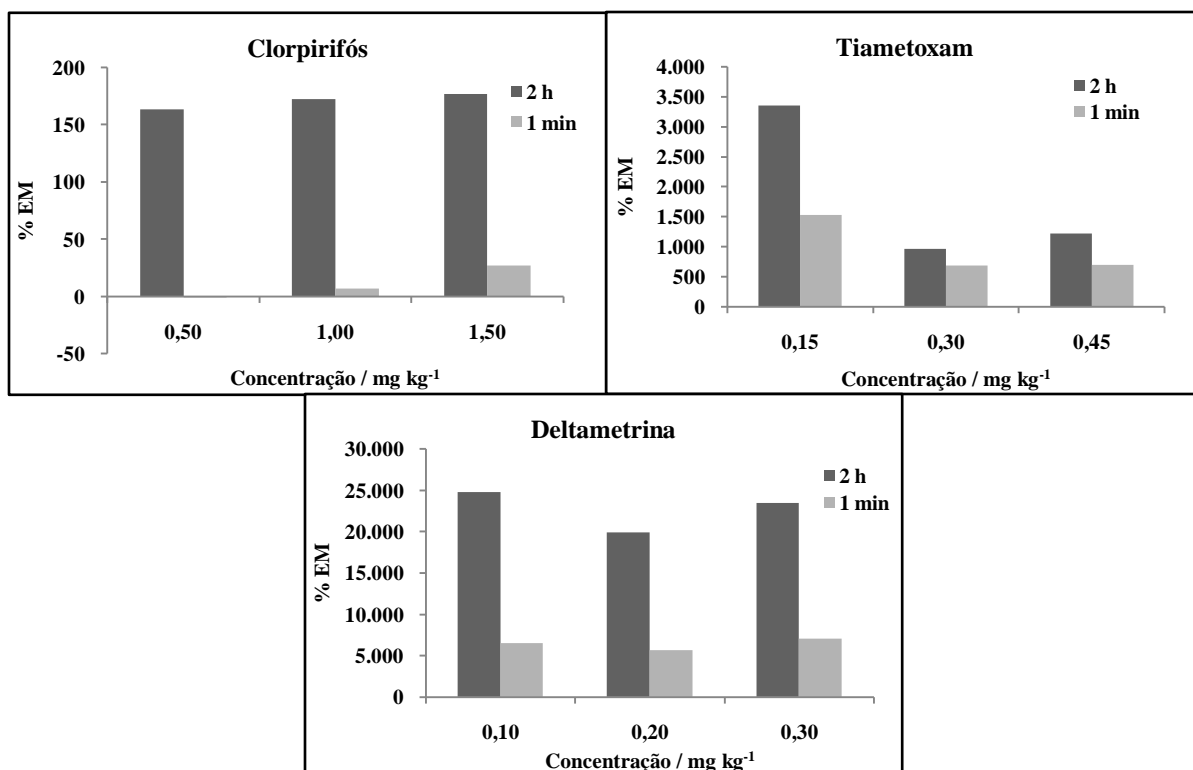
Concentração dos agrotóxicos		2 h		1 min	
		%R	%CV	%R	%CV
0,5LMR	Clorpirifós	95,33	2,124	103,73	1,668
	Tiametoxam	127,36	23,038	105,89	2,073
	Deltametrina	102,04	1,344	102,92	1,711
1,0LMR	Clorpirifós	104,97	7,455	96,27	3,113
	Tiametoxam	72,64	17,459	94,11	4,257
	Deltametrina	104,09	8,684	97,08	5,294
1,5LMR	Clorpirifós	98,44	5,048	101,24	1,651
	Tiametoxam	109,12	7,909	101,96	4,604
	Deltametrina	100,68	2,218	100,97	4,979

LMR: clorpirifós 1,0 mg kg<sup>-1</sup>; tiametoxam 0,3 mg kg<sup>-1</sup>; deltametrina 0,2 mg kg<sup>-1</sup>;



**Figura 20.** Variação da resposta cromatográfica dos agrotóxicos em amostras de maçã após alteração no tempo de fortificação da extração QuEChERS.

A Figura 21 a seguir permite observar que, com a diminuição da concentração de tiametoxam ocorre aumento na resposta cromatográfica, e isto também ocorre provavelmente pela maior interação entre os analitos de interesse e os constituintes da matriz, após o aumento do tempo de fortificação para 2 h. Este efeito não é observado em relação ao clorpirifós e à deltametrina.



**Figura 21.** Porcentagem do efeito de matriz da maçã na análise de agrotóxicos aplicados nessa cultura, após o aumento do tempo de fortificação da extração QuEChERS

Este teste modificando o tempo de fortificação da matriz para posterior extração QuEChERS necessita de aprofundamento quantos às suas possíveis variáveis.

## 5. CONCLUSÃO

O objetivo de se comparar dois métodos de extração como ESL/PBT e QuEChERS, não necessariamente implica em constatar que um método seria melhor, descartando a viabilidade do outro. Porém, este estudo propôs uma modificação da ESL/PBT, otimizada anteriormente para a extração dos agrotóxicos em maçã e tomate, a fim de diminuir o número de etapas no procedimento analítico, excluindo a filtração com sulfato de sódio. Por outro lado, a opção por executar o método QuEChERS original e desconsiderar todas as modificações que já foram realizadas ao longo dos últimos 10 anos, teve como objetivo mostrar que, com menos etapas no procedimento, resultados semelhantes a ESL/PBT podem ser obtidos para extração destes agrotóxicos em maçã e tomate.

Sendo assim, considerando as principais figuras de mérito, a ESL/PBT apresentou menores valores de LD e LQ, variando de 10 a 13  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e de 31 a 39  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente, para os agrotóxicos estudados em maçã. Para aqueles estudados em tomate, os valores de LD e LQ do método variaram de 10 a 11  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 30 a 33  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente. No tocante à linearidade dos métodos, ambos apresentaram valores de  $R > 0,98$ , variando pouco entre si. Por sua vez, a sensibilidade da ESL/PBT é menor que o QuEChERS para os agrotóxicos estudados em maçã e, bem maior para os piretróides em tomate, característica esta avaliada pela inclinação das curvas preparadas em extrato fortificado.

Sabendo que a exatidão e a precisão dos métodos foram avaliadas por meio de ensaios de recuperação, em termos de exatidão ambos os métodos apresentaram-se com menor exatidão na extração de deltametrina em baixas concentrações, em tomate. A precisão, expressa por meio da repetitividade, apresentou coeficientes de variação abaixo do máximo permitido de 15%, sendo estes menores para a extração QuEChERS. Ao ser expressa em termos de precisão intermediária, no tomate as duas técnicas apresentaram queda da precisão em menores concentrações dos analitos. Também nesta matriz, a precisão intermediária de QuEChERS apresentou-se melhor, exceto para a extração de deltametrina. Em maçã, a precisão intermediária variou menos em função da mudança na concentração do analito pelo QuEChERS e, seus valores de coeficiente de variação são menores em relação aos da ESL/PBT, mesmo que os da ESL/PBT não tenham ultrapassado

o valor máximo permitido. Por fim, no tocante ao efeito de matriz, a ESL/PBT apresenta maior efeito de matriz, nas duas matrizes, se comparada à QuEChERS. Porém, com o aumento do tempo de fortificação do QuEChERS, seu efeito de matriz quase se iguala ou ultrapassar o da ESL/PBT. Em tomate, o efeito de matriz é mais pronunciado, resultado de possíveis interferentes como os carotenóides.

Ademais, as modificações realizadas na ESL/PBT otimizada anteriormente permitiram que, iniciado o período de fortificação, agitação ou congelamento, o analista preparasse os materiais necessários para a etapa seguinte. Por outro lado, em 32 min, foi possível realizar a extração de 4 amostras pelo QuEChERS, ignorando a adição dos reagentes sólidos, transferência de sobrenadantes e a intercalação com outras amostras nos períodos de centrifugação. Além destes fatores operacionais acerca da frequência analítica relativa, fatores como a exaustão do analista, custo e gasto de reagentes ou a quantidade de vidraria suja gerada, tornam a ESL/PBT uma técnica de extração alternativa mais viável para ser aplicada, por exemplo, para um grande número de amostras.

### **5.1 Perspectivas futuras**

Diante dos resultados deste trabalho, propõe-se o uso de protetores de analito nas análises, no sentido de tentar eliminar o efeito de matriz. A estratégia é avaliar a composição química dos extratos de matrizes que proporcionam maior efeito nas respostas cromatográficas e utilizar o extrato, ou o componente dessa matriz responsável por esse efeito, como protetor de analito.

O uso de protetores de analito assemelha-se ao que ocorre na análise da curva na matriz isenta de agrotóxicos, com o diferencial de que um bom protetor de analito deve ser capaz de interagir fortemente com a interface do injetor, possuindo, assim, grupos polares (hidroxilas, carboxilas, grupos nitrogenados, etc.); apresentar, volatilidade similar à dos analitos de interesse, não reagindo com os mesmos; ser solúvel no solvente da solução padrão; não acumular no sistema cromatográfico e não apresentar os mesmos tempos de retenção dos analitos de interesse. Ou seja, a escolha do melhor protetor de analito dependerá dos compostos a serem analisados.

Como vantagens, o uso de protetores de analitos propõe (a) ser um procedimento simples – adição de um pequeno volume de solução ao extrato a ser injetado; (b) melhorar a integração dos picos e a quantificação; (c) diminuir os limites de detecção; (d) reduzir os custos e manutenção do injetor do cromatógrafo.

Tais vantagens advêm da 1) estabilização dos analitos de interesse na solução do extrato e sua completa transferência do injetor/vaporizador para a coluna; (2) minimização da distorção e difusão do analito de interesse em sua focalização no início da coluna e em sua separação ao longo dela; (3) eliminação da assimetria dos picos, causada pelas fortes interações com a fase estacionária.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBADRI, A. E. A. E.; ELBASHIR, A. A.; AHMED, H. E.; MIHAINA, I. A. M.; ABOUL-ENEIN, H. Y. A gas chromatographic method with electron-capture detector (GC-ECD) for simultaneous determination of fenpropathrin, cyhalothrin, and deltamethrin residues in tomato and its applications to kinetic studies after field treatment. **Food Anal. Methods**, v. 5, p. 1296–1302, 2012.

ALVES, R. D. **Otimização e validação de metodologia para determinação de aldicarbe e carbofurano em amostras de café bebida**, 2010. 157 f. Dissertação [Mestrado em Agroquímica] - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412–31, 2003.

ANVISA. Resíduos de agrotóxicos em alimentos. **Rev. Saúde Pública**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. v. 40, n. 2, p. 361–363, 2006.

ANVISA. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). **Relatório de Atividades de 2010**, p. 1–26, 2011.

ABPM. **A maçã**. Associação Brasileira de Produtores de Maçã. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br/>>. Acesso em: 17/6/2013.

AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; et al. Dossiê ABRASCO - Um alerta sobre os impactos dos Agrotóxicos na Saúde. **ABRASCO**, p. 1–135, 2012.

BRASIL. Decreto nº 4.074 de 4 de Janeiro de 2002. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília - DF, v. 138, n. 5, p. 1, 8 de Janeiro. Seção 1., 2002.

BRASIL. Resolução nº 899 de 29 de Maio de 2003. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 jun. 2003.

BRAZILIAN FRUIT. Maçã - referências nutricionais e dietéticas. Disponível em: <[http://www.brazilianfruit.org.br/Informacoes\\_para\\_o\\_consumidor/informacoes\\_nutricionais\\_maca.asp?produto=4](http://www.brazilianfruit.org.br/Informacoes_para_o_consumidor/informacoes_nutricionais_maca.asp?produto=4)>. Acesso em: 18/6/2013.

BRONDI, SILVIA H G; MACEDO, A. N. DE; SOUZA, G. B. DE; NOGUEIRA, A. R. A. Application of QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of cypermethrin residue in milk. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 46, n. 8, p. 671–7, 2011.

BRONDI, S. H. G.; MACEDO, A. N.; VICENTE, G. H. L.; NOGUEIRA, A. R. A. Evaluation of the QuEChERS Method and Gas Chromatography – Mass Spectrometry for the Analysis Pesticide Residues in Water and Sediment. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 86, p. 18–22, 2011.

BRONDI, S. H. G.; SOUZA, G. B. DE; NOGUEIRA, A. R. A.; CAMARGO, L. A.; MAJARON, R. F. Desenvolvimento e validação do método QuEChERS na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em leite e carne de búfalo. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 153–158, 2013.

CARVALHO, J.; PAGLIUCA, L. Tomate: um mercado que não para de crescer globalmente. **Revista Hortifruti Brasil**, p. 6–14, 2007.

CHEMSPIDER. The free chemical database. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/>>. Acesso em: 18/6/2013.

CIOLO, R. **Fundamentos da cromatografia a gás**. 2ª ed. São Paulo - SP: Edigard Blucher Ltda, 1985.

CODEX ALIMENTARIUS. Pesticide residues in foo and feed. Disponível em: <<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/index.html>>. Acesso em: 17/6/2013.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. 1ª ed. Campinas/SP, 2006.

ERNEY, D. R.; GILLESPIE, A. M.; GILVYDIS, D. M. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with splitless or hot on-column injection and flame photometric detection. **Journal of Chromatography**, v. 638, p. 57–63, 1993.

EU PESTICIDES DATABASE. Pesticides residues. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm?event=substance.selection](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm?event=substance.selection)>. Acesso em: 18/6/2013.

FISHEL, F. M. Pesticide toxicity profile : neonicotinoid pesticides. **IFAS Extension**, p. 2–4, 2013.

FRIGGI, C. A. **Avaliação de um modulador a ar comprimido para GCxGC e sua aplicação para determinação de resíduos de pesticidas piretróides em uva**, 2008. 107 f. Dissertação [Mestrado em Química] - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, SC.

GARRIDO FRENICH, A; MARTÍNEZ VIDAL, J. L.; PASTOR-MONTORO, E.; ROMERO-GONZÁLEZ, R. High-throughput determination of pesticide residues in food

commodities by use of ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 390, n. 3, p. 947–59, 2008.

GONZÁLEZ-CURBELO, M. A. Insecticides extraction from banana leaves using a modified QuEChERS method. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1083–1090, 2011.

GOULART, S. M.; QUEIROZ, M. E. L. R. DE; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H. DE. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1320–3, 2008.

HAJŠLOVÁ, J.; HOLADOVA, K.; KOCOUREK, V.; et al. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, v. 800, p. 283–295, 1998.

HERNÁNDEZ, F. H.; GRASES, J. M.; BELTRÁN, J.; SANCHO, J. V. A Comparative study of different multiresidue methods for the determination of pesticides in fruit samples by gas chromatography. **Chromatographia**, v. 29, n. 9/10, p. 459–466, 1990.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008**. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. 36p. 2003.

IUPAC. Global availability of information on agrochemicals. International Union of Pure and Applied Chemistry. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>>. Acesso em: 18/6/2013.

JEONG, I.-S.; KWAK, B.-M.; AHN, J.-H.; JEONG, S.-H. Determination of pesticide residues in milk using a QuEChERS-based method developed by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 473–481, 2012.

KANDA, M.; SASAMOTO, T.; TAKEBA, K.; et al. Rapid Determination of Fumagillin Residues in Honey by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Using the QuEChERS Method. **Journal of AOAC International**, v. 94, n. 3, p. 878–885, 2011.

LEE, J.-M.; PARK, J.-W.; JANG, G.-C.; HWANG, K.-J. Comparative study of pesticide multi-residue extraction in tobacco for gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1187, n. 1-2, p. 25–33, 2008.

LEHOTAY, S. J.; MASTOVSKÁ, K.; YUN, S. J. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 2, p. 630–8, 2005.

LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 90<sup>a</sup> ed. Boca Raton, FL: Taylor e Francis Group, 2009.

LOPES, R. P.; AUGUSTI, D. V.; SOUZA, L. F.; et al. Sulfonamidas em leite bovino: quantificação utilizando CLAE-EM/EM e extração líquido-líquido com partição em baixa

temperatura (ELL-PBT). 32<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. **Anais...**, 2008.

LU, D.; QIU, X.; FENG, C.; et al. Simultaneous determination of 45 pesticides in fruit and vegetable using an improved QuEChERS method and on-line gel permeation chromatography – gas chromatography / mass spectrometer. **Journal of Chromatography B**, v. 895-896, p. 17–24, 2012. Elsevier B.V.

MAGALHÃES, E. J.; NASCENTES, C. C.; AUGUSTI, R.; et al. Fast Determination of Benzodiazepines in Human Urine via Liquid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning and LC-HRMS. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 03, n. 02, p. 118–124, 2012.

MALLET, C.; MALLET, V. N. Conversion of a convencional packed-column gas chromatograph to accommodate megabore columns II. Determination of organophosphorus pesticides in environmental water. **Journal of Chromatography**, v. 481, p. 37–44, 1989.

MAPA. Manual de garantia da qualidade analítica - Resíduos e contaminantes em alimentos. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**, p. 248, 2011.

MAPA. Sistema de agrotóxicos e fitossanitários. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 17/6/2013.

MARTHE, D. B.; BITTENCOURT, L. M.; QUEIROZ, M. E. L. R. ; NEVES, A. A. Desenvolvimento de metodologia para determinação de piretroides em manteiga. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1389–1393, 2010.

MAŠTOVSKÁ, K.; LEHOTAY, S. J. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, v. 1040, n. 2, p. 259–272, 2004.

MENKISSOUGLU-SPIROUDE, 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.

MOLINA, D. Seminário volta a discutir mercado de agrotóxicos em 2012. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/menu+-+noticias+anos/2012+noticias/seminario+volta+a+discutir+mercado+de+agrototoxicos+em+2012>>. Acesso em: 10/7/2013.

MOURA, R. M. DE. Agrotóxicos: heróis ou vilões? A face da questão que todos devem saber. **Anais da Academia Pernambucana de Ciencia Agrônômica**, v. 4, p. 23–49, 2007.

NGUYEN, T. D.; LEE, M. H.; LEE, G. H. Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid–liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid

phase extraction as cleanup steps and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Microchemical Journal**, v. 95, n. 1, p. 113–119, 2010. Elsevier B.V.

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 of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2501–2505, 2003.

PAREJA, L.; CESIO, V.; HEINZEN, H.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC–MS/MS. **Talanta**, v. 83, p. 1613–1622, 2011.

PARK, J.; CHOI, J.; EL-ATY, A. M. A.; et al. Simultaneous multiresidue analysis of 41 pesticide residues in cooked foodstuff using QuEChERS: Comparison with classical method. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 241–253, 2011.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251–256, 2010a.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE–LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. **Food Control**, v. 21, n. 10, p. 1307–1311, 2010b.

PINHO, G. P.; SILVÉRIO, F. O.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Evaluation of pesticide adsorption in gas chromatographic injector and column. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 738–742, 2012.

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS - um método moderno de preparo de amostra para a determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620–1634, 2009.

PUSSENTE, I. C. **Extração sólido-líquido e partição em baixa temperatura (ESL-PBT) de clorpirifós, thiamethoxam e deltametrina em maçã e análise por cromatografia gasosa**, 2008. 73 f. Dissertação [Mestrado em Agroquímica] - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2008.

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; ROSA, M. A.; ANDRADE, J. A.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos para a determinação de multirresíduos de agrotóxicos em produtos agrícolas. **Documento 71 - Embrapa Meio Ambiente**, p. 17, 2008.

RAMOS, L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1221, p. 84–98, 2012.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, CAROL 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.

RODRIGUES, S. A.; CALDAS, S. S.; BADIALE, E.; GILBERTO, E.; ZANELLA, R. Otimização e validação de método empregando QuEChERS modificado e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em cebola. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 780–786, 2011.

ROMERO-GONZÁLEZ, R.; GARRIDO FRENICH, A; MARTÍNEZ VIDAL, J. L. Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 76, n. 1, p. 211–25, 2008.

RÜBENSAM, G.; BARRETO, F.; HOFF, R. B.; KIST, T. L.; PIZZOLATO, T. M. A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 705, n. 1-2, p. 24–9, 2011.

SANTILIO, A.; STEFANELLI, P.; GIROLIMETTI, S.; DOMMARCO, R. Determination of acidic herbicides in cereals by QuEChERS extraction and LC/MS/MS. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 46, n. 6, p. 535–43, 2011.

SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. Piretróides - uma visão geral. **Alim. Nutr.**, v. 18, n. 3, p. 339–349, 2007.

SILVA, J. B. C.; GIORDANO, L. B. Cultivo de tomate para industrialização. Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial\\_2ed/index.html](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/index.html)>. Acesso em: 16/6/2013.

SINGH, S. B.; MUKHERJEE, I.; MAISNAM, J.; et al. Determination of pesticide residues in integrated pest management and nonintegrated pest management samples of apple (*Malus pumila* Mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 11277–11283, 2009.

SŁOWIK-BOROWIEC, M.; SZPYRKA, E.; WALOREZYK, S. Analysis of pesticide residues in fresh peppermint, *Mentha piperita* L., using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe Method (QuEChERS) followed by gas chromatography with electron capture and nitrogen phosphorus detection. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 89, p. 633–637, 2012.

STAN, H. J.; GOEBEL, H. Automated capillary gas chromatographic analysis of pesticide residue in food. **Journal of Chromatography**, v. 268, p. 55–69, 1983.

STAN, H. J.; GOEBEL, H. Evaluation of automated splitless and manual on-column injection techniques using capillary gas chromatography for pesticide residue analysis. **Journal of Chromatography**, v. 314, p. 413–420, 1984.

USUI, K.; HAYASHIZAKI, Y.; MINAGAWA, T.; et al. Rapid determination of disulfoton and its oxidative metabolites in human whole blood and urine using QuEChERS extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Legal medicine (Tokyo, Japan)**, v. 14, n. 6, p. 309–16, 2012.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Produção integrada de maçãs no Brasil. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Maca/ProducaoIntegradaMaca/index.htm>>. Acesso em: 18/6/2013.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J.; POPPI, R. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 535–540, 2007.

WOO, S.; CHOI, J.; CHO, S.; et al. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 28, p. 4366–4377, 2011.

ZHANG, L.; WANG, Y.; SUN, C.; YANG, S.; HE, H. Simultaneous determination of organochlorine, organophosphorus, and pyrethroid pesticides in bee pollens by solid-phase extraction cleanup followed by gas chromatography using electron-capture detector. **Food Anal. Methods**, v. On Line, 2012.